

**POTENSI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
NIRA SIWALAN (12A2) SEBAGAI BAKTERI
PROBIOTIK: TINJAUAN KETAHANAN TERHADAP
ASAM LAMBUNG DAN GARAM EMPEDU**

SKRIPSI



OLEH:

MONICA EVELYN SUGIANTO
(6103000084)

No. I-PUS	2904/05
TGL	20 MARET '05
	FTP Sug P2-1
P. A.	SBCU

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
SURABAYA
2005**

POTENSI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI NIRA SIWALAN
(12A2) SEBAGAI BAKTERI PROBIOTIK: TINJAUAN KETAHANAN
TERHADAP ASAM LAMBUNG DAN GARAM EMPEDU

SKRIPSI

Diajukan kepada

Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Program Studi Teknologi Pertanian

Oleh:

Monica Evelyn Sugianto

6103000084

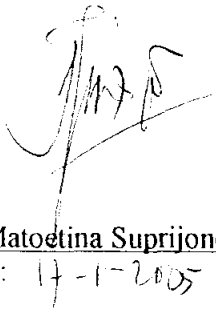
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2005

LEMBAR PERSETUJUAN

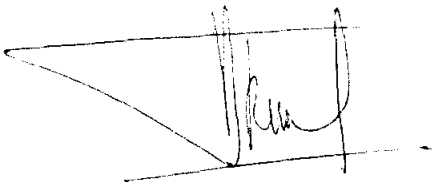
Naskah skripsi dengan judul: *Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (12A2) sebagai Bakteri Probiotik: Tinjauan Ketahanan terhadap Asam Lambung dan Garam Empedu* yang ditulis oleh Monica Evelyn Sugianto (6103000084), telah disetujui dan diterima untuk diajukan kepada Tim Penguji.

Dosen Pembimbing I,



Maria Matoetina Suprijono, SP., M.Si.
Tanggal: 17-1-2005

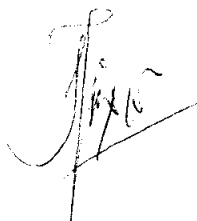
Dosen Pembimbing II,



Ir. Ira Nugerahani
Tanggal: 22-01-2005

LEMBAR PENGESAHAN

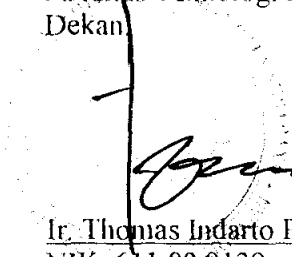
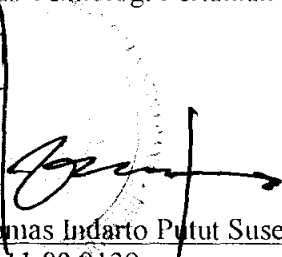
Naskah skripsi yang ditulis oleh: Monica Evelyn Sugianto NRP 6103000084,
telah disetujui pada tanggal 22 Desember 2004, dan dinyatakan LULUS UJIAN
oleh Ketua Tim Penguji.



Maria Matoetina Suprijono, SP., M.Si.

Tanggal: 17-1-2005

Mengetahui,
Fakultas Teknologi Pertanian
Dekan



Ir. Thomas Indarto Putut Suseno, MP.
NIK. 611.88.0139

MONICA EVELYN SUGIANTO (6103000084). **POTENSI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI NIRA SIWALAN (12A2) SEBAGAI BAKTERI PROBIOTIK: TINJAUAN KETAHANAN TERHADAP ASAM LAMBUNG DAN GARAM EMPEDU.**

Di bawah bimbingan: 1. Maria Matoetina Suprijono, SP, M.Si
2. Ir. Ira Nugerahani

Ringkasan

Nira siwalan merupakan salah satu bahan pangan nabati yang dapat dijadikan *carier* probiotik, sebab pada awal fermentasi spontan (sampai 24 jam pada suhu kamar) pertumbuhan mikroorganisme didominasi oleh bakteri asam laktat (selanjutnya disebut BAL). Penelitian Rahardjo (2004) menunjukkan bahwa nira siwalan yang terfermentasi selama 12, 18 dan 24 jam pada suhu kamar mengandung 8 jenis isolat, salah satunya adalah isolat BAL 12A2. Isolat tersebut teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* mempunyai ketahanan terhadap pH rendah, yaitu pH lebih tinggi dari pada isolat lainnya. Secara umum *L. plantarum* telah terbukti sebagai mikroba probiotik, oleh karena itu perlu kajian lebih lanjut terhadap isolat BAL 12A2 mengenai ketahanannya terhadap asam lambung dan garam empedu melalui uji secara *in vitro*.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah percobaan faktorial dengan dasar Rancangan Acak Kelompok (RAK), yang terdiri atas 2 faktor yaitu: 1) **Perlakuan pH 2,5 (P_{2,5})** yang terdiri atas dua taraf, yaitu: tanpa perlakuan pH 2,5 (P₀) dan dengan perlakuan pH 2,5 (P_{2,5}), 2) **Perlakuan oxgall 2% (O₀)** yang terdiri atas dua taraf, yaitu: tanpa perlakuan oxgall 2% (O₀) dan dengan perlakuan oxgall 2% (O_{2%}). Pengulangan dilakukan sebanyak 6 kali dan *Lactobacillus plantarum* FNCC 213 digunakan sebagai positif. ALT dan persentase penurunan pH relatif diuji statistik dengan ANOVA pada $\alpha = 0,5$ dan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*). Data pengamatan makroskopis dan mikroskopis dianalisa secara deskriptif. Seluruh data parameter penelitian dari BAL 12A2 dibandingkan dengan data dari *L. plantarum* FNCC 213 dan dianalisa secara deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa BAL12A2 dan *L. plantarum* FNCC 213 mempunyai ketahanan yang hampir sama terhadap pH 2,5 dan oxgall 2%. Perlakuan pH 2,5 mengakibatkan penurunan ALT BAL 12A2 (2,3056%) dan *L. plantarum* FNCC 213 (2,8380%). Sedangkan perlakuan oxgall 2% mengakibatkan penurunan ALT BAL 12A2 (10,4326%) dan *L. plantarum* FNCC 213 (7,7734%). Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa perlakuan pH 2,5; oxgall 2%; dan pH 2,5 dan oxgall 2% secara berturut-turut tidak mengubah ciri makroskopis kedua BAL. Pengamatan mikroskopis terhadap 2 macam BAL menunjukkan bahwa perlakuan pH 2,5 tidak mengubah ciri mikroskopis kedua BAL, sedangkan perlakuan oxgall 2% hanya mengubah ciri mikroskopis BAL 12A2 saja. Perlakuan pH 2,5 dan oxgall 2% secara berturut-turut mengubah ciri mikroskopis kedua BAL.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas karunia-Nya dan kasih-Nya yang teramat besar sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Tujuan pembuatan skripsi dengan judul: Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (12A2) sebagai Bakteri Probiotik: Tinjauan Ketahanan Terhadap Asam Lambung dan Garam Empedu adalah sebagai salah satu syarat kelulusan untuk menyelesaikan studi S-1 Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian di Universitas Widya Mandala Surabaya.

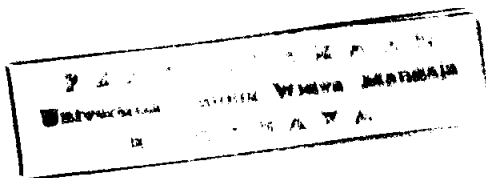
Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Maria Matoetina Suprijono, SP, M.Si dan Ir. Ira Nugerahani selaku dosen pembimbing yang telah memberikan banyak masukan dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Ignatius Srianta, STP., MP selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik
3. Papi, Mami, kakak, adik-adikku, teman-teman dan semua pihak yang mendukung secara moril maupun materil sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak sempurna maka diharapkan adanya kritik dan saran sehingga skripsi ini dapat lebih bermanfaat.

Surabaya, Januari 2005

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
Daftar Isi.....	i
Daftar Tabel.....	v
Daftar Gambar.....	vi
Daftar Lampiran.....	viii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Probiotik.....	5
2.1.1 Definisi Probiotik.....	5
2.1.2 Efek Kesehatan yang Ditimbulkan Probiotik.....	6
2.1.3 Kriteria Produk Probiotik.....	7
2.2 Bakteri Probiotik.....	7
2.2.1 Kriteria Jaminan Kualitas untuk Bakteri Probiotik..	8
2.2.2 Ketahanan Mikroba Probiotik terhadap Asam Lambung.....	9
2.2.3 Ketahanan Mikroba Probiotik terhadap Garam Empedu.....	11
2.3 Bakteri Asam Laktat.....	12
2.3.1 Fungsi BAL.....	14
2.3.2 <i>Lactobacillus plantarum</i>	16
2.4 Mikroflora Nira Siwalan.....	18

BAB III. HIPOTESA.....	21
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	22
4.1 Bahan.....	22
4.1.1 Kultur Bakteri.....	22
4.1.2 Bahan Analisa dan Media.....	22
4.2 Alat.....	23
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
4.4 Metode Penelitian.....	23
4.5 Pelaksanaan Percobaan.....	24
4.5.1 Persiapan BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	24
4.5.2 Pembuatan Larutan Standar 1 McFarland I dan Larutan Standar ½ McFarland I.....	25
4.5.3 Pengujian Ketahanan terhadap Asam Lambung dan Garam Empedu.....	26
4.5.4 Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis.....	29
BAB V. HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN.....	30
5.1 Angka Lempeng Total (ALT).....	31
5.1.1 Pengaruh Perlakuan pH 2,5 terhadap ALT BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	36
5.1.2 Pengaruh Perlakuan <i>Oxgall</i> 2% terhadap ALT BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	41
5.2 Persentase Penurunan pH Relatif.....	44
5.2.1 Pengaruh Perlakuan pH 2,5 terhadap Persentase Penurunan pH Relatif oleh Metabolisme BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	48

5.2.2	Pengaruh Perlakuan <i>Oxgall</i> 2% terhadap Persentase Penurunan pH Relatif oleh Metabolisme BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	50
5.2.3	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% secara Berturut-turut terhadap Persentase Penurunan pH Relatif oleh Metabolisme BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	52
5.3	Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis.....	54
5.3.1	Pengamatan Makroskopis.....	54
5.3.1.1	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 terhadap Sifat Makroskopis BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	55
5.3.1.2	Pengaruh Perlakuan <i>Oxgall</i> 2% terhadap Sifat Makroskopis BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	61
5.3.1.3	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% Secara Berturut-turut terhadap Sifat Makroskopis BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	62
5.3.2	Pengamatan Mikroskopis.....	63
5.3.2.1	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 terhadap Sifat Mikroskopis BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	65
5.3.2.2	Pengaruh Perlakuan <i>Oxgall</i> 2% terhadap Sifat Mikroskopis BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	70
5.3.2.3	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% Secara Berturut-turut terhadap Sifat Makroskopis BAL 12A2 dan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	71

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	73
6.1 Kesimpulan.....	73
6.2 Saran.....	74
DAFTAR PUSTAKA.....	75

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Mikroorganisme yang Biasa Digunakan Pada Produk Probiotik.....	8
Tabel 2.2 Jenis-Jenis Bakteri Asam Laktat.....	13
Tabel 2.3 Klasifikasi dan Penggunaan Bakteri Asam Laktat.....	14
Tabel 2.4 Komposisi Kimia Nira Siwalan.....	18
Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Pengaruh Berbagai Tingkat pH terhadap Pertumbuhan BAL 12A2.....	37
Tabel 5.2 Hasil Pengamatan Pengaruh Konsentrasi <i>Oxgall</i> terhadap Pertumbuhan BAL 12A2.....	42
Tabel 5.3 Ciri Makroskopis BAL 12A2 dan <i>L. plantarum</i> FNCC 213.	55
Tabel 5.4 Ciri Mikroskopis BAL 12A2 dan <i>L. plantarum</i> FNCC 213.	63
Tabel 5.5 Ciri Mikroskopis BAL 12A2 dan <i>L. plantarum</i> FNCC 213 yang Dikenai Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2%.....	64

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 4.1	Skema Pembuatan Larutan Standar 1 McFarland I.....	25
Gambar 4.2	Skema Pembuatan Larutan Standar ½ McFarland I.....	26
Gambar 4.3	Pengujian Ketahanan terhadap Asam Lambung dan Garam Empedu.....	28
Gambar 5.1	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% terhadap ALT BAL 12A2.....	33
Gambar 5.2	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% terhadap ALT <i>L. plantarum</i> FNCC 213.....	35
Gambar 5.3	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 terhadap ALT BAL 12A2..	38
Gambar 5.4	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 terhadap ALT <i>L. plantarum</i> FNCC 213.....	39
Gambar 5.5	Pengaruh Perlakuan <i>Oxgall</i> 2% terhadap ALT BAL 12A2 dan <i>L. plantarum</i> FNCC 213.....	44
Gambar 5.6	Persentase Penurunan pH Relatif oleh BAL 12A2 yang Mendapat Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2%.....	46
Gambar 5.7	Persentase Penurunan pH Relatif oleh <i>L. plantarum</i> FNCC 213 yang Mendapat Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2%.....	47
Gambar 5.8	Persentase Penurunan pH Relatif oleh BAL 12A2 dan <i>L. plantarum</i> FNCC 213 yang Mendapat Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2%.....	48
Gambar 5.9	Ciri Makroskopis Koloni BAL 12A2 (A) dan <i>L. plantarum</i> FNCC 213 (B) Secara Umum Tanpa Perlakuan.....	54
Gambar 5.10	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 selama 30 menit terhadap Ciri Makroskopis Isolat BAL 12A2 (A) dan <i>L. plantarum</i>	58

Gambar 5.11	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% terhadap Ciri Makroskopis BAL 12A2.....	59
Gambar 5.12	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% terhadap Ciri Makroskopis <i>L. plantarum</i> FNCC 213.....	60
Gambar 5.13	Ciri Mikroskopis BAL 12A2 (A) dan <i>L. plantarum</i> FNCC 213 (B) Secara Umum Tanpa Perlakuan.....	63
Gambar 5.14	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 selama 30 menit terhadap Ciri Mikroskopis Isolat BAL 12A2 (A) dan <i>L. plantarum</i> FNCC 213 (B).....	67
Gambar 5.15	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% terhadap Ciri Mikroskopis BAL 12A2.....	68
Gambar 5.16	Pengaruh Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% terhadap Ciri Mikroskopis <i>L. plantarum</i> FNCC 213.....	69

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN 1. Pembuatan MRS Broth Steril dengan pH 2,5.....	79
LAMPIRAN 2. Skema Kerja Penghitungan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Perlakuan pH Kontrol (P ₀) (Tabung a).....	80
LAMPIRAN 3. Skema Kerja Penghitungan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Perlakuan pH 2,5 (P _{2,5}) (Tabung b)....	81
LAMPIRAN 4. Skema Kerja Penghitungan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Perlakuan pH Kontrol dan Tanpa <i>Oxgall</i> 2% (P ₀ O _{0%}) (Tabung C).....	82
LAMPIRAN 5. Skema Kerja Penghitungan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Perlakuan pH Kontrol dan <i>Oxgall</i> 2% (P ₀ O _{2%}) (Tabung d).....	83
LAMPIRAN 6. Skema Kerja Penghitungan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Perlakuan pH 2,5 dan Tanpa <i>Oxgall</i> 2% (P _{2,5} O _{0%}).....	84
LAMPIRAN 7. Skema Kerja Penghitungan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Perlakuan pH 2,5 dan <i>Oxgall</i> 2% (P _{2,5} O _{2%}).....	85
LAMPIRAN 8. Metode Pengecatan Gram.....	86
LAMPIRAN 9. Hasil dan Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) BAL 12A2.....	87
LAMPIRAN 10. Hasil dan Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213.....	88
LAMPIRAN 11. Data dan Hasil Analisa Sidik Ragam untuk Pengujian Ketahanan BAL 12A2 terhadap Asam Lambung dan Garam Empedu.....	89

LAMPIRAN 12.	Data dan Hasil Analisa Sidik Ragam untuk Pengujian Ketahanan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213 terhadap Asam Lambung dan Garam Empedu.....	92
LAMPIRAN 13.	Hasil dan Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) BAL 12A2 yang Mendapat Perlakuan pH 2,5.....	95
LAMPIRAN 14.	Hasil dan Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 213 yang Mendapat Perlakuan pH 2,5.....	96
LAMPIRAN 15.	Data Uji t (<i>student t test</i>) Dua Sampel Bebas Antara BAL 12A2 Yang Dikenai Perlakuan pH 2,5 Selama 30 Menit Dengan Yang Dikenai Perlakuan pH 2,5 Selama 30 Menit dan Dilanjutkan Inkubasi Selama 24 Jam.....	97
LAMPIRAN 16.	Data Uji t (<i>student t test</i>) Dua Sampel Bebas Antara <i>L. plantarum</i> FNCC 213 Yang Dikenai Perlakuan pH 2,5 Selama 30 Menit Dengan Yang Dikenai Perlakuan pH 2,5 Selama 30 Menit dan Dilanjutkan Inkubasi 24 Jam.....	98
LAMPIRAN 17.	Data dan Hasil Analisa Sidik Ragam untuk Persentase Penurunan pH Relatif oleh BAL 12A2 pada Model <i>In Vitro</i> Asam Lambung dan Garam Empedu.....	99
LAMPIRAN 18.	Data dan Hasil Analisa Sidik Ragam untuk Persentase Penurunan pH Relatif oleh <i>L. plantarum</i> FNCC 213 pada Model <i>In Vitro</i> Asam Lambung dan Garam Empedu.....	101