

**SKRINING BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL SUSU
KAMBING PERANAKAN ETAWA SEBAGAI PENGHASIL
BAKTERIOSIN**

SKRIPSI

oleh:
Indah Nur Fitria
105090101111005



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**SKRINING BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL SUSU
KAMBING PERANAKAN ETAWA SEBAGAI PENGHASIL
BAKTERIOSIN**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Biologi**

Oleh:

Indah Nur Fitria
105090101111005



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**SKRINING BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL SUSU
KAMBING PERANAKAN ETAWA SEBAGAI PENGHASIL
BAKTERIOSIN**

oleh:

**Indah Nur Fitria
105090101111005**

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 07 Agustus 2014 dan dinyatakan memenuhi syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

**Menyetujui,
Pembimbing**

**Dra. Tri Ardyati, M.Agr., Ph.D.
NIP. 19671213 199103 2 001**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi S-1 Biologi,
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

**Rodliyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., Ph.D.
NIP. 19700128 199412 2 001**

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Indah Nur Fitria
NIM : 105090101111005
Jurusan : Biologi
Judul Skripsi : Skrining Bakteri Asam Laktat asal Susu Kambing Peranakan Etawa sebagai Penghasil Bakteriosin

dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam daftar pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 19 Agustus 2014
Yang menyatakan,

Indah Nur Fitria
105090101111005

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang disusun oleh penulis ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum sebagai sumber referensi dan pembelajaran lebih lanjut, dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka yang ada dalam skripsi ini diperkenankan untuk dicatat, namun pengutipan hanya dapat dilakukan seijin penulis dan harus disertai dengan aturan penulisan ilmiah dan etika penulisan untuk menyebutkannya.



Skrining Bakteri Asam Laktat asal Susu Kambing Peranakan Etawa sebagai Penghasil Bakteriosin

Indah Nur Fitria, Tri Ardyati

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya, Malang
2014

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme yang tergolong GRAS (*Generally Recognized as Safe*). Sebagian besar BAL memiliki potensi sebagai penghasil bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa protein yang disintesis oleh ribosom dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh BAL penghasil bakteriosin dan mempelajari daya hambat bakteriosin terhadap bakteri uji. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan tiga kali ulangan. Tahapan dilakukan dengan isolasi BAL asal susu kambing Peranakan Etawa (PE) pada media MRS ditambah dengan CaCO_3 1%, karakterisasi isolat BAL, deteksi penghambatan senyawa antimikroba oleh kultur BAL terhadap bakteri uji, uji aktivitas penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap bakteri uji, uji sensitivitas bakteriosin terhadap enzim proteolitik, serta identifikasi BAL dengan menggunakan API 50 CHL *test kit*. Dua belas isolat diperoleh dari isolasi, namun hanya 6 isolat (SKE5, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, dan SKE11) diduga mampu memproduksi bakteriosin. Bakteriosin yang diproduksi oleh keenam isolat tersebut mampu terdegradasi oleh enzim Proteinase K (1 mg/ml). Isolat SKE9 teridentifikasi sebagai *Lactobacillus curvatus* merupakan kandidat isolat BAL terbaik karena mampu menghasilkan bakteriosin dan menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji dengan diameter cukup tinggi masing-masing sebesar 13,55 dan 13,27 mm.

Kata kunci : bakteri asam laktat, bakteriosin, susu kambing PE, SKE9

Screening of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Crossbreed Etawa (PE) Goat's Milk

Indah Nur Fitria, Tri Ardyati
Biology Department, Faculty of Science
Brawijaya University, Malang
2014

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) are microorganisms include in group of generally recognized as safe (GRAS). Most of LAB have potency as bacteriocin producers. Bacteriocin is ribosomally synthesized protein able to inhibit the growth of other bacteria. The aim of this research were to obtain lactic acid bacteria isolated from crossbreed Etawa (PE) goat's milk able to produce bacteriocin and to study the effect of bacteriocins from LAB against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella thypimurium*. The methods used in this research were isolation of LAB using MRS medium containing 1% of CaCO₃, characterization of LAB, detection of antimicrobial activity cultureagainst pathogenic bacteria, assay of bacteriocin (CFS) against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella thypimurium*, assay of bacteriocin sensitivity to proteolytic enzyme and identification of isolate using API 50 CHL test kit. Total of twelve isolates were obtained, however only 6 isolates (SKE5, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, SKE11) were able to produce bacteriocin. All of bacteriocin produced were degraded by proteolytic enzymes, proteinase K (1mg/ml). Isolate SKE9 identified as *Lactobacillus curvatus* is the best candidate of bacteriocin producer against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella thypimurium* with inhibition zone diameter of 13.55 and 13.27 mm, respectively.

Keyword: bacteriocin, crossbreed Etawa (PE) goat's milk, lactic acid bacteria, SKE9

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbilalamin

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, nikmat serta hidayah-Nya sehingga Skripsi yang berjudul **Seleksi (Screening) Bakteri Asam Laktat (BAL) asal Susu Kambing Peranakan Etawa (PE) sebagai Penghasil Bakteriosin** ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulisan Skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat dalam mendapatkan gelar Sarjana Sains.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada:

1. Ibu **Dra. Tri Ardyati, M.Agr., Ph.D.** selaku pembimbing Skripsi serta **Dr. Suharjono, M.Si.** dan **Dr. Ir. Nur Hidayat, MP** selaku penguji yang telah dengan sabar memberi arahan, dukungan, serta bimbingan yang sangat berguna dalam penyusunan Skripsi ini,
2. **Mama, Bapak, Kakak,** serta keluarga besar yang senantiasa memberikan doa, motivasi, dukungan serta pengorbanannya baik dari segi moril dan materi sehingga Skripsi ini dapat diselesaikan,
3. Ibu **Dra. Nanik Dwi R.** dan teman-teman di Laboratorium Mikrobiologi (**Restu Nugraha, Ratna Fadhilah I., Cynthia Corin, Ilham Rizky I., dan Lely S**), serta Baital Izzatul S.Si yang telah banyak memberi masukan, dukungan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian ini,
4. Teman-teman angkatan 2010 yang memberi semangat selama penyelesaian Skripsi,
5. Keluarga besar Jurusan Biologi yang telah banyak berperan dalam pembelajaran selama studi S-1.

Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Skripsi. Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat dan dipergunakan dengan sebaik-baiknya.

Malang, Agustus 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Nutrisi Susu Kambing Etawa.....	3
2.2 Bakteri Penghasil Bakteriosin	4
2.3 Bakteriosin dan Klasifikasinya.....	6
2.4 Biosintesis Bakteriosin	10
2.5 Mekanisme Kerja Bakteriosin	12
BAB III METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat	14
3.2 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat dari Susu Kambing PE (Peranakan Etawa)	14
3.3 Karakterisasi Isolat BAL	14
3.3.1 Pewarnaan Gram	15
3.3.2 Uji Katalase	15
3.4 Deteksi Penghambatan oleh Kultur BAL terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella</i> <i>thypimurium</i>	16

3.5 Pengujian Penghambatan Bakteriosin (CFS) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella thypimurium</i>	16
3.6 Sensitivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik.....	17
3.7 Identifikasi isolat BAL dengan API 50 CHL <i>test kit</i>	18
3.9 Rancangan Percobaan dan Analisis Data	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Karakteristik BAL Hasil Isolasi dari Susu Kambing PE	20
4.2 Penghambatan oleh Kultur BAL terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella thypimurium</i>	22
4.3 Aktivitas Penghambatan Bakteriosin (CFS) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella thypimurium</i>	24
4.4 Sensitivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik	28
4.5 Identifikasi Isolat BAL	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	31
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Mekanisme biosintesis bakteriosin yang dihasilkan selama metabolisme sel bakteri asam laktat	10
2. Mekanisme aksi bakteriosin merusak membran sel bakteri patogen	12
3. Mekanisme degradasi hidrogen peroksida (H_2O_2) di dalam sel bakteri	16
4. Hasil pewarnaan Gram isolat BAL asal susu kambing PE	21
5. Aktivitas penghambatan oleh kultur BAL asal susu kambing PE terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella thypimurium</i>	23
6. Penghambatan bakteriosin (CFS) isolat BAL terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> (a dan b) dan <i>Salmonella thypimurium</i> (c dan d).....	25
7. Penghambatan bakteriosin (CFS) isolat BAL asal susu kambing PE terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella thypimurium</i>	26
8. Sensitivitas bakteriosin (CFS) isolat BAL terhadap enzim Proteinase K dalam menghambat <i>Staphylococcus aureus</i> (a) dan <i>Salmonella thypimurium</i> (b).....	29

DAFTAR TABEL

Nomor

Halaman

1. Jenis bakteriosin dan *strain* bakteri penghasilnya 6

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Pembuatan <i>Tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride</i> 20 mM pH 7.....	40
LT 1.	Karakteristik morfologi koloni bakteri asam laktat asal susu kKambing Peranakan Etawa (PE)	41
LT 2.	Uji normalitas diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap bakteri uji	42
LT 3.	Uji homogenesitas diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	42
LT 4.	Hasil uji Tukey diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	43
LT 5.	Rata – rata diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	44
LT 6.	Uji homogenesitas diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap <i>Salmonella thypimurium</i>	44
LT 7.	Uji <i>Brown-Forsythe</i> diameter zona bening penghambatan antimikroba BAL terhadap <i>Salmonella thypimurium</i>	45
LT 8.	Rata – rata diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap <i>Salmonella thypimurium</i>	48
LT 9.	Hasil uji interaksi antara jenis Isolat BAL terhadap jenis patogen dengan <i>Univariate Analysis of Variance</i>	48
LT 10.	Uji normalitas diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap bakteri uji	49
LT 11.	Uji homogenesitas diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	49

LT 12.	Hasil uji Tukey data diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	50
LT 13.	Rata – rata diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	52
LT 14.	Uji homogenesitas diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap <i>Salmonella thypimurium</i>	52
LT 15.	Hasil uji tukey diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap <i>Salmonella thypimurium</i>	53
LT 16.	Rata – rata diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap <i>Salmonella thypimurium</i>	54
LT 17.	Hasil notasi diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap <i>Salmonella thypimurium</i> berdasarkan uji Tukey	55
LT 18.	Hasil uji interaksi antara jenis isolat BAL terhadap jenis patogen dengan <i>Univariate Analysis of Variance</i>	55
LT 19.	Hasil Uji Homogenesitas Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	56
LT 20.	Hasil Uji Tukey Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	56
LT 21.	Hasil Notasi Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap <i>Staphylococcus Aureus</i>	57
LT 22.	Rata-rata Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap <i>Staphylococcus Aureus</i>	58
LT 23.	Hasil Uji Homogenesitas Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap <i>Salmonella thypimurium</i>	58
LT 24.	Hasil Uji Tukey Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap <i>Salmonella Thypimurium</i>	59

LT 25.	Hasil Notasi Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap <i>Salmonella Thypimurium</i>	59
LG 1.	Hasil Identifikasi SKE9 dengan menggunakan API 50 CHL	60
LG 2.	Kerangka Operasional	61

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

<u>Lambang/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
SKE1, SKE2, SKE3, SKE4, SKE5, SKE6, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, SKE11, SKE12	isolat bakteri asam laktat asal susu kambing peranakan etawa
PE	Peranakan Etawa
BAL	Bakteri Asam Laktat
GRAS	Generally Recognized as Safe
μm	mikro meter
%	persen
ml	mili Liter
g	gram
IU/g lemak	<i>Internasional Unit</i> per gram lemak
$\mu\text{g}/100\text{ ml}$	mikro gram per 100 mili Liter
mg/L	mili gram per Liter
\pm	kurang lebih
$^{\circ}$	derajat
C	celcius
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
<i>Leuconostoc</i> spp.	<i>Leuconostoc</i> species
kDa	kiloDalton
pH	potensial hidrogen
<	kurang dari
>	lebih dari
mM	mili Molar
NaCl	Natrium Klorida
Ψ	Satuan potensial membran
K^+	Kalium ⁺
Mg^+	Magnesium ⁺
atm	<i>atmosphere</i>
rDNA	<i>ribosomal deoxyribonucleic acid</i>
CaCO_3	Kalsium Karbonat

MRS	<i>De Man, Rogosa and Sharpe</i>
H ₂ O ₂	Hydrogen Peroksida
ATP	<i>adenosin triphosphate</i>
μL	mikro Liter
CFU/ml	<i>Colony Forming Unit per mili Liter</i>
MRSB	<i>De Man, Rogosa and Sharpe Broth</i>
μm	mikro meter
Tris HCl	<i>tris (hydroxymethyl) aminomethane</i>
<i>Pediococcus sp.</i>	<i>Pediococcus spesies</i>
<i>pour plate</i>	metode cawan tuang
<i>spread plate</i>	metode cawan sebar
<i>streak plate</i>	metode cawan gores
API	<i>Analytical Profile Index</i>
CFS	<i>Cell Free Supernatant</i>
Zn	Seng
<i>self life</i>	daya tahan
<i>co-culture</i>	kultur dobel
CO ₂	karbon dioksida
mm	mili meter
mm ²	mili meter persegi
MPF	<i>Motive Proton Force</i>
Zn	Seng
Se	Selenium

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu kambing Peranakan Etawa (PE) merupakan jenis susu yang banyak diproduksi selain susu sapi. Peningkatan produksi susu kambing PE dikarenakan tidak menyebabkan alergi, mudah dicerna, dan memiliki kandungan nutrisi yang lengkap (Haenlein, 2004). Kandungan nutrisi susu kambing PE yang lengkap menyebabkan susu tersebut menjadi media pertumbuhan yang ideal untuk mikroorganisme. Salah satu kelompok bakteri utama yang mampu tumbuh pada susu adalah bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat merupakan mikroorganisme yang tergolong sebagai *Generally Recognized as Safe* (GRAS) yang memiliki potensi sebagai probiotik serta mampu menghasilkan senyawa antimikroba BAL antara lain asam organik (asam laktat, asetat, propionat dan format), diasetil dan bakteriosin. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh BAL mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk makanan dan bakteri patogen. Oleh karena itu, bakteri asam laktat telah banyak digunakan untuk memperpanjang umur simpan (*shelf life*) suatu produk atau dijadikan sebagai alternatif pengawetan makanan (Navaro dkk., 2000).

Beberapa kelompok bakteri asam laktat mampu memproduksi bakteriosin dengan spektrum yang luas sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif beberapa penyakit yang diakibatkan oleh infeksi mikroorganisme. Penggunaan BAL untuk mengatasi beberapa penyakit infeksi lebih aman dibandingkan dengan penggunaan antibiotik. Hal ini dikarenakan penggunaan antibiotik yang kurang cermat dapat menyebabkan berbagai dampak negatif, antara lain membunuh mikroflora usus yang umumnya menguntungkan karena dapat membantu proses pencernaan serta pembentukan vitamin B dan K, serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang merugikan bagi manusia (Chen dan Hoover, 2003).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ditemukan sebanyak lebih dari 50 jenis bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL. Beberapa jenis bakteriosin memiliki spektrum penghambatan yang luas terhadap bakteri pembusuk ataupun bakteri patogen (Gonzales

dkk., 1996). Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL dapat dimanfaatkan sebagai tambahan bahan pangan untuk meningkatkan *shelf life* produk pangan tersebut. Oleh karena itu bakteriosin cukup menguntungkan bagi industri pangan. Bakteri asam laktat secara alami terdapat pada beberapa bahan pangan mentah seperti susu segar dan daging (Rodriguez dkk., 2000).

Dapat diketahui bahwa bakteriosin memiliki potensi besar untuk dapat dimanfaatkan dalam bidang industri pangan ataupun farmasi. Oleh karena itu, eksplorasi bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan bakteriosin penting untuk dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang akan dikaji dalam penelitian ini adalah:

1. Isolat BAL manakah dari susu kambing PE yang berpotensi menghasilkan bakteriosin?
2. Bagaimanakah penghambatan bakteriosin (CFS) yang dihasilkan oleh BAL yang berasal dari susu kambing PE terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*?

1.3 Tujuan

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk:

1. Memperoleh isolat BAL asal susu kambing PE yang berpotensi menghasilkan bakteriosin.
2. Mempelajari penghambatan bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat asal susu kambing PE terhadap *Salmonella thypimurium* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah diperoleh isolat BAL yang berpotensi sebagai penghasil bakteriosin. Bakteriosin yang dihasilkan mampu dimanfaatkan sebagai agen biopreservatif baik dalam sektor industri makanan maupun industri farmasi karena kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk makanan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nutrisi Susu Kambing Etawa

Menurut USDA (1976) susu kambing etawa memiliki kandungan gizi yang mendekati komposisi sempurna dari susu ASI. Setiap 100 g susu kambing etawa mengandung 3-4 % protein, 4-7 % lemak, 4,5 % karbohidrat, 134 g kalsium dan 111 g fosfor. Komposisi kimiawi susu kambing etawa mengandung protein, lemak, karbohidrat, kalori, kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, kalium, vitamin A, B1 (IU), B2 (mg), B6, B12, C, D, E, niacin, V, asam pantotenat, kolin dan inositol. Beberapa kandungan protein pada susu kambing etawa antara lain α -laktalbumin, β -laktoglobulin, κ -kasein, α -S1 kasein dan α -S2 kasein. Selain itu terdapat kandungan oligosakarida pada susu kambing yang sangat tinggi mampu bertindak sebagai prebiotik setelah mencapai usus besar dan mampu menyeimbangkan mikroflora saluran pencernaan. Kandungan yang dominan pada susu kambing dibandingkan dengan susu sapi adalah senyawa flourin susu kambing lebih banyak 10-100 kali dibandingkan dengan susu sapi. Sifat antiseptik alami dari senyawa flourin dapat membantu menekan perkembangan bakteri sehingga akan meningkatkan daya tahan tubuh (Moeljanto dan Bernardus, 2002). Susu kambing juga memiliki kandungan Zn dan Se lebih tinggi dibandingkan susu sapi. Kedua mineral tersebut berperan penting sebagai antioksidan dan pencegahan penyakit neurodegeneratif (Zurriyati dkk., 2011).

Susu kambing memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan susu sapi, antara lain lebih mudah dicerna, anti alergi dan kandungan gizinya yang lebih lengkap. Menurut Sarwono (2007) kandungan vitamin B1 susu kambing lebih tinggi dibandingkan dengan susu sapi. Struktur lemaknya mudah dicerna karena teksturnya yang lembut, halus dan lebih kecil (3,49 μm) dibandingkan butiran lemak susu sapi (4,55 μm). Susu kambing mengandung laktosa yang lebih rendah 1 % daripada susu sapi. Hal tersebut menyebabkan efek laksatif ringan dan aman dikonsumsi karena tidak menyebabkan diare. Susu kambing tidak mengandung aglutinin. Hal ini dikarenakan ukuran globula lemak susu kambing lebih kecil dan memiliki *globule clustering agent* yang lebih sedikit, sehingga lebih mudah dicerna. Asam amino yang terdapat pada susu kambing etawa mengandung unsur belerang metionin, sistin dan

sistein yang dapat meningkatkan kesehatan otak dan sistem saraf, serta berperan dalam pembentukan sel darah penawar racun (detoksifikasi) bahan kimia berbahaya yang masuk ke dalam tubuh (Murtidjo, 1993).

Kandungan nutrisi susu kambing PE yang kompleks menyebabkan kelompok BAL mampu tumbuh dengan baik melalui fermentasi karbohidrat berupa glukosa yang terkandung pada susu segar. Beberapa genus BAL yang pada umumnya terdapat pada susu segar antara lain *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc* (Wouters dkk., 2002; Franciosi dkk., 2009).

2.2 Bakteri Penghasil Bakteriosin

Sebagian besar mikroorganisme yang diklasifikasikan sebagai bakteri asam laktat (BAL) memiliki aktivitas antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Surono, 2004). Bakteri asam laktat dapat dimanfaatkan sebagai probiotik. Probiotik berasosiasi dengan mikroflora saluran pencernaan manusia dan dapat meningkatkan system imun. Hal tersebut dikarenakan kemampuan bakteri menghambat pertumbuhan bakteri lainnya yang bersifat patogen (Salvado, 2006).

Bakteri asam laktat mempunyai karakteristik morfologi dan fisiologi tertentu. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat berupa glukosa menjadi asam laktat. Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif, tidak berspora, berbentuk *coccus* maupun batang. Bakteri asam laktat ini dapat tumbuh optimum pada suhu ± 37 °C, bersifat anaerob fakultatif, katalase negatif dan oksidase positif, menghasilkan asam laktat sebagai hasil fermentasi karbohidrat, dan pada umumnya tidak bersifat motil. Bakteri asam laktat tidak memiliki porfirin dan sitokrom. Bakteri tersebut juga tidak melakukan fosforilasi transpor elektron dan hanya memperoleh energi dari proses metabolisme gula melalui proses fermentasi sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang menyediakan cukup gula. Bakteri asam laktat termasuk bakteri anaerob aerotoleran (mampu mentoleransi adanya oksigen). Sebagian besar BAL tahan terhadap kondisi asam serta toleran terhadap garam empedu (Yousef dan Clastrom, 2003). Ciri khusus dari bakteri asam laktat adalah

mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, dan mampu memfermentasi gula. Beberapa kelompok bakteri asam laktat antara lain *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, dan *Corinobacterium*. (Budde dkk., 2003). Bakteri asam laktat mampu menghasilkan beberapa jenis metabolit, antara lain asam laktat, asam asetat, asam propionat, diasetil, dan bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa protein yang bersifat antimikroba sehingga mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Salvadago dkk., 2006).

Bakteriosin secara alamiah dihasilkan oleh BAL dalam suatu bahan pangan dan tidak menghambat pertumbuhannya. Kemampuannya untuk mengasilkan senyawa (biosintesis) juga terbatas karena kebutuhan nutrisi kompleks BAL meliputi asam amino, vitamin, purin, dan pirimidin. Proses metabolisme karbohidrat, transpor sitrat, produksi eksopolisakarida, produksi bakteriosin, dan resistensi terhadap bakteriofag pada beberapa sifat BAL disandikan oleh gen-gen yang terdapat di dalam plasmid (DNA ekstrakromosomal). DNA plasmid dapat ditransfer antarbakteri dengan beberapa mekanisme, seperti konjugasi yang umum terjadi pada *Lactococcus* sehingga sifat-sifat tersebut dapat menyebar (Leroy dan de Vuyst, 2004).

Kemampuan BAL untuk memproduksi bakteriosin dapat dilihat dari aktivitas BAL terhadap bakteri patogen. Bakteri asam laktat yang mampu memproduksi bakteriosin belum diketahui secara pasti ciri khususnya. Secara umum bakteriosin dapat diproduksi oleh bakteri Gram negatif dan Gram positif seperti bakteri asam laktat (Nes dan Johnsborg, 2004). Beberapa kelompok BAL diketahui mampu menghasilkan bakteriosin dengan spektrum yang luas. Bakteriosin dari jenis *Lactobacillus brevis* dan *Leuconostoc* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes* (Budde dkk., 2003; Ogunbanwo dkk., 2003). Kelompok bakteri *Lactobacillus sakei* dan *Lactobacillus plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Listeria monocytogenes* (Vermeiren dkk., 2004). Selain itu, berdasarkan Todorov dan Dicks (2005) kelompok *Lactobacillus plantarum* dapat menghasilkan bakteriosin yang juga mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Beberapa bakteriosin yang diperoleh dari susu murni antara lain *Lactobacillus paracasei* subsp.

paracasei (Rodriguez dkk., 2000) dan *Lactobacillus plantarum* (Rekhif dkk., 1995).

Tabel 1. Jenis bakteriosin dan *strain* bakteri penghasilnya

Jenis Bakteriosin	<i>Strain</i> Penghasil
Lactacin F	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
Lactocin 705	<i>L. casei</i>
Lactococin G	<i>L. lactis</i>
Lactococcin MN	<i>Lactococcus lactis</i> var <i>cremoris</i>
Nisin	<i>Lactococcus lactis</i>
Leucocin H	<i>Leuconostoc</i> spp.
Plantaricin EF, Plantaracin , Plantaricin JK, Plantaracin S	<i>L. plantarum</i>
Pediocin PA-1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
Leucocycligin Q	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Weissellicin Y, Weissellicin M	<i>Weissella hellanica</i>

Cleveland dkk., 2001; Paul dkk., 2002

2.3 Bakteriosin dan Klasifikasinya

Bakteriosin merupakan senyawa protein yang dihasilkan oleh beberapa jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif. Senyawa peptida ekstraselular bioaktif atau peptida kompleks bakterisida atau bakteriostatik dapat menekan pertumbuhan bakteri. Bakteriosin dapat bersifat kationik, anionik dan netral. Bakteriosin biasanya memiliki berat molekul yang rendah, jarang yang lebih dari 10 kDa. Bakteriosin mengalami modifikasi setelah proses translasi dan mudah terdegradasi oleh enzim proteolitik terutama enzim proteolitik pada saluran pencernaan mamalia, sehingga bakteriosin tersebut aman untuk dikonsumsi oleh manusia dan tidak membahayakan mikroflora usus (Beasley dan Saris 2004). Beberapa jenis bakteriosin pada umumnya bersifat tahan terhadap suhu tinggi atau *heat resistant* sampai dengan 100 °C selama 30 menit (Oakey dkk., 2000).

Bakteriosin merupakan protein yang bersifat bakteriosidal, yang memiliki sifat pengikatan spesifik (*specific binding site*) terhadap bakteri target, serta aktif terhadap bakteri yang dekat secara filogenik. Gen pengkode bakteriosin yang mengatur regulasi sintesis bakteriosin terdapat di dalam plasmid (Engelke dkk.,1992). Sintesis bakteriosin terjadi selama fase pertumbuhan primer (logaritmik) hingga awal fase stasioner. Kelompok bakteri yang paling banyak

menghasilkan bakteriosin adalah bakteri asam laktat. Sebagian besar bakteriosin yang disekresikan oleh BAL merupakan jenis senyawa peptida kationik kecil dengan panjang 30-60 residu asam amino. Produksi bakteriosin dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, suhu, sumber karbon, serta fase pertumbuhan (Salvado, 2006). Penggunaan jenis sumber karbon serta sumber nitrogen dalam medium produksi akan memengaruhi laju pertumbuhan sel BAL yang selanjutnya akan berpengaruh pada metabolisme produksi bakteriosin. Sintesis protein ini diatur oleh plasmid DNA ekstra kromosomal yang sintesisnya dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan terutama pH. Aktivitas bakteriosin dibatasi hanya pada beberapa strain pada spesies yang berkerabat dekat dengan spesies penghasil bakteriosin tersebut, terutama strain dari jenis spesies yang sama (Husebye dkk., 2001).

Bakteriosin dapat digunakan sebagai tambahan bahan pangan, karena bakteriosin dapat secara langsung diproduksi oleh aktivitas *starter* atau bakteri dalam bentuk *co-culture* yang digunakan pada makanan tersebut. Beberapa penelitian mengindikasikan bahwa penggunaan *starter* BAL dengan kultur tunggal atau *co-culture* mampu memproduksi senyawa bakteriosin dan menghasilkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen dan bakteri penyebab pembusukan pada makanan (Leroy dan de Vuyst, 2004).

Bakteriosin yang dihasilkan oleh kelompok bakteri asam laktat sangat menguntungkan bagi industri makanan terutama produk hasil fermentasi, karena aktivitasnya mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri kontaminan penyebab pembusukan ataupun bakteri penyebab penyakit yang ditularkan melalui makanan (*food borne illness*). Penambahan bakteriosin dalam makanan juga berguna untuk memperpanjang waktu penyimpanan makanan dan menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen (Neetles dan Barefoot, 1993).

Jumlah spesies bakteri asam laktat yang telah dimanfaatkan dalam industri makanan cukup banyak, tetapi tidak semua spesies berpotensi menghasilkan bakteriosin. Beberapa bakteriosin dari bakteri asam laktat dalam industri makanan antara lain nisin, diplococcin, acidochilin, bulgarican, helventicin, lactacin, dan plantaricin.

Beberapa keuntungan penggunaan bakteriosin yang berasal dari bakteri asam laktat sebagai biopreservatif adalah sebagai berikut (Neetles dan Barefoot, 1993):

1. Bakteriosin bersifat nontoksik dan dapat didegradasi oleh enzim proteolitik karena merupakan senyawa protein.
2. Tidak membahayakan mikroflora usus karena mudah dicerna oleh enzim-enzim dalam saluran pencernaan.
3. Mengurangi penggunaan bahan kimia yang biasa digunakan sebagai pengawet makanan.
4. Sangat fleksibel untuk ditambahkan pada bahan makanan, dapat berupa strain kultur bakteri penghasil bakteriosin atau senyawa bakteriosin yang telah dipurifikasi atau semipurifikasi.

Chen dan Hoover (2003) melaporkan bahwa berdasarkan karakteristik biokimia dan sifat genetiknya, bakteriosin dapat diklasifikasikan menjadi tiga golongan antara lain:

Bakteriosin kelas I

Bakteriosin kelas ini disebut juga sebagai Lantibiotik. Lantibiotik memiliki berat molekul kecil (<5 kDa) yang terjadi modifikasi pada fase setelah transkripsi (*post-transcription*) atau setelah disintesis secara ribosomal dan mengandung satu atau lebih asam amino seperti *lanthionine*, *E-Methylanthionine* serta residu *dehydroalanine* dan *dehydrobutyrine* yang didehidrasi. Lantibiotik dibagi menjadi dua tipe berdasarkan gugus fungsional dan struktural lantibiotik yaitu tipe A dan B.

- a. Lantibiotik tipe A merupakan peptida kationik yang diperpanjang dengan jembatan *lanthionine*. Mekanisme dari peptida ini adalah dengan mengganggu membran sel organisme target. Beberapa contoh lantibiotik adalah nisin, subtilin dan epidermin.
- b. Lantibiotik tipe B merupakan peptida berbentuk bulat dan tersusun lebih kecil yaitu sampai 19 residu asam amino. Beberapa contoh lantibiotik B adalah mersasidin, duramisin dan aktagardin. Peptida ini bekerja dengan mengganggu fungsi enzim organisme target, seperti menghambat biosintesis dinding sel bakteri.

Bakteriosin kelas II

Tipe kelas II merupakan senyawa peptida yang memiliki berat molekul (<10 kDa) dan tidak mengalami modifikasi, serta tahan terhadap panas. Peptida ini stabil dalam pemanasan 100 - 121 °C. Bakteriosin kelas ini membentuk struktur helik (amfipatik) dengan adanya variabel hidrofobisitas dan struktur *E-sheet*. Lebih dari 50 bakteriosin kelas II dari bakteri asam laktat yang telah diisolasi dan

dikarakterisasi. Bakteriosin kelas II dikelompokkan menjadi beberapa kelompok meliputi (Paul dkk., 2002);

- a. Kelas IIa merupakan kelompok pediosin yang merupakan jenis peptida yang memiliki aktivitas antilisterial yang kuat dan identitas paling besar dalam sekuensing (40-70 %).
- b. Kelas IIb termasuk kelompok bakteriosin dua-peptida. Bakteriosin ini membutuhkan kombinasi dua peptida agar aktivitas antimikroba dapat dijalankan. Aktivitas tersebut tetap ada walaupun digunakan peptida secara terpisah, tetapi sangat dipengaruhi oleh keberadaan peptida kedua.
- c. Kelas IIc merupakan kelompok bakteriosin yang *sec-dependent*. Mekanisme dari kerja bakteriosin ini adalah dengan menyeberangi membran sitoplasma melalui jalur sekresi *sec-dependent*. Beberapa kelompok kelas IIc antara lain asidosin B, divergisin A, bakteriosin 31, enterosin P, dan listeriosin 743A.
- d. Kelas IId merupakan bakteriosin tanpa sekuensing utama. Bakteriosin ini disintesis tanpa terminal N utama atau sinyal sekuensing. Kelompok ini terdiri dari dua komponen bakteriosin enterosin L50 dan peptida tunggal enterosin Q, yang diproduksi oleh *Enterococcus faecium* L50, dan Aurosin A70 oleh *Staphylococcus aureus* A70.
- e. Kelas IIe merupakan bakteriosin yang terdiri dari senyawa peptida siklik. Bakteriosin ini menjadi siklik karena formasi pengikat peptida kepala-ekor. Contoh dari bakteriosin ini adalah AS-48, gasserisin A, sirkularin A.
- f. Kelas IIf merupakan subkelas bakteriosin yang tidak mengalami modifikasi. Kelompok ini terdiri dari bakteriosin kelas II lain yang tidak menyerupai struktur dan motif dari subkelas manapun.

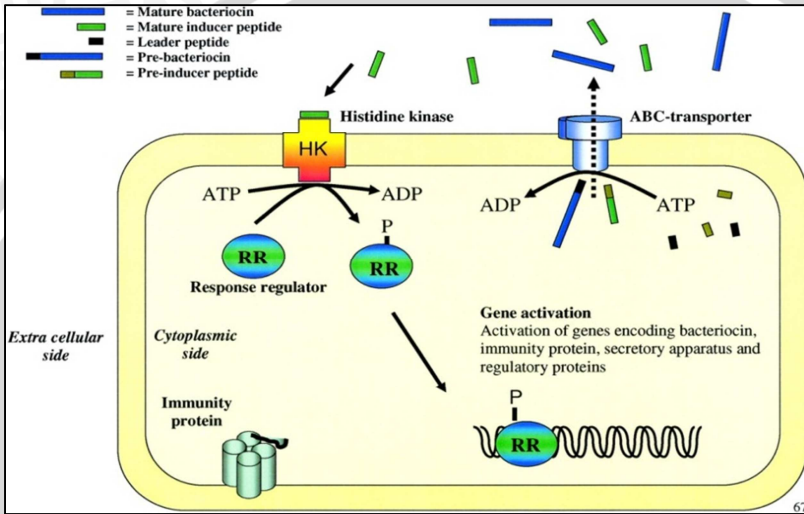
Bakteriosin kelas III

Bakteriosin kelas ini memiliki berat molekul besar yaitu >30 kDa dan tidak tahan panas. Contoh dari bakteriosin kelas ini yang telah diidentifikasi adalah helvetisin J, helvetisin V, acidophilusin A, laktasin A dan B.

2.4 Biosintesis Bakteriosin

Biosintesis bakteriosin memerlukan gen pengkode bakteriosin. Sekresi prepeptida dilakukan pada fase eksponensial dan maksimum diproduksi pada saat fase stasioner (Engelke dkk., 1992). Proses

biosintesis bakteriosin diregulasi oleh tiga komponen sistem sinyal transduksi yang terdiri dari faktor induksi (*induction factor / IF*), *histidine protein kinase* (HPK) dan regulator respon sitoplasmik (RR) (Cintas dkk., 2001).



(Dridler dkk., 2006)

Gambar 1. Mekanisme biosintesis bakteriosin yang dihasilkan selama metabolisme sel bakteri asam laktat

Biosintesis bakteriosin dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, suhu, konsentrasi etanol pada lingkungan spesifik, dan kondisi pertumbuhan (Cotter dkk., 2005; Rojo-Bezares dkk., 2007). Secara umum, gen pengkode bakteriosin diatur oleh satu atau dua operon. Gen pertama mengkode sandi prekursor peptida (prepeptida), adanya gen kedua dapat mengetahui imunitas organisme target. Gen ketiga berfungsi untuk mengkode ABC transporter (sebuah transporter membran), sehingga prepeptida akan menyeberangi membran secara bersamaan. Gen keempat akan mengkode protein aksesori yang akan diperlukan saat mensekresikan bakteriosin (Nettles dan Barefoot, 1993). Biosintesis bakteriosin terjadi dengan diproduksinya prebakteriosin dan faktor induksi (prepeptida). Faktor induksi disintesis sebagai prepeptida dengan sekuens *double-glycine* yang selanjutnya mengalami kematangan setelah melewati *ABC transporter*. Bakteriosin dan faktor induksi akan melewati *ABC*

transporter dan akan mengaktifkan protein histidin kinase terjadi respon autofosforilasi. Proses respon autofosforilasi akan mengubah residu histidin pada domain ekstraselular ke dalam regulator respon yaitu menjadi asam aspartat yang bersifat *conserved*. Interaksi ini akan memacu regulator respon untuk mengaktifkan proses transkripsi dari gen yang bertanggung jawab untuk memproduksi bakteriosin. Bakteri asam laktat yang mampu memproduksi bakteriosin mampu melindungi dirinya dari sifat toksin yang dihasilkan oleh bakteriosin itu sendiri dengan mengekspresikan protein spesifik (*specific immunity protein*) yang secara umum dikode oleh operon bakteriosin (Ennahar, 1996).

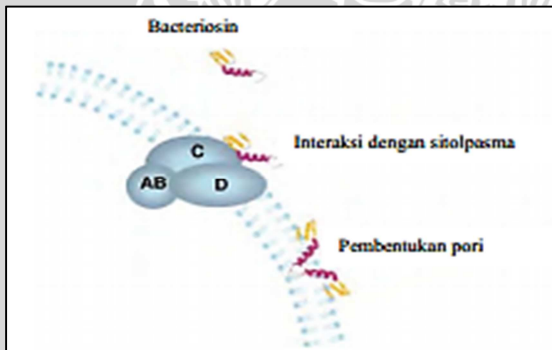
Beberapa kelompok penghasil bakteriosin kelas II, selain mampu memproduksi bakteriosin, bakteri ini juga mampu memproduksi faktor induksi (*induction factor*) yaitu peptida yang mirip dengan bakteriosin yang tidak memiliki aktivitas antimikroba. Faktor induksi ini mampu mengaktifkan proses transkripsi gen yang diregulasi. Faktor induksi merupakan bagian dari sistem sinyal transduksi yang bertanggung jawab untuk proses biosintesis bakteriosin kelas II (Nes dkk., 1996). Sel bakteri mampu memproduksi dan menyekresi molekul *autoinducer* atau *quorum* dalam jumlah sedikit. Konsentrasi ekstraselular *autoinducer* berkaitan erat dengan densitas populasi dari organisme yang memproduksi bakteriosin. Menurut Nilsson dkk. (2002) asam asetat dapat digunakan sebagai faktor induksi pada konsentrasi 0,3 hingga 12 mM. Pemberian asetat selama fase eksponensial akhir tidak dapat digunakan sebagai *inducer*.

Produksi bakteriosin dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, suhu, konsentrasi NaCl, konsentrasi etanol dan keberadaan dari bakteri yang lainnya (Leroy dan de Vuyst, 1999). Faktor lingkungan ini dapat berdampak negatif terhadap pertumbuhan bakteri penghasil bakteriosin ataupun dapat memicu sekresi faktor induksi (Uguen, 1998). Beberapa faktor lingkungan tersebut juga mampu mengurangi ikatan dari faktor induksi dengan reseptornya (Nilsen dkk., 1998).

2.5 Mekanisme Kerja Bakteriosin

Secara umum bakteriosin melakukan aktivitas antimikroba melalui kontak dengan dinding sel atau membran sel dari organisme target dengan cara berikatan dengan reseptor pada permukaan sel

(Bharathi dkk., 2011). Bakteriosin dari bakteri asam laktat akan menghambat bakteri target pada membran sitoplasma sel bakteri yang sensitif. Target utama bakteriosin adalah membran sitoplasma sel bakteri karena mekanisme bakteriosin adalah dengan merusak permeabilitas membran dan menghilangkan *proton motive force* (PMF) sehingga dapat menyebabkan penghambatan terhadap produksi energi dan biosintesis protein atau asam nukleat bakteri target. *Proton motive force* (PMF) merupakan suatu gradien elektrokimia di atas membran sitoplasma yang terdiri atas potensial membran (ψ) dan gradien pH (pH). *Proton motive force* (PMF) ini yang akan menginduksi sintesis ATP dan mengakumulasi ion dan metabolit lainnya. Oleh karena itu, dengan kehilangan PMF pada sel bakteri target yang diinduksi oleh aktivitas bakteriosin, maka akan menyebabkan kematian sel melalui penghentian reaksi pembentukan energi. Ketidaktersediaan ATP di dalam intraseluler sel akan membuat sel tidak mampu mengangkut nutrisi dan tidak mampu mempertahankan konsentrasi molekul kofaktor, seperti K^+ dan Mg^{2+} , sehingga terjadi kematian sel (Neetles dkk., 1993).



(Drider dkk., 2006)

Gambar 2. Mekanisme aksi bakteriosin merusak membran sel bakteri patogen

Aktivitas penghambatan bakteriosin membutuhkan suatu reseptor spesifik permukaan sel atau dapat juga melalui mekanisme melisis sel bakteri target. Beberapa mekanisme tersebut merupakan efek sekunder dari aktivitas pediocin AcH melalui depolimerisasi lapis peptidoglikan, sehingga secara tidak langsung dapat mengaktifkan sistem autolisis sel (Gonzales dkk., 1996).

Dinding sel bakteri merupakan kerangka yang keras di bagian luar membran sel bakteri. Membran sel bakteri dapat membungkus suatu massa bertekanan tinggi mencapai 20 atm karena bakteri mengandung metabolit yang memiliki tekanan lebih tinggi dibandingkan dengan tekanan sekitar sel bakteri. Maka jika tidak ada dinding sel maka membran sel tidak mampu menahan tekanan osmotik di dalam sel bakteri dan menyebabkan sel tersebut menjadi lisis (Bintang, 1995).

Beberapa cara antimikroba dalam melawan mikroorganisme adalah dengan efek bakterisidal, bakteriostatik ataupun bakteriolisis. Mekanisme aktivitas bakterisidal dari bakteriosin adalah melalui kontak langsung molekul bakteriosin dengan membran sel. Proses ini akan mengganggu potensial membran yaitu destabilitas membran sitoplasma sehingga permeabilitas sel menjadi berkurang. Ketidakstabilan membran ini menyebabkan pembentukan lubang atau pori pada membran sel melalui proses gangguan terhadap PMF (*Proton Motive Force*) (Todorov, 2008). Kebocoran yang terjadi akibat pembentukan lubang pada membran sitoplasma ditunjukkan oleh adanya aktivitas keluar masuknya molekul selular. Kebocoran ini akan berdampak pada penurunan gradien pH selular. Semua sel hidup memiliki membran sitoplasma yang sifatnya selektif permeabel, melakukan pengangkutan aktif, sehingga berperan dalam mengendalikan komponen di dalam sel. Oleh karena itu, jika integritas fungsi sel sitoplasma terganggu maka substansi intrasel akan keluar dari sel sehingga mengakibatkan kematian sel (Dridr dkk., 2006). Bakteriosin akan berpengaruh pada pembentukan lubang sitoplasma yang selanjutnya akan menyebabkan terjadinya perubahan gradien potensial membran dan pelepasan molekul intraselular maupun masuknya substansi ekstraselular dari luar sel. Hal ini akan berdampak pada penghambatan pertumbuhan sel dan proses kematian sel yang sensitif terhadap bakteriosin. Selain itu, beberapa mekanisme bakteriosin yang lainnya adalah melalui degradasi materi DNA sel, mengganggu proses pembelahan yang spesifik pada 16S rDNA, serta sintesis peptidoglikan yang selanjutnya menyebabkan kematian sel bakteri (Bastos dkk., 2010).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Desember 2013 – Juli 2014 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat dari Susu Kambing PE (Peranakan Etawa)

Sebanyak 25 ml dari sampel susu kambing PE dimasukkan ke dalam 225 ml NaCl 0,85 % sebanyak 225 ml untuk memperoleh seri pengenceran 10^{-1} . Setelah suspensi tersebut homogen, dilakukan kembali pengenceran bertingkat hingga 10^{-6} , sebanyak 0,1 ml dari masing-masing pengenceran diinokulasikan pada media selektif yaitu *De Man, Rogosa and Sharpe* agar (MRS agar) yang mengandung 1 % CaCO_3 dengan metode *pour plate*. Kemudian cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni BAL yang tumbuh dicirikan oleh adanya zona bening pada MRS agar yang mengandung 1 % CaCO_3 (Sujaya dkk., 2000).

Isolat bakteri asam laktat tersebut kemudian dilakukan pengamatan morfologi koloni untuk mendapatkan isolat-isolat yang berbeda. Kemudian isolat dimurnikan dengan menumbuhkan pada MRS agar dengan metode *streak plate*. Biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Selanjutnya isolat koloni tunggal digores dengan jarum ose dan ditumbuhkan pada media agar miring sebagai stok isolat dan disimpan pada suhu 4°C .

3.3 Karakterisasi Isolat BAL

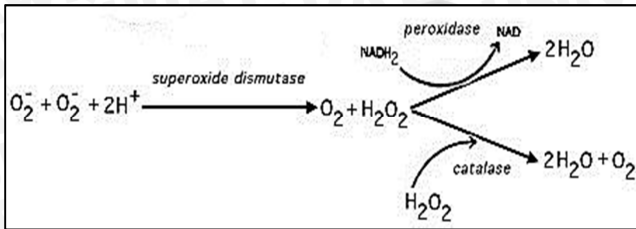
Masing-masing isolat yang diperoleh dilakukan karakterisasi morfologi koloni bakteri. Karakterisasi morfologi dilakukan dengan mengamati morfologi isolat yang tumbuh pada media MRS agar. Menurut Cappuccino dan Sherman (1996) pengamatan morfologi meliputi bentuk keseluruhan koloni, konfigurasi, margin, elevasi, tekstur, konsistensi, ciri optik, pigmentasi dan diameter koloni. Pengamatan morfologi sel meliputi bentuk sel, pewarnaan Gram dan uji katalase.

3.3.1 Pengamatan Morfologi Sel dan Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara gelas objek dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan etanol 70 % dan dikeringanginkan. Aquades steril sebanyak satu ose ditetaskan pada gelas objek dan ditambahkan satu ose biakan bakteri yang telah berumur 48 jam dari media MRS agar. Setelah keduanya diratakan, preparat difiksasi dengan melewati gelas objek di atas api bunsen. Hasil fiksasi kemudian dilakukan pewarnaan dengan menggunakan cat Gram A, B, C, dan D. Preparat digenangi dengan menggunakan cat Gram A (*Hucker's crystal violet*) selama 1 menit. Sisa cat Gram A pada preparat dibuang dengan mengaliri air di gelas objek dan dilanjutkan oleh cat Gram B (*Lugol's iodine*) selama 1 menit. Setelah dibersihkan sisa cat Gram B, warna cat dilunturkan dengan menggunakan Gram C (alkohol-aseton) sampai warna cat luntur (± 30 detik). Preparat kembali dibersihkan dari sisa pewarna dan dilanjutkan dengan pewarnaan Gram D (safranin) selama 1 menit. Sisa dari cat Gram D dialiri air dan dikeringanginkan. Preparat yang telah terwarnai kemudian ditutup dengan gelas objek. Preparat pada gelas objek kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop binokular perbesaran 1000x (Cappucino dan Sherman, 1996; Benson, 2002)

3.3.2 Uji Katalase

Katalase merupakan enzim yang diproduksi oleh beberapa mikroorganisme yang dapat memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang kemudian pada pengujian akan menghasilkan gelembung. Pengujian katalase dilakukan dengan menggunakan 3 % H_2O_2 (v/v). Pengujian enzim katalase dilakukan dengan cara mengambil satu ose isolat yang telah berumur 24 jam masing-masing pada gelas objek. Kemudian ditetesi dengan larutan 3 % hidrogen peroksida dan dihomogenasi dengan jarum ose. Bakteri yang bersifat katalase positif akan terlihat gelembung udara pada gelas objek, sedangkan katalase negatif tidak akan terlihat gelembung udara (Lei dan Jacobson, 2004). Pembentukan gelembung mengindikasikan keberadaan enzim katalase. Bakteri asam laktat akan menguraikan hidrogen peroksida menjadi air (H_2O) dengan menggunakan enzim peroxidase yang dibantu oleh energi berupa $NADH_2$ (Gambar 3) (Buchanan, 2000). Reaksi kimiawi yang dikatalisasikan oleh enzim katalase terlihat berikut:



(Buchanan, 2000)

Gambar 3. Mekanisme degradasi hidrogen peroksida (H₂O₂) di dalam sel bakteri

3.4 Deteksi Penghambatan oleh Kultur BAL terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*

Deteksi penghambatan bakteri uji oleh BAL dilakukan dengan menggunakan metode *agar well diffusion*. Isolat BAL yang telah berumur 24 jam digunakan untuk pengujian. Kultur bakteri diinokulasikan sebanyak 1 ose pada 10 ml MRSB yang ditambah *Yeast Extract* 2,5 % dan dilakukan inkubasi selama 24 jam. Cawan petri diisi dengan media NA (*Nutrient Agar*) kurang lebih sebanyak 20 ml. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*. Kedua bakteri uji dikulturkan pada 20 ml media NB (*Nutrient Broth*) hingga densitas sel mencapai 10⁶ CFU/ml. Masing-masing kultur bakteri uji tersebut diinokulasikan sebanyak 100 µL dengan metode *spread plate* kedalam cawan petri yang telah berisi media NA. Sumuran kemudian dibuat dengan menggunakan *cork borer*. Kultur isolat BAL yang telah berumur 24 jam selanjutnya diinokulasikan ke dalam masing-masing sumuran sebanyak 40 µL. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dalam posisi tidak terbalik.

3.5 Pengujian Penghambatan Bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*

Uji daya hambat bakteriosin dilakukan dengan menggunakan *Cell Free Supernatant* (CFS) dari isolat BAL. Isolat BAL yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Salmonella thypimurium* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan dengan metode sumuran (*agar well diffusion assay*). Pembuatan supernatan bebas sel dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat

BAL terpilih pada 10 ml MRS *broth* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Sebanyak 5 ml kultur BAL dari hasil sub-kultur tersebut diambil dan diinokulasikan ke dalam 45 ml MRS *broth* yang telah ditambah *Yeast Extract* 2,5%. Inkubasi dilakukan kembali pada suhu 37 °C selama 48 jam. Kultur bakteri kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm, selama 15 menit pada suhu 4 °C (*Sorvall RC6 PLUS, Thermo-electron Corporation, Asheville, NC, USA*). Selanjutnya diambil supernatannya dan diatur pHnya dengan menggunakan NaOH (1,0 M) menjadi 6,5 untuk menghilangkan pengaruh asam yang dihasilkan oleh BAL. Supernatan kemudian difiltrasi dengan menggunakan *membrane filter* steril yang berukuran 0,22 µm (*Chroma-tographic Specialties Inc., ON, Canada*). Menurut Ross dkk. (2002) filtrasi bertujuan agar aktivitas penghambatan yang terjadi bukan merupakan pengaruh dari keberadaan sel bakteri. Hal ini dikarenakan sel bakteri asam laktat mampu menghasilkan metabolit yang bersifat antimikroba terhadap bakteri lainnya.

Selanjutnya sebanyak 100 µL bakteri uji dengan konsentrasi akhir 10⁶ CFU/ml diinokulasikan dengan metode *spread plate* ke dalam cawan petri yang telah berisi sekitar 20 ml media NA. Selanjutnya dibuat sumuran (*well*) pada cawan petri tersebut dengan menggunakan *cork borer* no 3. Sebanyak 50 µl supernatan bebas sel diinokulasikan ke dalam masing-masing sumuran yang telah dibuat. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar sumur menunjukkan adanya aktivitas penghambatan supernatan bebas sel terhadap bakteri uji (Yang dkk., 2012).

3.6 Sensitivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik

Pengujian bakteriosin terhadap enzim proteolitik dilakukan untuk memastikan bahwa senyawa antimikroba yang mampu mengambat bakteri uji tersebut merupakan bakteriosin. Jenis enzim proteolitik yang digunakan adalah Proteinase K. Larutan enzim Proteinase K dicampur dengan 20 mM Tris HCl pH 7 hingga konsentrasi 1 mg/ml. Supernatan bebas sel yang telah dinetralkan dan difiltrasi kemudian dicampur dengan enzim Proteinase K dengan perbandingan yang sama (v/v). Campuran tersebut direaksikan dengan menginkubasi pada 37 °C selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan pemanasan pada

suhu 100 °C selama 5 menit. Sensitivitas senyawa antimikroba terhadap enzim proteolitik selanjutnya dilakukan dengan pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode *agar-well diffusion*. Sampel yang tidak dilakukan pemberian enzim Proteinase K digunakan sebagai kontrol (El-Shouny, 2006).

3.7 Identifikasi isolat BAL dengan API 50 CHL test kit

Isolat yang akan diidentifikasi dimurnikan dan dikultur pada MRS agar. Dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Isolat yang telah tumbuh diinokulasikan dalam tabung reaksi A yang berisi 2 ml aquades steril dengan menggunakan *cotton bud* steril hingga sangat keruh. Suspensi tersebut kemudian diinokulasikan kedalam tabung reaksi yang berisi 5 ml aquades steril hingga kekeruhan mencapai 2 *McFarland*. Volume yang diinokulasikan dicatat sebagai nilai n. Selanjutnya dilakukan inokulasi dari suspensi pada tabung reaksi A sebanyak dua kali dari volume n (2n) kedalam 10 ml media API 50 CHL. Suspensi dalam media API 50 CHL tersebut dituang pada masing-masing sumuran yang terdapat pada *strip* secara perlahan agar tidak terbentuk gelembung udara. Agar media dalam sumuran tidak terkontaminasi atau tumpah maka dilapisi dengan menggunakan *mineral oil* sebanyak 2 tetes pada masing-masing sumuran. Selanjutnya dilakukan inkubasi strip media API 50 CHL pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil yang positif ditandai dengan adanya perubahan warna mendekati kuning, kecuali sumuran nomor 25 yang akan berubah warna menjadi hitam. Hasil pengujian dicatat pada lembar hasil. Profil biokimia isolat BAL diidentifikasi dengan menggunakan sofware identifikasi apiwebTM.

3.8 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba BAL terhadap *Salmonella thypimurium* dan *Staphylococcus aureus* serta pengujian aktivitas bakteriosin terhadap bakteri uji adalah rancangan acak kelompok (RAK) non faktorial. Variabel yang digunakan adalah isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dan bakteri uji (*Salmonella thypimurium* dan *Staphylococcus aureus*). Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*). Jika hasil analisis yang dilakukan pada program SPSS adalah homogen maka dilanjutkan dengan menggunakan Tukey, sedangkan data yang tidak

homogen dianalisis dengan menggunakan Brownshyte dan dilanjutkan pada pengujian Games-Howell.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

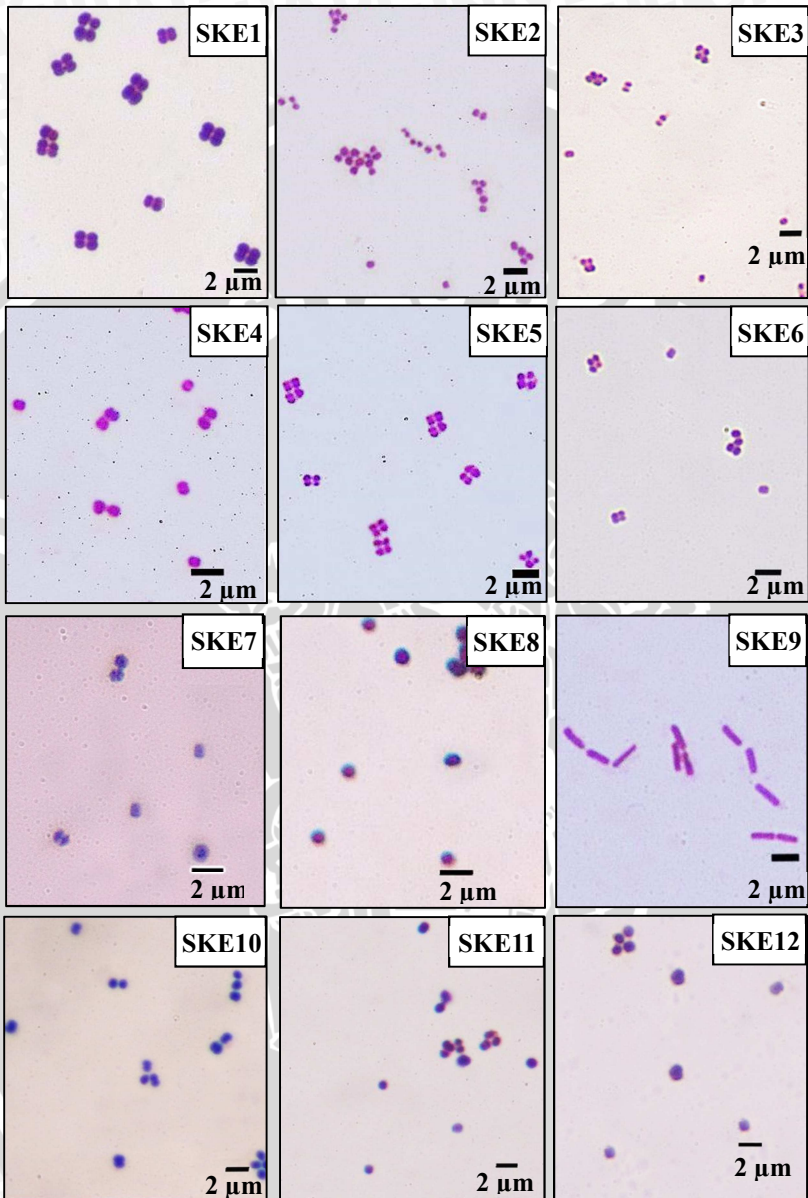


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik BAL Hasil Isolasi dari Susu Kambing PE

Isolasi bakteri yang telah dilakukan dari susu kambing PE diperoleh sebanyak 12 isolat BAL, yaitu isolat SKE1, SKE2, SKE3, SKE4, SKE5, SKE6, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, SKE11, dan SKE12. Isolat tersebut diperoleh melalui skrining yaitu dengan melihat adanya zona bening di sekitar koloni bakteri pada media MRS agar yang mengandung CaCO_3 1 %. Media tersebut merupakan media diferensial sehingga dapat membedakan antara BAL dengan bakteri yang lainnya. Bakteri asam laktat dapat memproduksi asam, sehingga asam akan bereaksi dengan kalsium karbonat (CaCO_3) yang bersifat basa yang terlarut dalam media MRS agar dan selanjutnya akan membentuk zona bening di sekitar koloni (Panthavee dkk., 2007). Hal tersebut didukung oleh Onda dkk. (2002), bahwa kalsium karbonat digunakan sebagai indikator untuk strain bakteri yang mampu memproduksi asam. Skrining berikutnya, ciri spesifik dari BAL adalah memiliki karakteristik Gram positif dan katalase negatif, tidak membentuk endospora, serta bersifat tidak motil (Michaela dkk., 2009). Karakter tersebut dipenuhi oleh seluruh isolat BAL yang diperoleh. Semua isolat BAL yang diperoleh merupakan Gram positif dan katalase negatif. Sebagian besar bakteri asam laktat merupakan jenis bakteri aerotoleran, yaitu bakteri yang tidak membutuhkan oksigen, namun masih dapat bertahan hidup di lingkungan yang tersedia oksigen. Oleh karena itu, bakteri asam laktat tidak memiliki enzim katalase untuk memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air (Buchanan, 2000).

Bentuk sel isolat SKE7, SKE8, SKE10, dan SKE11 adalah *coccus* ($d = 1 \mu\text{m}$). Isolat SKE2 berbentuk *coccus* ($d = 0,7 \mu\text{m}$), SKE3 berbentuk *coccus* ($d = 0,8 \mu\text{m}$), SKE4 berbentuk *coccus* ($d = 0,9 \mu\text{m}$) SKE6 berbentuk *coccus* ($d = 0,9 \mu\text{m}$), SKE12 berbentuk *coccus* ($d = 1,1 \mu\text{m}$). Isolat SKE9 memiliki bentuk sel basil ($p = 1,7 \mu\text{m}$). Bentuk sel dari isolat SKE1 dan SKE5 adalah *coccus* yang tersusun dalam formasi tetrad dengan diameter masing-masing adalah 1 dan $0,7 \mu\text{m}$.



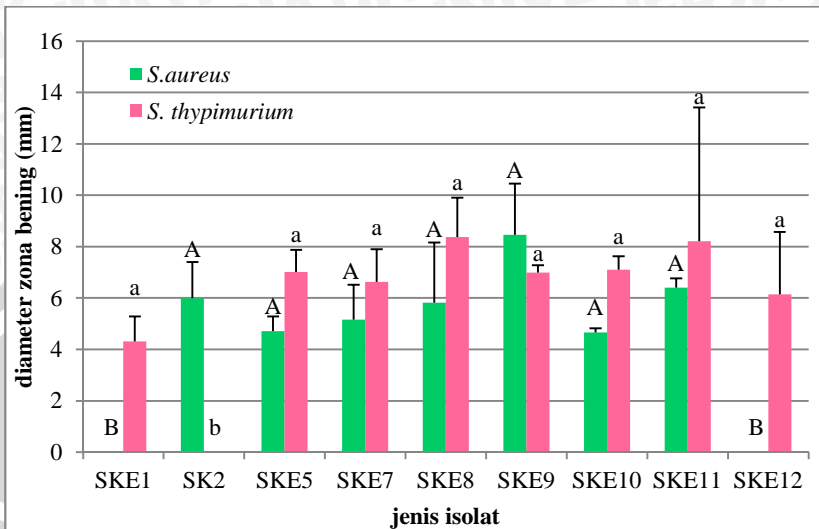
Gambar 4. Hasil pewarnaan Gram isolat BAL asal susu kambing PE (1000x)

Sel bakteri berbentuk *coccus* dengan susunan sel berpasangan dan membentuk formasi tetrad (*tetracoccus*) merupakan ciri khas dari Genus *Pediococcus*, *Aerococcus* dan *Tetragenococcus* (Axelsson, 2004). Isolat SKE5 memiliki kemiripan dengan Genus *Pediococcus* karena memiliki warna koloni putih. Hal tersebut seperti yang dilaporkan oleh Axelsson (2004) bahwa koloni dari Genus *Pediococcus* bewarna putih. Ukuran sel secara individu Genus *Pediococcus* adalah sekitar 0,5-1,0 μm (Buchanan, 2000). Lebih dari 50 % spesies *Pediococcus pentosaceus* diisolasi dari susu kambing (Breed,1957).

Berdasarkan karakter morfologi sel dan koloni bakteri, semua isolat merupakan isolat yang berbeda satu sama lain. Isolat SKE2, SKE3, SKE4 tidak berbeda berdasarkan karakter morfologi koloni, namun ukuran sel individu saling berbeda. Sebagian besar isolat yang ditemukan memiliki bentuk sel berupa *coccus*. Menurut Axelsson (2004) beberapa jenis bakteri asam laktat yang memiliki bentuk *coccus* antara lain Genus *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, dan *Leuconostoc*.

4.2 Penghambatan oleh Kultur BAL terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*

Penghambatan antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium* menunjukkan bahwa terdapat tujuh isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, yaitu SKE2, SKE5, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, dan SKE11 (Gambar 5). Penghambatan senyawa antimikroba oleh BAL tertinggi terhadap *Staphylococcus aureus*, oleh isolat SKE9 yaitu mampu menghasilkan zona bening dengan diameter hingga $8,45 \pm 2,001$ mm (luas zona bening = $56,05$ mm²). Berdasarkan analisis statistik yang telah dilakukan dapat diinterpretasikan bahwa nilai diameter zona bening isolat SKE9 tidak berbeda secara signifikan dibandingkan dengan isolat BAL lainnya. Aktivitas penghambatan terendah terdapat pada isolat SKE10 dengan diameter zona bening sebesar $4,66 \pm 0,16$ mm (luas zona bening = $17,04$ mm²).



Gambar 5. Aktivitas penghambatan oleh kultur BAL asal susu kambing PE terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*

Kemampuan penghambatan oleh kultur BAL terhadap bakteri *Salmonella thypimurium* menunjukkan bahwa dari 12 isolat BAL, terdapat 8 isolat yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji. Isolat BAL tersebut meliputi SKE1, SKE5, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, SKE11, dan SKE12. Aktivitas penghambatan isolat BAL terhadap *Salmonella thypimurium* tertinggi adalah isolat SKE8, dengan diameter sebesar $8,38 \pm 1,53$ mm (luas zona bening = $55,13 \text{ mm}^2$), akan tetapi hasil analisis statistic menunjukkan diameter zona bening isolat SKE8 tidak berbeda secara signifikan dengan isolat BAL lainnya. Isolat SKE1 memiliki nilai diameter terendah yaitu sebesar $4,31 \pm 0,98$ mm (luas zona bening = $14, 58 \text{ mm}^2$).

Berdasarkan analisis dua faktor dengan menggunakan SPSS diketahui bahwa *p-value* antara jenis bakteri asam laktat dengan bakteri uji sebesar 0,178 ($> 0,05$) (Lampiran LT9). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara jenis isolat BAL dengan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*.

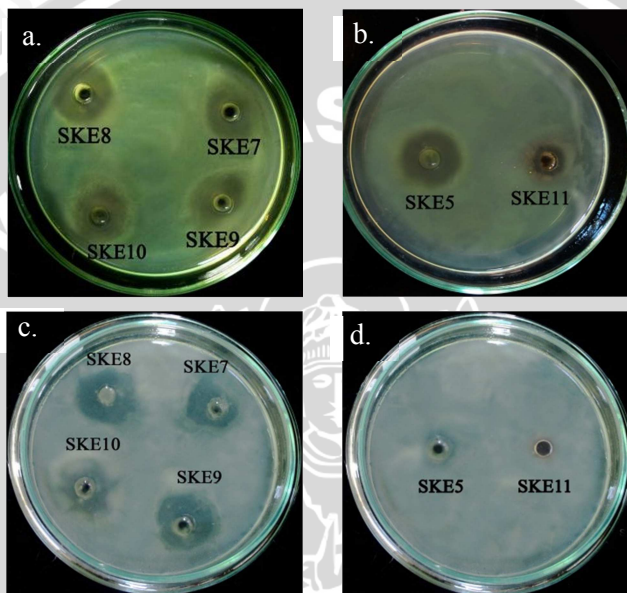
Gambar 5 menunjukkan bahwa penghambatan oleh kultur isolat BAL terhadap kedua bakteri uji, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium* ditunjukkan oleh enam isolat BAL yaitu SKE5, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, SKE11, dan SKE12 (Gambar 5). Keenam isolat tersebut merupakan isolat terpilih yang digunakan untuk skrining selanjutnya karena kemampuan dalam menghambat kedua jenis bakteri uji.

Kemampuan antimikroba isolat BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji berbeda-beda, hal ini dikarenakan masing-masing isolat BAL menghasilkan metabolit yang berbeda-beda. Perbedaan metabolit yang dihasilkan dipengaruhi oleh tipe metabolisme BAL, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Menurut Charlier dkk. (2009) BAL homofermentatif menghasilkan metabolit utama berupa asam laktat, sedangkan BAL heterofermentatif selain menghasilkan asam laktat juga mampu memproduksi senyawa-senyawa lain seperti etanol, asam asetat asam propionat, CO₂ dan asam organik lain. Masing-masing asam organik memiliki pKa yang berbeda. Oleh karena itu, nilai pKa dapat mempengaruhi kemampuan penghambatan BAL terhadap bakteri uji. pKa merupakan konstanta disosiasi asam suatu senyawa asam. Nilai pKa yang semakin tinggi mampu menghambat bakteri target semakin baik dibandingkan dengan nilai pKa yang semakin rendah. Menurut Ross dkk. (2002) asam organik memiliki kemampuan untuk merusak potensial membran sel bakteri, menghambat aktivitas transpor aktif, menurunkan nilai pH intraseluler dan menghambat berbagai fungsi metabolisme sel bakteri. Beberapa jenis BAL homofermentatif dan heterofermentatif juga mampu memproduksi senyawa bakteriosin atau *bactericidal protein* selama proses fermentasi (Oyetayo dkk., 2003).

4.3 Aktivitas Penghambatan Bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*

Supernatan bebas sel (CFS) yang dinetralkan dan mampu menghambat pertumbuhan strain indikator membuktikan bahwa aktivitas antimikroba yang terjadi adalah dikarenakan produksi bakteriosin oleh bakteri asam laktat dan bukan oleh metabolit lainnya (Tatsadjieu dkk., 2009). Semua isolat yang terpilih yaitu SKE5,

SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, dan SKE11 mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat diketahui berdasarkan zona bening yang terbentuk disekitar sumuran (Gambar 6).

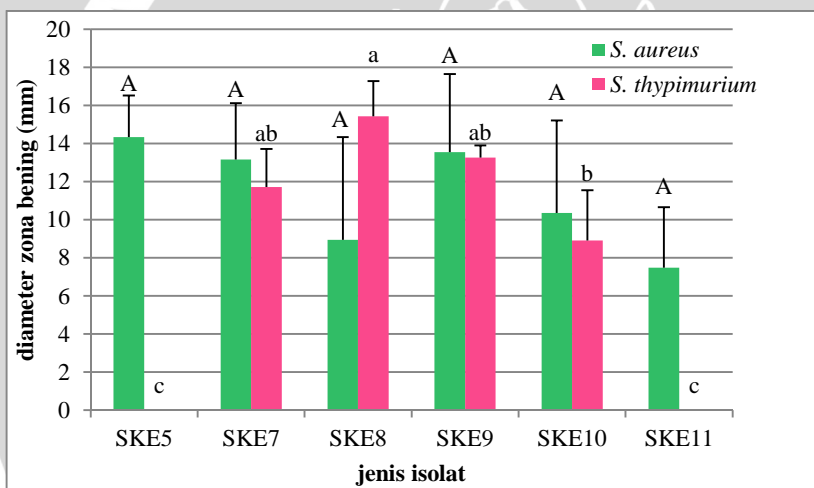


Gambar 6. Penghambatan bakteriosin (CFS) isolat BAL terhadap *Staphylococcus aureus* (a dan b) dan *Salmonella thypimurium* (c dan d)

Aktivitas penghambatan bakteriosin tertinggi terhadap *Staphylococcus aureus* terdapat pada isolat SKE5 dengan diameter sebesar $14,34 \pm 2,18$ mm (luas zona bening = $161,42$ mm²). Jika dibandingkan dengan isolat BAL lainnya, angka tersebut tidak berbeda secara signifikan berdasarkan analisis statistika. Hal tersebut ditunjukkan dengan notasi yang sama (Gambar 7). Penghambatan bakteriosin tertinggi selanjutnya diikuti oleh isolat SKE9 dengan diameter sebesar $13,55 \pm 4,09$ (luas zona bening = $144,13$ mm²). Berdasarkan hasil indeks penghambatan, semua isolat tidak berbeda secara signifikan (Lampiran LT21.)

Penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap *Salmonella thypimurium* menunjukkan bahwa hanya terdapat 4 isolat yaitu SKE7, SKE8, SKE9, dan SKE10 yang mampu menghambat bakteri

uji tersebut (Gambar 7). Aktivitas bakteriosin tertinggi adalah oleh isolat SKE8 dengan diameter zona bening sebesar $15,44 \pm 1,85$ mm (luas zona bening = $187,84$ mm²). Aktivitas bakteriosin isolat SKE8 berbeda secara signifikan terhadap isolat SKE10, namun tidak berbeda secara signifikan terhadap isolat SKE7 dan SKE9. Isolat SKE10 memiliki aktivitas bakteriosin terendah dengan nilai diameter sebesar $8,91 \pm 2,65$ mm (luas zona bening = $62,32$ mm²). Aktivitas bakteriosin isolat SKE10 tidak berbeda secara signifikan terhadap isolat SKE7 dan SKE9 (Gambar 7). Nilai indeks penghambatan terhadap *Salmonella thypimurium* tertinggi adalah oleh SKE8 sebesar $3,21 \pm 0,26$ dan tidak berbeda secara signifikan terhadap SKE7 dan SKE9.



Gambar 7. Penghambatan bakteriosin (CFS) isolat BAL asal susu Kambing PE terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*

Isolat SKE5 dan SKE11 termasuk isolat terpilih, namun kedua isolat BAL tersebut hanya memiliki aktivitas penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus*. Ketidakmampuan bakteriosin (CFS) dalam menghambat *Salmonella thypimurium* dikarenakan adanya perbedaan karakter bakteriosin

yang diproduksi oleh masing-masing isolat, yaitu ukuran, struktur, serta mekanisme bakteriosin (Cotter dkk., 2005).

Kemampuan daya hambat bakteriosin (CFS) lebih tinggi dibandingkan daya hambat kultur isolat BAL terhadap bakteri uji. Hal tersebut ditunjukkan dari nilai diameter zona bening yang terbentuk. Penghambatan antimikroba isolat BAL memiliki diameter tertinggi oleh SKE9 yaitu sebesar 8,45 mm, sedangkan nilai daya hambat bakteriosin (CFS) tertinggi adalah sebesar 15,435 mm. Perbedaan daya hambat yang terjadi dikarenakan beberapa faktor yaitu perbedaan volume media kultur yang digunakan dan waktu inkubasi. Pengujian daya hambat oleh kultur isolat BAL digunakan media kultur sebanyak 10 ml MRS *broth* dengan waktu inkubasi selama 24 jam, sedangkan pengujian penghambatan bakteriosin (CFS) digunakan media kultur sebanyak 50 ml MRS *broth* dengan waktu inkubasi selama 48 jam. Perbedaan volume media kultur akan berpengaruh terhadap kandungan nutrisi di dalam media kultur dan densitas sel BAL, sehingga secara langsung akan berpengaruh terhadap metabolit yang dihasilkan oleh isolat BAL tersebut. Perbedaan waktu inkubasi juga akan mempengaruhi densitas sel dan metabolit yang dihasilkan oleh BAL. Hal tersebut seperti yang dilaporkan El Ouardy (2013) bahwa komposisi suatu media pertumbuhan meliputi sumber dan konsentrasi karbon ataupun nitrogen sangat berpengaruh terhadap metabolit yang diproduksi oleh BAL.

Analisis dua faktor (*Univariate Analysis of Variance*) telah dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya interaksi antara isolat BAL terhadap bakteri uji yang digunakan (*Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*). Berdasarkan pengujian tersebut diperoleh nilai *p-value* sebesar 0,143 ($> 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara isolat BAL terhadap bakteri uji. Sehingga aktivitas penghambatan bakteriosin (CFS) yang dihasilkan oleh isolat BAL terhadap *Salmonella thypimurium* tidak ada interaksi (hubungan) dengan aktivitasnya terhadap *Staphylococcus aureus*. Dapat diinterpretasikan bahwa aktivitas penghambatan yang dihasilkan oleh CFS dari isolat BAL merupakan aktivitas penghambatan bakteriosin.

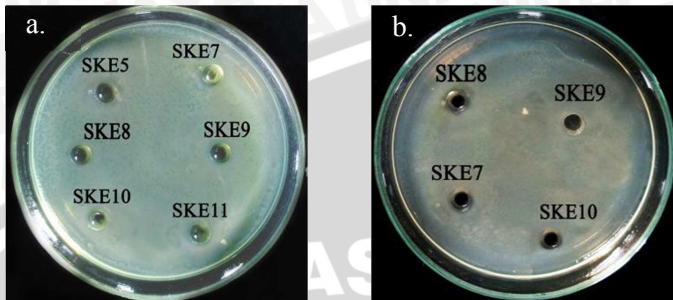
Sebagian besar bakteriosin tidak mampu menghambat bakteri Gram negatif. Hal ini dikarenakan membran sel bagian luar dari bakteri Gram negatif bertindak sebagai penghalang (*barrier*)

mekanisme aksi bakteriosin yang terjadi pada bagian membran sitoplasma. Membran sitoplasma bakteri Gram negatif dilindungi dengan membrane luar (*outer membrane*) yang tersusun dari fosfolipid bilayer, yang dikelilingi oleh jaringan lipid dan polisakarida yang disebut lipopolisakarida. Lapisan lipopolisakarida membentuk pelindung dan berperan sebagai penghalang berbagai senyawa seperti antibiotik, senyawa hidrofobik, detergen, dan pewarna (Raetz dan Whitfield, 2002).

Menurut Garcia dkk. (1993) mekanisme aksi bakteriosin terjadi pada bagian membran sitoplasma sel bakteri target. Sebagian besar bakteriosin mampu menghambat sel target melalui pembentukan pori dan keluarnya senyawa substansi intraseluler melalui membran sitoplasmik, ATP sitoplasma sel bakteri akan menurun, kehilangan gaya gerak proton (MPF), melalui penghambatan biosintesis dinding sel, atau kombinasi keduanya. Mekanisme kompleks ini akan mengakibatkan kematian sel. Hal ini akan menyebabkan bakteri patogen sulit untuk mengembangkan resistensi sel bakteri untuk melawan bakteriosin tersebut (Cotter dkk., 2005; Gillor dkk., 2008). Menurut Abee dkk. (1995) penghambatan bakteriosin secara umum terjadi melalui depolarisasi dari membran sel target atau melalui penghambatan sintesis dinding sel. Menurut Luders dkk. (2002) beberapa macam mekanisme bakteriosin membunuh sel bakteri target antara lain dengan merusak dinding sel mikroba target, destabilisasi membrane sitoplasma, mengubah struktur asam nukleat, menghambat kerja enzim, penghambatan sintesis asam nukleat.

4.4 Sensitivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik

Salah satu metode untuk mengkonfirmasi bahwa aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji adalah pengaruh dari aktivitas bakteriosin yang terkandung pada supernatan bebas sel maka dilakukan pengujian sensitivitas bakteriosin dengan menggunakan enzim proteolitik. Hal ini dikarenakan bakteriosin merupakan protein yang mampu terdegradasi oleh keberadaan enzim proteolitik (Tatsadjieu, 2009). Supernatan bebas sel yang dihasilkan oleh semua isolat BAL terpilih yaitu SKE5, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, dan SKE11 dipengaruhi oleh pemberian enzim Proteinase K pada konsentrasi akhir 1 mg/ml.



Gambar 8. Sensitivitas bakteriosin (CFS) isolat BAL terhadap enzim Proteinase K dalam menghambat *Staphylococcus* (a) *aureus* dan *Salmonella thypimurium* (b)

Enzim Proteinase K merupakan salah satu jenis enzim proteolitik. Pemberian Proteinase K pada CFS yang telah dinetralkan mengakibatkan tidak terbentuknya zona bening disekitar sumuran (Gambar 10). Hal ini dapat dikarenakan bahwa CFS yang dihasilkan oleh isolat BAL mengandung bakteriosin dan mampu terdegradasi oleh enzim proteolitik. Bakteriosin merupakan senyawa peptida (protein) yang mampu terdegradasi oleh enzim proteolitik (tripsin, *alfa-chymotrypsin*, pepsin, papain, proteolitik, Proteinase K) (Thomas dkk., 2001). Berdasarkan pengujian ini, maka dapat diduga bahwa semua isolat terpilih yaitu SKE5, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, dan SKE11 mampu menghasilkan bakteriosin dan memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri uji dan dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan pangan untuk memperpanjang masa simpan suatu produk pangan.

4.5 Identifikasi Isolat BAL

Berdasarkan API 50 CHL *test kit*, isolat telah teridentifikasi sebagai *Lactobacillus curvatus* spp *curvatus* dengan % ID sebesar 99,8 %. Nilai % ID menunjukkan presentase kemungkinan isolat tersebut sama jika dibandingkan dengan isolat terduga. *Lactobacillus curvatus* adalah salah satu spesies bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan bakteriosin yang disebut curvaticin. Curvaticin merupakan jenis bakteriosin yang memiliki karakter yaitu stabil terhadap panas, dan memiliki spektrum antimikroba terhadap beberapa strain bakteri antara lain *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Enterococcus faecalis* (Bouttefroy,

2000). Berdasarkan penelitian ini, dapat diketahui bahwa curvaticin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus curvatus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*.

Isolat SKE5 diprediksi sebagai Genus *Pediococcus* berdasarkan karakteristik morfologinya. Hasil pengujian aktivitas bakteriosin menunjukkan bahwa isolat SKE5 memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Menurut Rodríguez dkk. (2005) bakteri *Pediococcus* spp. mampu memproduksi bakteriosin yang disebut pediocin. Pediocin merupakan bakteriosin kelas II a. Bakteriosin jenis ini mampu menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* pada proses pembuatan keju. Hasil yang sama diperoleh pada penelitian ini bahwa pada pengujian aktivitas bakteriosin, isolat SKE5 mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona bening sebesar 12.44 ± 4.153 mm (luas zona bening = $121,48$ mm²).



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Isolat BAL dari susu kambing PE didapatkan sebanyak 12 isolat, namun hanya 6 isolat yaitu SKE5, SKE7, SKE8, SKE9, SKE10, SKE11 yang diduga mampu memproduksi bakteriosin. Isolat-isolat tersebut memproduksi bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium*, tetapi isolat SKE5 dan SKE11 tidak mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella thypimurium*. Kandidat isolat terbaik berdasarkan indeks penghambatan bakteriosinnya adalah SKE9 dan SKE8. Isolat SKE9 telah teridentifikasi sebagai *Lactobacillus curvatus*. Bakteri tersebut mampu menghasilkan bakteriosin yang menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypimurium* dengan indeks penghambatan cukup tinggi masing-masing sebesar 2,94 dan 2,90 mm.

5.2 Saran

Saran yang direkomendasikan dari penelitian ini untuk penelitian lebih lanjut adalah perlu dilakukan perhitungan densitas sel isolat BAL agar hasil yang diperoleh lebih representatif dan agar diperoleh informasi untuk menentukan dosis pemberian bakteriosin sebagai bahan tambahan pangan. Selain itu, perlu dilakukan karakterisasi bakteriosin agar dapat diketahui jenis bakteriosin yang diperoleh pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abee, T., Krockel L., dan Hill C. 1995. *Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning*. International Journal of Food Microbiology 28:169–185.
- Axelsson, L. 2004. *Lactic acid Bacteria: Classification and physiology*. In: Salminen, S., Wright, A.V., Ouwehand, A., editors. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Bastos, M.C.F., Coutinho B.G., dan Coelho M.L.V. 2010. *Lysostaphin: A Staphylococcal bacteriolysin with potential clinical applications*. Pharmaceuticals. 3:1139-1161.
- Beasley, S.S., dan Saris P.E.J. 2004. *Nisin-producing Lactococcus lactis strains isolated from human milk*. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 70: 5051-5053.
- Bharathi, P., Bhowmick P.P., Shekar M., dan Karunasagar I. 2011. *Biofilm formation by pure and mixed culture of Lactobacillus isolates on polystyrene surface in varying nutrient conditions*. Journal of Biotechnology. 1(1):93-98.
- Bintang, M. 1995. *Studi Antimikroba dari Streptococcus lactis [Disertasi]*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Bouttefroy, A., Linder M. dan MillieÁre J.B. 2000. *Predictive models of the combined effects of curvaticin 13, NaCl and pH on the behaviour of Listeria monocytogenes ATCC 15313 in broth* . Journal of Applied Microbiology. 88:919-929.
- Breed, R.S., Murray E.G.D., dan Nathan R.S. 1957. *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*. Seventh Edition. The Williams & Wilkins Company.
- Buchanan, R.E. 2000. *General Systematic Bacteriology*, Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md.
- Budde, B.B., Hornbæk T., Jacobsen T., Barkholt V., dan Koch A.G. 2003. *Leuconostoc carnosum 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats: culture*

isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. International Journal of Food Microbiology. 83:171–184.

Cappuccino, J.G. dan Sherman. 1996. *Microbiology: A Laboratory Manual 4th ed.* Benjamin/Cummings Publishing Company. USA.

Charlier, C., Cretenet M., Even S., Le Loir Y. 2009. *Interactions between Staphylococcus aureus and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives.* International Journal of Food Microbiology 131:30–39

Chen, H. dan Hoover D.G. 2003. *Bacteriocins and their food applications.* Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2:83-97.

Chen, Y., Hui-chung W., Fujitoshi Y . 2010. *Isolation and Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Ripe Mulberries in Taiwan.* Brazilian Journal of Microbiology. 41:916-921.

Cintas, L.M., Casaus M.P., Herranz C., Nes I.F., dan Hernández P. E., 2001. *Review: Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria.* Food Science and Technology International. 7(4):281-305.

Cleaveland, J., Montville T.J., Nes I.F., dan Chikindas M.L. 2001. *Bacteriocins : safe, natural antimicrobial for food preservation.* International Journal of Food Microbiology. 71:1-20.

Cotter, P.D., Hill C., Ross R.P. 2005. *Bacteriocins: developing innate immunity for food.* Nature Reviews Microbiology. 3:777-788.

Drider, D., Fimland G., Hechard Y., McMullen, dan Prevost H. 2006. *The Continuing Story of Class IIa Bacteriocins.* Microbiology and molecular Biology Reviews.

El-Shouny, W.A. 2006. *Characterization of bacteriocin from Pseudomonas aeruginosa.* El -Minia Science bull. 17(2): 279-304.

- El Ouardy, K., Mustapha O., Abdeltif H., Mohamed I. dan Jamal A. 2013. *Optimization of bacteriocin-like production by Enterococcus durans E204 isolated from camel milk of Morocco*. Current Research in Microbiology and Biotechnology. 1(4):155-159.
- Engelke, G., Gutochowski-Eckel, Hammelman M., dan Entian K. D. 1992. *Biosynthesis of the lantibiotic nisin: genomic organization and membrane localization of the NisB protein*. Applied and Environmental Microbiology. 58:3730-3743.
- Ennahar, S., Aoude-Werner D., Sorokine O., VanDorsselaer A., Bringel F.B., Hubert J.C., dan Hasselmann C. 1996. *Production of pediocin AcH by Lactobacillus plantarum WHE92 isolated from cheese*. Applied and Environmental Microbiology. 62:4381-4387.
- Garcia, G.M.J., Elferink M.G.L., Driessen A.J.M., dan Konings W.N. 1993. *In vitropore-forming activity of the lantibiotic nisin. Role of protonmotive force and lipid composition*. European Journal Biochemistry. 212:417-422.
- Gillor, O., Etzion A., dan Riley M.A. 2008. *The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics*. Applied Microbiology and Biotechnology 81:591-606.
- Gonzales, B., Arca P., Mayo B., dan Saurez, J. 1996. *Detection, purification, and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a Lactobacillus plantarumm strain of diary origin*. Applied and Environmental Microbiology. 6:2158-2163.
- Haenlein, G. 2004. *Goat Milk In Human Nutrition*. Small Ruminant Res 51(2):155-163.
- Husebye, E., Hellström P. M., Sundler,F., Chen J., dan Midtvedt T. 2001. *Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats*. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 280:G368-G380.

- John, C., Bruhn F.S.T, Davis UC, Davis. 2009. *Dairy Goat Composition*. CA 95616-8598
- Lei, V. dan Jacobsen M. 2004. *Microbiological characterization and probiotic potential of koko and koko sour water african spontaneously fermented millet porridge and drink*. Journal of Applied Microbiology. 96:384-397.
- Leroy, F. dan De Vuyst L. 2004 *Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry*. Trends Food Science Technology. 15:67-78.
- Leroy, F. dan De Vuyst L. 1999. *The presence of salt and a curing agent reduces bacteriocin production by Lactobacillus sakei CTC 494, a potential starter culture for sausage fermentation*. Applied and Environmental Microbiology. 65:5350-5356.
- Luders T., Birkemo G.A., Fimland G., Nissen-Meyer J., Nes I.F. 2002. *Strong synergy between a eukaryotic antimicrobial peptide and bacteriocins from lactic acid bacteria*. Applied and Environmental Microbiology 69: 1797-1799
- Michaela S, Reinhard W., Gerhard K., dan Christine M.E. 2009. *Cultivation of anaerobic and facultatively anaerobic bacteria from spacecraft-associated clean rooms*. Applied and Environmental Microbiology 11(75):3484-3491.
- Moeljanto, R.D., dan Bernardinus T.W.W. 2002. *Khasiat dan Manfaat Susu Kambing Susu Terbaik dari Hewan ruminasia*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Murtidjo, B.A. 1993. *Pedoman Meramu Pakan Unggas*. Kanisius. Yogyakarta.
- Musikasang H., Sohsomboon N., Tani A., dan Maneerat S. 2012. *Bacteriocin-producing lactic acid bacteria as a probiotic potential from Thai indigenous chickens*. Czech Journal of Animal Science. 57(3):137-149.
- Navaro, L., Zaraxaga M., Saenz J., Ruiz-Larrea F. dan Torres C. 2000. *Bacteriocin Production by Lactic Acid Bacteria Isolated From Rioja Red Wines*. Journal of Applied Microbiology. 88:44-51.

- Nes I.F., dan Johnsborg O. 2004. *Exploration of antimicrobial potential in LAB by genomics*. Current Opinion in Biotechnology. 15:100–104
- Nes, I.F., Diep D.B., Håvarstein L.S., Brurberg M.B., Eijsink V., dan Holo H. 1996. *Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria*. Antonie van Leeuwenhoek. 70: 113-128.
- Nettles C.G., dan Barefoot S.F. 1993. *Biochemical and Genetic Characteristics of Bacteriocins of Food-associated Lactic Acid Bacteria*. Journal of Food Protection. (56): 338-356.
- Nilsen, T., Nes I. F., dan Holo H. 1998. *An exported inducer peptide regulates bacteriocin production in Enterococcus faecium CTC492*. Journal of Bacteriology 180:1848-1854.
- Nilsson, L., Michael K.N., Yin Ng dan Lone G. 2002. *Role of Acetate in Production of an Autoinducible Class IIa Bacteriocin in Carnobacterium piscicola A9b*. Applied and Environmental Microbiology. 68(5): 2251-2260.
- Oakey, L., Carroll K., McClean S., Keller F., Costello M., dan Behan J. 2000. *Antimicrobial peptide-alternative to antibiotics ?*. Institute of Technology Tallaght. USA.
- Ogunbanwo, S.T., Sanniand A.I., dan Onilude A.A. 2003. *Characterization of bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum F1 and Lactobacillus brevis OG1*. African Journal of Biotechnology. 2(8): 219-227.
- Onda, T., Yanagida F., Uchimura T., Tsuji M., Ogino S., Shinohara T., dan Yokotsuka K. 2002. *Widespread Distribution of the Bacteriocin-Producing Lactic Acid Cocci in Miso-Paste Products*. Journal of Applied Microbiology. 92(4): 695-705.
- Oyetayo V.O., Adetuyi F.C., dan Akinyosoye F.A. 2003. *Safety and protective effect of Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei used as probiotic agent in vivo*. African Journal of Biotechnology. 2:448-452.
- Panthavee, W., Pramuan S., dan Nasakom W. 2007. *Identification and evaluation of lactic acid bacteria for plaasom (Fermented*

- Fish*) starter. International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. Thailand.
- Paul, R.R., Morgan S., dan Hill S. 2002 *Preservation and Fermentation : past , present and future*. International Journal of Food Microbiology. 79: 3-16.
- Raetz, C.R.H. dan Whitfield C. 2002. *Lipopolysaccharide endotoxins*. Annual Review of Biochemistry 71: 635–700.
- Rattanachaikunsopon, P. dan Phumkhachorn P. 2010. *Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production*. Annals of Biological Research. 4: 218-228.
- Rekhif, N., Atrih A., Michel M., dan Lefebvre G. 1995. *Activity of plantaricin SA6, a bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum SA6 isolated from fermented sausages*. Journal of Applied Bacteriology (78): 349-358.
- Rodriguez, E., Gonzalez B., Gaya P., Nunez M., dan Medina M. 2000. *Diversity of bacteriocin produced by lactic acid bacteria isolated from raw milk*. International dairy Journal 10: 7-15.
- Rodríguez, E. J., Calzada J.L., Arqués J.M., Rodríguez , Nuñez M., dan Medina M. 2005. *Antimicrobial activity of pediocin-producing Lactococcus lactis on Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus and Escherichia coli O157:H7 in cheese*. International Dairy Journal. Science Direct. 15: 51-57.
- Rojo-Bezares, B., Saenz Y., Navarro L., Zarazaga M., Ruiz-Larrea F., dan Torres C. 2007. *Coculture-inducible bacteriocin activity of Lactobacillus plantarum strain J232 isolated from grape must*. Food Microbiology. 24: 482-491.
- Ross, R.P., Morgan S., dan Hill C. 2002. *Preservation and fermentation: past, present and future*. International Journal of Food Microbiology. 79:3-16.
- Salvado, A. 2006. *Bacteriocins and Lactic Acid Bacteria - a minireview*. African Journal of Biotechnology. 5(9):678-683.
- Sarwono, B. 2007. *Beternak Kambing Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Shodiq, A dan Zainal, A. 2008. *Meningkatkan Produksi Susu Kambing Peranakan Etawa*. Jakarta. AgroMedia Pustaka.

Sujaya I. N., Amachi S., Yokota A., Asona A., dan Tomita F. 2000. *Isolation and characterization of lactic acid bacteria in ragi tape*. World Journal of Microbiology Biotechnology. 17: 349-357.

Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. YAPMMI.

Tatsadjieu, N.L., Njintang N.Y., Kembang S. T., Daoudou B., dan Mbofung C.M.F. 2009. *Characterization of lactic acid bacteria producing bacteriocins against chicken Salmonella enterica and Escherichia coli*. African Journal of Microbiology Research. 3(5): 220-227.

Thomas, L.V., Clarkson M.R., dan Delves-Broughton J. 2001. *Nisin, In Natural Food Antimicrobial Systems*, ed. A. S. Naidu. CRC Press, Boca Raton, FL.

Todorov, S.D. 2008. *Bacteriocin production by lactobacillus plantarum AMA –K isolated from Amasi, a Zimbabwean fermented milk product and study of the adsorption of bacteriocin AMA-K to Listeria sp.* Brazilian Journal of Microbiology. 39:178-187.

Todorov, S.D. dan Dicks L.M.T. 2005. *Effect of growth medium on bacteriocin production by Lactobacillus plantarum ST194BZ, a strain isolated from Boza*. Food Technology Biotechnology 43(2): 165-173.

Uguen, P., Hamelin J., Le Pennec J.P., dan Blanco C. 1999. *Influence of osmolarity and the presence of an osmoprotectant on Lactococcus lactis growth and bacteriocin production*. Applied and Environmental Microbiology. 65:291-293.

United States Department of Agriculture. 1976. *Composition of Food: Dairy and Egg Product*. Agriculture Handbook No: 1 – 8. Agriculture Research Service. Washington.

Valenzuela, A.S., Ben Omar N., Abriouel H., López R.L., Veljovic K., Cañamero M.M., Topisirovic M.K.L., dan Galvez A. 2009.

Virulence factors, antibiotic resistance, and bacteriocins in enterococci from artisan foods of animal origin. Food Control. (20): 381-385.

Vermeiren, L., Devlieghere F., Vanekinderen I., dan Debevere J. 2004. *The interaction of non bacteriogenic Lactobacillus sakei 10A and lactacin S producing Lactobacillus sakei 148 toward Listeria monocytogenes on a model cooked ham.* Food Microbiology. (23): 511-518.

Yang, E., Lihua F., Yueming J., Craig D. dan Sherry F. 2012. *Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts.* AMB Express.

Yousef, A.E. dan Clastrom C. 2003. *Food Microbiology (A Laboratory Manual).* Wiley-Interscience, John Wiley and Sons, Inc. Ohiosate University. USA.

Zurriyati, Y., Noor R.R., dan Maheswari R.R.A. 2011. *Analisis Molekuler Genotipe Kappa Kasein (κ -kasein) dan Komposisi Susu Kambing Peranakan Etawa, Saanen dan Persilangannya.* Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner. 16(1): 61-70.

LAMPIRAN

1. Pembuatan *Tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride* 20 mM pH 7

Berat molekul = 121,14 g/mol

Konsentrasi 20 mM = 0,020 mol/L (\times 121,14 gram/mol)
= 2,4228 gram Tris/ L



LT 1. Karakteristik morfologi koloni bakteri asam laktat asal susu Kambing PE

Isolat Karakter	SKE1	SKE2	SKE3	SKE4	SKE5	SKE6	SKE7	SKE8	SKE9	SKE10	SKE11	SKE12
Bentuk : Bulat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Konfigurasi: Menyeluruh	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+
Erose	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Beralun	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Elevasi: Datar	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
Cembung	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
Konsistensi: Mentega	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Tipis spt membran	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Ciri optik: Berkilat	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
Pudar	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
Pigmentasi: Putih	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Krem	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

LT 2. Uji normalitas diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap bakteri uji

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter
N		24
Normal Parameters ^a	Mean	5.1482
	Std. Deviation	2.54926
Most Extreme Differences	Absolute	.170
	Positive	.123
	Negative	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.834
Asymp. Sig. (2-tailed)		.490

a. Test distribution is Normal.

LT 3. Uji homogenitas diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap *Staphylococcus aureus*

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.259	6	14	.098

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	30.955	6	5.159	2.613	.065
Within Groups	27.645	14	1.975		
Total	58.600	20			

LT 4. Hasil Uji Tukey diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap *Staphylococcus aureus*

Diameter			
		N	Subset for alpha = 0.05
Jenis_BAL			1
Tukey HSD ^a	SKE10	3	4.6589
	SKE5	3	4.7044
	SKE7	3	5.1533
	SKE8	3	5.8178
	SKE1	3	5.9944
	SKE11	3	6.4022
	SKE9	3	8.4544
	Sig.		.060

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

LT 5. Rata – rata diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap *Staphylococcus aureus*

Report

Diameter			
Jenis_BAL	Mean	N	Std. Deviation
SKE1	5.9944	3	1.40313
SKE5	4.7044	3	.57645
SKE7	5.1533	3	1.36503
SKE8	5.8178	3	2.34330
SKE9	8.4544	3	2.00196
SKE10	4.6589	3	.16520
SKE11	6.4022	3	.36303
Total	5.1482	24	2.54926

LT 6. Uji homogenitas diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap *Salmonella thypimurium*

Test of Homogeneity of Variances

Diameter			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.221	7	16	.025

LT 7. Uji *Brown-Forsythe* diameter zona bening penghambatan antimikroba BAL terhadap *Salmonella thypimurium*

Robust Tests of Equality of Means

Diameter				
	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Brown-Forsythe	.991	7	3.905	.538

a. Asymptotically F distributed.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Games-Howell	SKE1	SKE5	-2.70222	.75213	.159	-6.6408	1.2364
		SKE7	-2.31111	.92456	.389	-7.2952	2.6730
		SKE8	-4.06444	1.04801	.150	-10.0783	1.9494
		SKE9	-2.67778	.58636	.155	-7.2374	1.8818
		SKE10	-2.79111	.63678	.125	-6.7406	1.1584
		SKE11	-3.90000	3.05952	.859	-29.9891	22.1891
		SKE12	-1.83333	1.51198	.884	-12.3744	8.7078
	SKE5	SKE1	2.70222	.75213	.159	-1.2364	6.6408
		SKE7	.39111	.88696	.999	-4.5754	5.3576
		SKE8	-1.36222	1.01500	.843	-7.4832	4.7587
		SKE9	.02444	.52508	1.000	-3.9105	3.9594
		SKE10	-.08889	.58084	1.000	-3.5103	3.3326
		SKE11	-1.19778	3.04837	.999	-27.6017	25.2062

	SKE12	.86889	1.48929	.996	-9.9985	11.7363
SKE7	SKE1	2.31111	.92456	.389	-2.6730	7.2952
	SKE5	-.39111	.88696	.999	-5.3576	4.5754
	SKE8	-1.75333	1.14862	.771	-7.8338	4.3271
	SKE9	-.36667	.75154	.998	-6.5876	5.8542
	SKE10	-.48000	.79151	.995	-5.9730	5.0130
	SKE11	-1.58889	3.09542	.998	-26.7588	23.5811
	SKE12	.47778	1.58337	1.000	-9.3921	10.3477
SKE8	SKE1	4.06444	1.04801	.150	-1.9494	10.0783
	SKE5	1.36222	1.01500	.843	-4.7587	7.4832
	SKE7	1.75333	1.14862	.771	-4.3271	7.8338
	SKE9	1.38667	.89907	.765	-6.2894	9.0628
	SKE10	1.27333	.93274	.830	-5.6622	8.2089
	SKE11	.16444	3.13451	1.000	-24.1497	24.4786
	SKE12	2.23111	1.65849	.843	-7.3264	11.7886
SKE9	SKE1	2.67778	.58636	.155	-1.8818	7.2374
	SKE5	-.02444	.52508	1.000	-3.9594	3.9105
	SKE7	.36667	.75154	.998	-5.8542	6.5876
	SKE8	-1.38667	.89907	.765	-9.0628	6.2894
	SKE10	-.11333	.33983	1.000	-2.1834	1.9568
	SKE11	-1.22222	3.01175	.999	-28.7717	26.3272
	SKE12	.84444	1.41283	.994	-11.7668	13.4557
SKE10	SKE1	2.79111	.63678	.125	-1.1584	6.7406
	SKE5	.08889	.58084	1.000	-3.3326	3.5103
	SKE7	.48000	.79151	.995	-5.0130	5.9730

	SKE8	-1.27333	.93274	.830	-8.2089	5.6622
	SKE9	.11333	.33983	1.000	-1.9568	2.1834
	SKE11	-1.10889	3.02197	1.000	-28.3203	26.1026
	SKE12	.95778	1.43449	.990	-11.0331	12.9487
SKE11	SKE1	3.90000	3.05952	.859	-22.1891	29.9891
	SKE5	1.19778	3.04837	.999	-25.2062	27.6017
	SKE7	1.58889	3.09542	.998	-23.5811	26.7588
	SKE8	-.16444	3.13451	1.000	-24.4786	24.1497
	SKE9	1.22222	3.01175	.999	-26.3272	28.7717
	SKE10	1.10889	3.02197	1.000	-26.1026	28.3203
	SKE12	2.06667	3.31857	.994	-19.6634	23.7967
SKE12	SKE1	1.83333	1.51198	.884	-8.7078	12.3744
	SKE5	-.86889	1.48929	.996	-11.7363	9.9985
	SKE7	-.47778	1.58337	1.000	-10.3477	9.3921
	SKE8	-2.23111	1.65849	.843	-11.7886	7.3264
	SKE9	-.84444	1.41283	.994	-13.4557	11.7668
	SKE10	-.95778	1.43449	.990	-12.9487	11.0331
	SKE11	-2.06667	3.31857	.994	-23.7967	19.6634

LT 8. Rata – rata diameter zona bening penghambatan antimikroba oleh kultur BAL terhadap *Salmonella thypimurium*

Report

Diameter			
Jenis_BAL	Mean	N	Std. Deviation
SKE1	4.3133	3	.97504
SKE5	7.0156	3	.86395
SKE7	6.6244	3	1.27032
SKE8	8.3778	3	1.53110
SKE9	6.9911	3	.28412
SKE10	7.1044	3	.51550
SKE11	8.2133	3	5.20876
SKE12	6.1467	3	2.43054
Total	6.0874	27	3.01918

LT 9. Hasil uji interaksi antara jenis isolat BAL terhadap jenis patogen dengan *Univariate Analysis of Variance*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Diameter

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	271.009 ^a	16	16.938	5.261	.000
Intercept	1501.608	1	1501.608	466.369	.000
Jenis_Patogen	3.908	1	3.908	1.214	.278
Jenis_BAL	230.808	8	28.851	8.961	.000
Jenis_Patogen * Jenis_BAL	35.345	7	5.049	1.568	.178
Error	109.473	34	3.220		
Total	1909.512	51			
Corrected Total	380.482	50			

a. R Squared = .712 (Adjusted R Squared = .577)

LT 10. Uji normalitas diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap bakteri uji

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter
N		21
Normal Parameters ^a	Mean	9.6910
	Std. Deviation	5.61756
Most Extreme Differences	Absolute	.159
	Positive	.107
	Negative	-.159
Kolmogorov-Smirnov Z		.727
Asymp. Sig. (2-tailed)		.667
a. Test distribution is Normal.		

LT 11. Uji homogenitas diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus*

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.828	5	12	.554

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	116.209	5	23.242	1.498	.262
Within Groups	186.230	12	15.519		

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Total	302.439	17	

LT 12. Hasil uji Tukey data diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Jenis_BAL SKE5	Jenis_BAL SKE7	1.17889	3.21653	.999	-9.6252	11.9830
		Jenis_BAL SKE8	5.39778	3.21653	.569	-5.4063	16.2019
		Jenis_BAL SKE9	.78444	3.21653	1.000	-10.0196	11.5885
		Jenis_BAL SKE10	3.98111	3.21653	.811	-6.8230	14.7852
		Jenis_BAL SKE11	6.84778	3.21653	.335	-3.9563	17.6519
	Jenis_BAL SKE7	Jenis_BAL SKE5	-1.17889	3.21653	.999	-11.9830	9.6252
		Jenis_BAL SKE8	4.21889	3.21653	.774	-6.5852	15.0230
		Jenis_BAL SKE9	-.39444	3.21653	1.000	-11.1985	10.4096
		Jenis_BAL SKE10	2.80222	3.21653	.947	-8.0019	13.6063
		Jenis_BAL SKE11	5.66889	3.21653	.521	-5.1352	16.4730
	Jenis_BAL SKE8	Jenis_BAL SKE5	-5.39778	3.21653	.569	-16.2019	5.4063
Jenis_BAL SKE7		-4.21889	3.21653	.774	-15.0230	6.5852	

	SKE9	-4.61333	3.21653	.708	-15.4174	6.1907
	SKE10	-1.41667	3.21653	.997	-12.2207	9.3874
	SKE11	1.45000	3.21653	.997	-9.3541	12.2541
SKE9	SKE5	-.78444	3.21653	1.000	-11.5885	10.0196
	SKE7	.39444	3.21653	1.000	-10.4096	11.1985
	SKE8	4.61333	3.21653	.708	-6.1907	15.4174
	SKE10	3.19667	3.21653	.911	-7.6074	14.0007
	SKE11	6.06333	3.21653	.454	-4.7407	16.8674
SKE10	SKE5	-3.98111	3.21653	.811	-14.7852	6.8230
	SKE7	-2.80222	3.21653	.947	-13.6063	8.0019
	SKE8	1.41667	3.21653	.997	-9.3874	12.2207
	SKE9	-3.19667	3.21653	.911	-14.0007	7.6074
	SKE11	2.86667	3.21653	.942	-7.9374	13.6707
SKE11	SKE5	-6.84778	3.21653	.335	-17.6519	3.9563
	SKE7	-5.66889	3.21653	.521	-16.4730	5.1352
	SKE8	-1.45000	3.21653	.997	-12.2541	9.3541
	SKE9	-6.06333	3.21653	.454	-16.8674	4.7407
	SKE10	-2.86667	3.21653	.942	-13.6707	7.9374

Diameter

		N	Subset for alpha = 0.05
Jenis_BAL			1
Tukey HSD ^a	SKE11	3	7.4900
	SKE8	3	8.9400
	SKE10	3	10.3567

SKE7	3	13.1589
SKE9	3	13.5533
SKE5	3	14.3378
Sig.		.335

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

LT 13. Rata – rata diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus*

Report			
Diameter			
Jenis_BAL	Mean	N	Std. Deviation
SKE5	14.3378	3	2.18335
SKE7	13.1589	3	2.95587
SKE8	8.9400	3	5.40732
SKE9	13.5533	3	4.09704
SKE10	10.3567	3	4.85407
SKE11	7.4900	3	3.16602
Total	9.6910	21	5.61756

LT 14. Uji homogenitas diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap *Salmonella thypimurium*

Test of Homogeneity of Variances			
DiameterZona			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.864	3	8	.214

ANOVA

Diameter Zona	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	67.903	3	22.634	6.111	.018
Within Groups	29.630	8	3.704		
Total	97.533	11			

LT 15. Hasil uji tukey diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap *Salmonella thymipurium*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DiameterZona

	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	SKE7	SKE8	-3.72333	1.57135	.161	-8.7553	1.3087
		SKE9	-1.55667	1.57135	.759	-6.5887	3.4753
		SKE10	2.80667	1.57135	.345	-2.2253	7.8387
	SKE8	SKE7	3.72333	1.57135	.161	-1.3087	8.7553
		SKE9	2.16667	1.57135	.544	-2.8653	7.1987
		SKE10	6.53000	1.57135	.014	1.4980	11.5620
	SKE9	SKE7	1.55667	1.57135	.759	-3.4753	6.5887

	SKE8	-2.16667	1.57135	.544	-7.1987	2.8653
	SKE10	4.36333	1.57135	.091	-.6687	9.3953
SKE10	SKE7	-2.80667	1.57135	.345	-7.8387	2.2253
	SKE8	-6.53000	1.57135	.014	-11.5620	-1.4980
	SKE9	-4.36333	1.57135	.091	-9.3953	.6687

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LT 16. Rata – rata diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap *Salmonella thypimurium*

Report			
DiameterZona			
Jenis_BAL	Mean	N	Std. Deviation
SKE7	11.7122	3	1.99984
SKE8	15.4356	3	1.84904
SKE9	13.2689	3	.62846
SKE10	8.9056	3	2.64605
Total	9.8644	15	5.74727

LT 17. Hasil notasi diameter zona bening penghambatan bakteriosin (CFS) terhadap *Salmonella thypimurium* berdasarkan uji Tukey

DiameterZona				
	Jenis_BAL	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD ^a	SKE10	3	8.9056	
	SKE7	3	11.7122	11.7122
	SKE9	3	13.2689	13.2689
	SKE8	3		15.4356
	Sig.		.091	.161

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

LT 18. Hasil uji interaksi antara jenis isolat BAL terhadap jenis patogen dengan *Univariate Analysis of Variance*

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Diameter					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	191.669 ^a	9	21.297	1.973	.099
Intercept	3867.771	1	3867.771	358.360	.000
Jenis_BAL	118.522	5	23.704	2.196	.095
Jenis_Patogen	4.117	1	4.117	.381	.544
Jenis_BAL * Jenis_Patogen	65.591	3	21.864	2.026	.143
Error	215.859	20	10.793		
Total	4525.390	30			
Corrected Total	407.528	29			

a. R Squared = .470 (Adjusted R Squared = .232)

LT 19. Hasil Uji Homogenitas Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus*

Test of Homogeneity of Variances

Indeks

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.949	5	12	.058

LT 20. Hasil Uji Tukey Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus*

	(I) Isolat	(J) Isolat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	SKE7	SKE8	.602698	.597221	.906	-1.40332	2.60872
		SKE9	-.056349	.597221	1.000	-2.06237	1.94967
		SKE10	.781587	.597221	.775	-1.22443	2.78760
		SKE5	-.168413	.597221	1.000	-2.17443	1.83760
		SKE11	.809841	.597221	.751	-1.19618	2.81586
	SKE8	SKE7	-.602698	.597221	.906	-2.60872	1.40332
		SKE9	-.659048	.597221	.871	-2.66507	1.34697
		SKE10	.178889	.597221	1.000	-1.82713	2.18491
		SKE5	-.771111	.597221	.784	-2.77713	1.23491
		SKE11	.207143	.597221	.999	-1.79887	2.21316
	SKE9	SKE7	.056349	.597221	1.000	-1.94967	2.06237
		SKE8	.659048	.597221	.871	-1.34697	2.66507
SKE10		.837937	.597221	.725	-1.16808	2.84395	
SKE5		-.112063	.597221	1.000	-2.11808	1.89395	
SKE11		.866190	.597221	.699	-1.13983	2.87221	
SKE10	SKE7	-.781587	.597221	.775	-2.78760	1.22443	
	SKE8	-.178889	.597221	1.000	-2.18491	1.82713	
	SKE9	-.837937	.597221	.725	-2.84395	1.16808	
	SKE5	-.950000	.597221	.619	-2.95602	1.05602	
	SKE11	.028254	.597221	1.000	-1.97776	2.03427	
SKE5	SKE7	.168413	.597221	1.000	-1.83760	2.17443	
	SKE8	.771111	.597221	.784	-1.23491	2.77713	
	SKE9	.112063	.597221	1.000	-1.89395	2.11808	
	SKE10	.950000	.597221	.619	-1.05602	2.95602	
	SKE11	.978254	.597221	.592	-1.02776	2.98427	
SKE11	SKE7	-.809841	.597221	.751	-2.81586	1.19618	
	SKE8	-.207143	.597221	.999	-2.21316	1.79887	
	SKE9	-.866190	.597221	.699	-2.87221	1.13983	
	SKE10	-.028254	.597221	1.000	-2.03427	1.97776	
	SKE5	-.978254	.597221	.592	-2.98427	1.02776	

LT 21. Hasil Notasi Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus*

		Indeks	
		N	Subset for alpha = 0.05
Isolat			1
Tukey HSD ^a	SKE11	3	2.07000
	SKE10	3	2.09825
	SKE8	3	2.27714
	SKE7	3	2.87984
	SKE9	3	2.93619
	SKE5	3	3.04825
	Sig.		.592

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.



LT 22. Rata-rata Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap *Staphylococcus aureus*

Report			
Indeks			
Isolat	Mean	N	Std. Deviation
SKE7	2.87984	3	.422267
SKE8	2.27714	3	.772475
SKE9	2.93619	3	.585292
SKE10	2.09825	3	1.338137
SKE5	3.04825	3	.311907
SKE11	2.07000	3	.452289
Total	2.55161	18	.746183

LT 23. Hasil Uji Homogenitas Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap *Salmonella thypimurium*

Test of Homogeneity of Variances			
Indeks			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.864	3	8	.214

LT 24. Hasil Uji Tukey Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap *Salmonella thypimurium*

	(I) Isolat_salmo	(J) Isolat_salmo	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	SKE7	SKE8	-.531905	.224479	.161	-1.25076	.18695
		SKE9	-.222381	.224479	.759	-.94124	.49648
		SKE10	.400952	.224479	.345	-.31791	1.11981
	SKE8	SKE7	.531905	.224479	.161	-.18695	1.25076
		SKE9	.309524	.224479	.544	-.40934	1.02838
		SKE10	.932857	.224479	.014	.21400	1.65172
	SKE9	SKE7	.222381	.224479	.759	-.49648	.94124
		SKE8	-.309524	.224479	.544	-1.02838	.40934
		SKE10	.623333	.224479	.091	-.09553	1.34219
	SKE10	SKE7	-.400952	.224479	.345	-1.11981	.31791
SKE8		-.932857	.224479	.014	-1.65172	-.21400	
SKE9		-.623333	.224479	.091	-1.34219	.09553	

LT 25. Hasil Notasi Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap *Salmonella thypimurium*

Indeks				
	Isolat	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD ^a	SKE10	3	2.27222	
	SKE7	3	2.67317	2.67317
	SKE9	3	2.89556	2.89556
	SKE8	3		3.20508
	Sig.			.091

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

LT 26. Rata-rata Indeks Penghambatan oleh Bakteriosin (CFS) terhadap *Salmonella thypimurium*

Report			
Indeks			
Isolat	Mean	N	Std. Deviation
SKE7	2.67317	3	.285691
SKE8	3.20508	3	.264148
SKE9	2.89556	3	.089780
SKE10	2.27222	3	.378008
Total	2.76151	12	.425384

LG 1. Hasil identifikasi SKE9 dengan menggunakan API 50 CHL

Strip	API 50 CHL V5.1							
Profile	-+-----++++-----+-----+-----+-----							
Note								
Significant taxa	% ID	T	Tests against					
Lactobacillus curvatus ssp curvatus	99.8	0.54	GLY	0%	TRE	25%	TUR	12%
Next taxon	% ID	T	Tests against					
Lactococcus lactis ssp cremoris 1	0.1	0.23	GLY	0%	GEN	99%	TUR	0%

LG 2. Kerangka operasional

