

Potensi *Bioactive Peptide* Yogurt dengan Variasi Kultur Probiotik Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*

SKRIPSI



Mentari Noviyanti Puteri
31180202

Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2022

Potensi *Bioactive Peptide* Yogurt dengan Variasi Kultur Probiotik Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



Mentari Noviyanti Puteri
31180202

Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2022

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mentari Noviyanti Puteri
NIM : 31180202
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

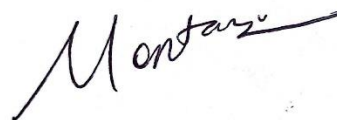
“Potensi Bioactive Peptide Yogurt dengan Variasi Kultur Probiotik Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 07 Juli 2020

Yang menyatakan



(Mentari Noviyanti Puteri)
31180202

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul

Potensi *Bioactive Peptide* Yogurt dengan Variasi Kultur Probiotik Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

Mentari Noviyanti Puteri



311880202

Dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada tanggal 10 Februari 2022

Nama Dosen	Tanda Tangan
1. Dr. Charis Amarantini, M.Si (Ketua Penguji / Penguji I)	: 
2. Tri Yahya Budiarmo, S.Si., M.P (Dosen Pembimbing I / Penguji II)	: 
3. Catarina Aprilia Ariestanti, STP., M.Sc (Dosen Pembimbing II / Penguji III)	: 

Yogyakarta, 6 Juli 2022

Disahkan Oleh :

Dekan,

Ketua Program Studi




Drs. Guruh Prihatmo, MS.
NIK : 874 E 055



Dr. Dhira Satwika, M.Sc
NIK : 904 E 146

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Proposal : Uji Aktivitas Peptida Bioaktif Antioksidan dari Yoghurt Susu Kambing Dengan Perlakuan Kombinasi Kultur Probiotik
Nama : Nigel Verrell
NIM : 31180180
Pembimbing I : Tri Yahya Budiarmo, S.Si., M.P.
Pembimbing II : Catarina Aprilia Ariestanti, S.T.P., M.Sc.
Hari/Tgl Ujian : Kamis, 10 Februari 2022

Disetujui oleh :

Pembimbing I



(Tri Yahya Budiarmo, S.Si., M.P)
NIK : 934E209

Pembimbing II



(Catarina Aprilia Ariestanti, STP., M.Sc)
NIK :194KE422

Ketua Program Studi :



Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si
NIK : 884E075

PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Mentari Noviyanti Puteri

NIM : 31180202

Menyatakan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul :

“Potensi *Bioactive Peptide* Yogurt dengan Variasi Kultur Probiotik Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan si suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 10 Februari 2022



Mentari Noviyanti Puteri

31180202

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih dipanjatkan pada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan kasih setia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Potensi *Bioactive Peptide* Yogurt dengan Variasi Kultur Probiotik Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*” dengan baik. Penelitian dan penulisan skripsi dapat diselesaikan dengan baik berkat dukungan banyak pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih pada :

1. Tuhan Yesus atas tuntunan, berkat dan kasih-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian ini
2. Drs. Guruh Prihatmo, M.S. selaku Dekan Fakultas Bioteknologi
3. Dr. Charis Amarantini, M.Si. selaku Ketua Tim Penguji
4. Tri Yahya Budiarso, S.Si., M.P. selaku Dosen Pembimbing 1 yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan dan mendukung penulis dari awal hingga akhir penelitian.
5. Catarina Aprilia Ariestanti, S.T.P., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan dan mendukung penulis dari awal hingga akhir penelitian.
6. Seluruh dosen atas pengajaran dan bimbingan selama proses kuliah.
7. Hari Surahmanto selaku laboran
8. Bapak Djoson Djaya dan Ibu Fenny selaku orang tua dan keluarga besar yang selalu mendukung dan memberi semangat pada penulis.
9. Nigel Verrell selaku teman seperjuangan dalam skripsi yang telah memberikan dukungan, bantuan dan semangat selama penelitian.
10. Valen, Sarah, Angel, Devi dan Yudi selaku sahabat yang selalu memberikan semangat dan motivasi serta doa bagi penulis, serta teman-teman angkatan 2018 yang telah menemani, memberi bantuan dan mendukung baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki kekurangan sehingga sangat diperlukan kritik dan saran yang membangun. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Yogyakarta, 03 Februari 2022

Penulis



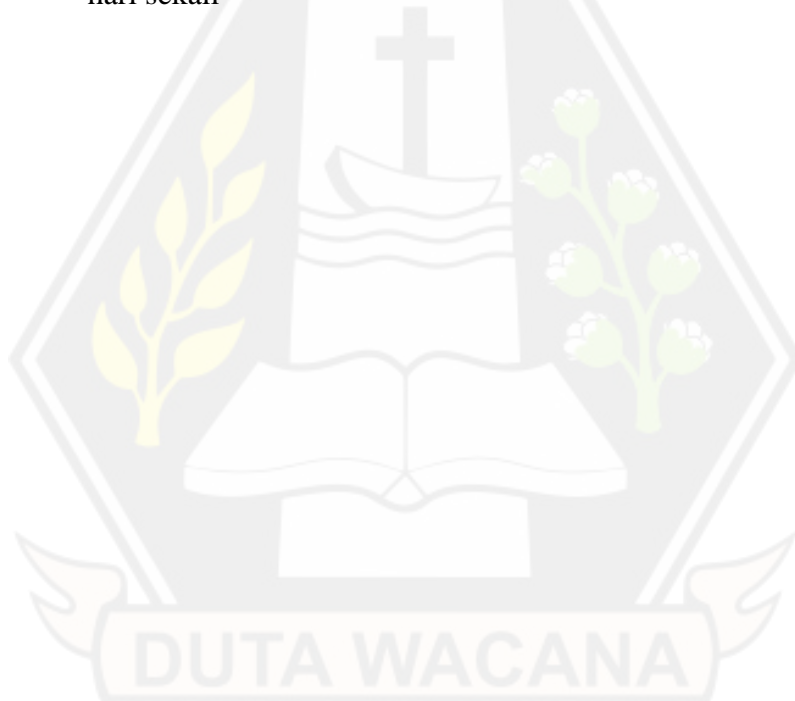
DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN SAMPUL BELAKANG	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN INTEGRITAS	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Hipotesis.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Fermented Dairy Food</i>	4
2.2 Susu Kambing	5
2.3 Probiotik.....	6
2.2.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	6
2.2.2 <i>Bifidobacterium longum</i>	6
2.4 Peptida Bioaktif.....	7
2.5 Bakteri Patogen	9
2.5.1 <i>Salmonella typhimurium</i>	10
2.5.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.5.3 <i>Escherichia coli</i>	11
BAB III METODOLOGI	12
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	12
3.2 Alat.....	12
3.3 Bahan.....	12
3.4 Prosedur Kerja.....	13

3.4.1	Preparasi Alat dan Bahan	13
3.4.2	Rekultur Bakteri Starter	13
3.4.3	Rekultur Bakteri Patogen	13
3.4.4	Konfirmasi Isolat Bakteri	14
3.4.5	Fermentasi	14
3.4.5.1	Preparasi Sampel	14
3.4.5.2	Pembuatan Starter	15
3.4.5.3	Pembuatan Yogurt	15
3.4.6	Ekstraksi <i>Crude</i> Peptida Bioaktif	15
3.4.7	Aktivitas Antibakteri Peptida Bioaktif	16
3.4.7.1	Pembuatan Suspensi Bakteri Patogen	16
3.4.7.2	Uji Antibakteri	16
3.4.8	Uji Kuantitatif Yogurt	17
3.4.8.1	Penentuan Protein Terlarut	17
3.4.8.1.1	Pembuatan Reagen Bradford	17
3.4.8.1.2	Pembuatan Kurva Standar <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)..	17
3.4.8.1.3	Penentuan Kadar Protein Terlarut	18
3.4.8.2	Pengujian Derajat Hidrolisis Protein	18
3.4.8.3	Analisis pH	18
3.4.8.4	Uji Total Asam Laktat	18
3.5	Analisis Data	19
3.6	Alur Penelitian	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		20
4.1	Peremajaan dan Konfirmasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) ..	20
4.2	Peremajaan dan Konfirmasi Isolat Bakteri Patogen	23
4.3	Aktivitas Antibakteri WSPE Terhadap Bakteri Patogen	27
4.4	Pengujian Protein Terlarut dan Derajat Hidrolisis Protein	35
4.5	Analisis pH dan Total Asam Tertirasi	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		44
DAFTAR PUSTAKA		45

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul Tabel	Halaman
3.1	Kombinasi bakteri starter dengan bakteri probiotik (1:1) sebanyak 2% (v/v)	16
3.2	Pembuatan kurva standar BSA	18
4.1	Zona hambat (mm) dari WSPE yogurt susu kambing selama masa penyimpanan 6 hari pada suhu 4°C	30
4.2	Aktivitas antibakteri terendah dan tertinggi dibandingkan dengan kontrol positif Ciprofloxacin dan Streptomycin dari yogurt susu kambing selama masa penyimpanan pada suhu 4°C	31
4.3	Kadar protein terlarut dan derajat hidrolisis pada sampel WSPE (dalam %) selama masa penyimpanan pada suhu dingin	38
4.4	Tingkat keasaman (pH) dan total asam laktat yogurt selama 1 minggu penyimpanan yang diukur setiap 2 hari sekali	41



DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	Judul Gambar	Halaman
2.1	Makanan hasil fermentasi susu oleh bakteri asam laktat	4
2.2	Perbedaan asam amino, peptida dan protein	7
4.1	Morfologi bakteri <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	20
4.2	Morfologi bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	21
4.3	Morfologi bakteri <i>Streptococcus thermophilus</i>	21
4.4	Morfologi bakteri <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210	21
4.5	Morfologi bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	24
4.6	Morfologi bakteri <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	25
4.7	Morfologi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	26
4.8	Kurva standar BSA (mg/ml)	30
4.9	Histogram derajat hidrolisis (DH) yogurt selama masa penyimpanan	33
4.10	Aktivitas antibakteri tertinggi dan terendah* peptida bioaktif dari yogurt susu kambing selama masa penyimpanan pada suhu dingin (zona hambat dalam mm) pada konsentrasi 50 mg/mL terhadap (a) <i>Salmonella typhimurium</i> , (b) <i>Staphylococcus aureus</i> , (c) <i>Escherichia coli</i>	39

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul Lampiran
1.	Starter yogurt setelah masa inkubasi selama 18 jam
2.	Isolat bakteri patogen pada medium BHI agar
3.	Perhitungan Total Asam Laktat
4.	Analisa Statistik Normalitas Distribusi Data pH Yogurt
5.	Analisa Statistik Normalitas Distribusi Data Total Asam Laktat Yogurt
6.	Analisa Statistik Normalitas Distribusi Data Total Protein Terlarut
7.	Analisa Statistik Normalitas Distribusi Data Derajat Hidrolisis
8.	Analisa Statistik Rata-rata pH Antar Perlakuan Bakteri Starter
9.	Analisa Statistik Rata-rata Total Asam Laktat Antar Perlakuan Bakteri Starter
10.	Analisa Statistik Rata-rata Total Protein Terlarut Antar Perlakuan Bakteri Starter
11.	Analisa Statistik Rata-rata Derajat Hidrolisis Antar Perlakuan Bakteri Starter
12.	Analisa ANOVA pH Terhadap Kombinasi Bakteri
13.	Analisa ANOVA Total Asam Laktat Terhadap Kombinasi Bakteri
14.	Analisa Statistik Pengaruh Waktu Terhadap pH dan Total Asam Laktat
15.	Nilai Absorbansi BSA pada panjang gelombang 595 nm
16.	Nilai Absorbansi Protein Terlarut Setelah Pengenceran 25 x
17.	Nilai Absorbansi Protein Terlarut pada TCA
18.	Perhitungan Protein Terlarut pada TCA
19.	Perhitungan Derajat Hidrolisis (%)
20.	Hasil Pengujian Antibakteri Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>
21.	Hasil Pengujian Antibakteri Terhadap Bakteri <i>S. typhimurium</i>
22.	Hasil Pengujian Antibakteri Terhadap Bakteri <i>E. coli</i>
23.	Tabulasi Data Zona Hambat (mm)
24.	Grafik Diameter Zona Hambat

ABSTRAK

Potensi *Bioactive Peptide* Yogurt dengan Variasi Kultur Probiotik Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*

MENTARI NOVIYANTI PUTERI

Yogurt merupakan salah satu pangan fungsional berbahan dasar susu yang telah melalui tahapan fermentasi oleh Bakteri Asam Laktat (BAL). Hasil fermentasi mengandung peptida bioaktif, yaitu beberapa asam amino yang digabungkan dengan ikatan peptida yang memiliki efek positif bagi tubuh manusia salah satunya adalah antibakteri. Kombinasi bakteri starter yogurt dengan probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium longum* dapat memberikan fungsi antibakteri terhadap bakteri patogen penyebab *foodborne disease* seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhimurium*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas daya hambat peptida antibakteri dari yogurt yang di fermentasi dengan kombinasi probiotik dan menganalisis perbedaan waktu penyimpanan yogurt terhadap kemampuan antibakteri. Sampel yang digunakan adalah susu kambing Etawa segar yang kemudian difermentasi menggunakan kombinasi isolat *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* sebagai starter, kombinasi starter dengan *L. acidophilus*, kombinasi starter dengan *B. longum* dan kombinasi starter dengan *L. acidophilus* dan *B. longum* sebanyak 2% (v/v) kemudian disimpan pada suhu 4°C selama 6 hari. Yogurt yang terbentuk disentrifugasi mendapatkan *Water Soluble Peptide Extract* (WSPE). Pengujian kuantitatif meliputi pengujian pH, total asam laktat, total protein terlarut dan derajat hidrolisis protein. Pengujian antibakteri menggunakan metode *Disk Diffusion Assay* dengan antibiotik Ciprofloxacin dan Streptomycin sebagai kontrol positif. Pengujian kuantitatif terbaik dihasilkan oleh WSPE perlakuan starter dengan penambahan *L. acidophilus* dengan pH terendah yaitu 3.18, total asam laktat tertinggi yaitu 0.680, total protein tertinggi yaitu 3.19 dan derajat hidrolisis tertinggi yaitu 59.95. Ekstrak peptida pada penyimpanan hari ke 4 menunjukkan rata-rata aktivitas antibakteri tertinggi, sedangkan ekstrak peptida pada penyimpanan hari ke 0 menunjukkan rata-rata aktivitas antibakteri terendah. Ekstrak peptida lebih efektif dalam menghambat bakteri gram negatif dibandingkan dengan bakteri gram positif.

Kata kunci : peptida bioaktif, BAL, yogurt, antibakteri, patogen

ABSTRACT

Potential of Yogurt Bioactive Peptide with Probiotic Culture Variations as Antibacterial Against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella typhimurium*

MENTARI NOVIYANTI PUTERI

Yogurt is a functional food made from milk that has been fermented by lactic acid bacteria (LAB). In yogurt fermentation, bioactive peptides are produced, which positively affect the human body, one of which is antibacterial. The combination of yogurt starter bacteria with *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum* probiotics can deliver antibacterials that can inhibit the growth of pathogenic bacteria that cause foodborne diseases such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella typhimurium*. This study aims to determine the effectiveness of inhibition and the effect of storage time on the antibacterial activity of fermented goat's milk yogurt extract with a combination of probiotic bacteria. The sample used was fresh Etawa goat's milk which was fermented using a combination of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* isolates as a starter, with the addition of *L. acidophilus* probiotic isolate, a starter combination with *B. longum*, and a starter combination with *L. acidophilus* and *B. longum* as much as 2%. (v/v) then stored at 4°C for six days. Yogurt formed was centrifuged to obtain Water Soluble Peptide Extract (WSPE). Quantitative testing includes pH, total lactic acid, total dissolved protein, and degree of protein hydrolysis. Antibacterial testing used the disk diffusion assay method with the antibiotics ciprofloxacin and streptomycin as positive controls. The best quantitative test was obtained on WSPE from the starter treatment with the addition of *L. acidophilus* with the lowest pH of 3.18, the highest total lactic acid was 0.680, the most elevated complete protein was 3.19, and the highest degree of hydrolysis was 59.95. Yogurt extract stored for 4 days showed the highest average antibacterial activity, while yogurt extract on storage day 0 showed the lowest average antibacterial activity. Yogurt extract was more effective in inhibiting gram-negative bacteria than gram-positive bacteria..

Keywords : bioactive peptide, LAB, yogurt, antibacterial, pathogen

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pangan fungsional merupakan produk pangan yang diperkaya dengan konstituen khusus yang memiliki efek fisiologis menguntungkan yang didukung secara *in vitro* dan *in vivo*. Salah satu produk pangan fungsional yang telah dinikmati oleh orang-orang selama berabad-abad adalah *fermented dairy food*. Pangan hasil fermentasi susu ini memberikan banyak manfaat bagi manusia karena diperkaya dengan probiotik dan molekul pendukung kesehatan yaitu peptida bioaktif yang dilepaskan dari protein susu oleh proteolisis mikroba (Park & Nam, 2015). Peptida bioaktif memiliki biofungsi seperti aktivitas antihipertensi, antioksidan, imunomodulator, dan antimikroba. Matriks yang biasa digunakan dalam fermentasi susu adalah susu sapi namun diketahui bahwa susu kambing memiliki potensi dan manfaat yang lebih tinggi dari susu sapi mulai dari kandungan vitamin dan mineralnya hingga sifat *hypoallergenic* dan antimikrobanya yang efektif terhadap beberapa jenis bakteri patogen (Stergiadia *et al.*, 2019).

Penggunaan kombinasi bakteri lebih dari 1 jenis bakteri dapat menghasilkan protokooperasi atau interaksi antar jenis bakteri (Ramadzanti, 2006). Interaksi ini dapat membantu metabolisme antar bakteri menjadi lebih baik sehingga menghasilkan metabolit yang lebih baik pula. Penambahan probiotik pada yogurt sering dilakukan untuk menambah efek kesehatan pada saluran pencernaan (Silalahi, 2006). Starter yang digunakan pada penelitian ini adalah *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* karena kedua bakteri ini tumbuh secara simbiosis dan akan menghasilkan asam yang lebih banyak daripada hanya digunakan salah satunya saja (Trachoo, 2002). Namun demikian, *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* merupakan agen probiotik yang kurang baik karena tidak dapat bertahan hidup pada saluran pencernaan manusia (Conway *et al.*, 1987), sehingga pada penelitian ini digunakan agen probiotik lain yaitu *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium longum*

yang memiliki ketahanan lebih baik pada saluran pencernaan manusia (Gomes & Malcata, 1999).

Bakteri patogen dapat menyebabkan penyakit salah satunya adalah *foodborne illness*. Bakteri yang umum menyebabkan *foodborne illness* adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*. Banyak penelitian dilakukan untuk menelaah peptida antimikroba yang didapatkan dari susu kambing karena dianggap tidak beracun bagi sel mamalia karena berasal dari sumber yang tidak berbahaya (Benkerroum, 2010). Selain itu peptida bioaktif dari susu kambing terbukti menghambat mikroorganisme target kesehatan atau pembusukan secara signifikan, bahkan beberapa lebih efektif daripada antibiotik sintetis saat ini. Oleh karena itu, telah dianggap bahwa peptida antimikroba yang diturunkan dari susu kambing memiliki potensi yang tidak dapat disangkal untuk digunakan dalam industri pangan dan medis (McGregor & Poppitt, 2013).

Oleh karena pentingnya penemuan alternatif antibakteri dari ekstrak yogurt sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi peptida bioaktif dari susu kambing hasil fermentasi oleh kombinasi bakteri starter dengan *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium longum* sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* dan pengaruh waktu penyimpanan terhadap kemampuan antibakterinya.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun pada penelitian ini memiliki rumusan masalah yang terdiri dari,

- 1.2.1 Apakah peptida bioaktif yogurt hasil fermentasi oleh kombinasi bakteri starter (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* dan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) dengan *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium longum* mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
- 1.2.2 Apakah waktu penyimpanan yogurt hasil fermentasi oleh kombinasi bakteri starter (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* dan

Lactobacillus delbrueckii subsp. *Bulgaricus*) dengan *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium longum* mempengaruhi aktivitas antibakteri peptida bioaktif terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

1.3 Hipotesis

Berdasarkan perumusan masalah diatas, hipotesis yang dapat diuji adalah :

- 1.3.1 Adanya pengaruh kombinasi probiotik dan waktu penyimpanan terhadap kemampuan peptida bioaktif sebagai antibakteri.
- 1.3.2 Tidak adanya pengaruh kombinasi probiotik dan waktu penyimpanan terhadap kemampuan peptida bioaktif sebagai antibakteri.

1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1.4.1 Mengetahui apakah fermentasi susu kambing menggunakan kombinasi starter yogurt dan probiotik memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen.
- 1.4.2 Mengetahui apakah masa penyimpanan yogurt berpengaruh terhadap kemampuan antibakteri peptida bioaktif.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh melalui penelitian ini antara lain :

- 1.5.1 Memberikan informasi dan wawasan mengenai potensi peptida bioaktif dari yogurt dengan penambahan probiotik sebagai antibakteri
- 1.5.2 Memberikan informasi mengenai efektivitas peptida bioaktif setelah masa penyimpanan

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- 5.1.1 Yogurt hasil fermentasi susu kambing baik tanpa dan dengan kombinasi probiotik memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 tetapi memiliki efektivitas yang berbeda. *Water Soluble Peptide Extract* yang terbentuk lebih efektif terhadap bakteri gram positif.
- 5.1.2 Waktu penyimpanan berpengaruh terhadap kemampuan antibakteri peptida bioaktif. *Water Soluble Peptide Extract* masing-masing waktu penyimpanan efektif terhadap bakteri patogen yang berbeda. Waktu penyimpanan pada hari ke 4 dan ke 6 memberikan rata-rata daya hambat antibakteri yang paling kuat.

5.2 Saran

Saran penulis dalam penelitian ini adalah dapat dilakukan pemurnian dan profil asam amino dari ekstrak peptida kasar untuk memastikan kualitas peptida adalah murni dan mengetahui sekuen asam amino yang terbentuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar-Toalá JE., L. Santiago-López, CM. Peres, HS. Garcia, B. Vallejo-Cordoba, AF. González-Córdova, & A. Hernández Mendoza. 2017. Assessment of multifunctional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific *Lactobacillus plantarum* strains. *Journal Dairy Science*. 100(1): 65-75.
- Altermann E, Russell WM, Azcarate-Peril MA et al. (2005) Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *P Natl Acad Sci USA* 102: 3906–3912.
- Amarantini, C., Budiarso, T. Y., Antika, Y. E., dan Prakasita, V. C. (2020). Characterisation of *Lactobacillus plantarum* isolated from pickled cucumber, and its antagonist effect on pathogenic bacteria. *International Food Research Journal*, 27 (5), 805 – 813.
- Bacon RT, Sofos JN (2003) Characteristics of Biological Hazards in Foods, In: Schmidt RH, Rodrick GE, Editors, *Food Safety Handbook*, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 157–195.
- Benkerroum, N. 2010. Antimicrobial peptides generated from milk proteins: A survey and prospects for application in the food industry. A review. *Int. J. Dairy Technol.* 63:320–338.
- Biswas, B.B., Basu, P.S., & Pal, M.K. (1970). Gram staining and its molecular mechanism. *International review of cytology*, 29, 1-27 .
- Brown A. (2011). *Benson: Microbiological Application Lab Manual* Eight Edition. The McGraw-Hill Companies.
- Bu, G.; Luo, Y.; Chen, F.; Liu, K.; Zhu, T. Milk processing as a tool to reduce cow's milk allergenicity: A mini-review. *Dairy Sci. Technol.* 2013, 93, 211–223.
- Campoli-Richards DM, Monk JP, Price A, Benfield P, Todd PA, Ward A. Ciprofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*. 1988 Apr;35(4):373-447.
- Chapman, G.H. (1945) The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. *J Bacteriol* 50, 201–203.
- Chen Y, Li C, Xue J, Kwok L, Yang J, Zhang H, Menghe B. 2015. Characterization of angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of fermented milk produced by *Lactobacillus helveticus*. *J Dairy Sci* 98: 5113-5124
- Chen, X., Zheng, R., Liu, R., & Li, L. (2020). Goat milk fermented by lactic acid bacteria modulates small intestinal microbiota and immune responses. *Journal of Functional Foods*, 65
- Clark, S., & Mora García, M. B. (2017). A 100-Year Review: Advances in goat milk research. *Journal of dairy science*, 100(12), 10026–10044
- Diekema, D. J., M. A. Pfaller, F. J. Schmitz, J. Smayevsky, J. Bell, R. N. Jones, M. Beach, and the SENTRY Participants Group. 2001. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997-1999. *Clin. Infect. Dis.* 32(Suppl. 2):S114-S132.
- Ellison RT 3rd, Giehl TJ. Killing of gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme. *J Clin Invest.* 1991 Oct;88(4):1080-91
- Fan M, Guo T, Li W, Chen J, Li F, Wang C, Shi Y, Li DX, Zhang S. 2019. Isolation and identification of novel casein-derived bioactive peptides and potential

- functions in fermented casein with *Lactobacillus helveticus*. *Food Sci Hum Wellness* 8: 156-176.
- FDA, *Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*, Second Edition, 2012.
- Getaneh, G., Mebrat, A., Wubie, A., & Kendie, H. (2016). Review on goat milk composition and its nutritive value. *Journal of Nutrition and Health Sciences*, 3, 401–409
- Conley, Z. C., Bodine, T. J., Chou, A., & Zechiedrich, L. (2018). Wicked: The untold story of ciprofloxacin. *PLoS pathogens*, 14(3), e1006805.
- Geissler K., Manafi M., Amoros I., Alonso J.L. Quantitative determination of total coliforms and *Escherichia coli* in marine waters with chromogenic and fluorogenic media. *J. Appl. Microbiol.* 2000, 88 pp. 280–285
- Gonzalez-Olivares L, Anorve-Morga J, Neda-Ovando AC, Contreras-Lope E, Jaimez-Orda J. Peptide separation of commercial fermented milk during refrigerated storage. *Food Sci. Technol. (Campinas)* 34: 674–679 (2014).
- Greig, M. E., Walk, R. A., & Gibbons, A. J. (1958). Effect Of Actidione (Cycloheximide) On Yeast Fermentation. *Journal Of Bacteriology*, 75(4), 489–491.
- Hebert, E.M., Saavedra, L., Ferranti, P., 2010. Bioactive peptides derived from casein and whey proteins. In: Mozzi, F., Raya, R.R., Vignolo, G.M. (Eds.), *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*. John Wiley & Sons, Oxford, pp. 233–249
- Hoover, D. G. (2014). *Bifidobacterium*. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 216–222.
- Jankowska, A., Rejs, A. (2013). Factors affecting the shelf-life of yoghurt during storage [Czynniki decydujące o trwałości jogurtu podczas przechowywania]. *Prz. Mlecz.* 11, 2–5 [in Polish]
- Jannah, Siti & Saraswati, Tyas & Handayani, Dwi & Pujiyanto, Sri. (2018). Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Gastrointestinal Tract of “Ayam Kampung” Chicken Against Food Pathogens. *Journal of Physics: Conference Series*. 1025. 012082
- Khan, M. U., Pirezadeh, M., Förster, C. Y., Shityakov, S., & Shariati, M. A. (2018). Role of Milk-Derived Antibacterial Peptides in Modern Food Biotechnology: Their Synthesis, Applications and Future Perspectives. *Biomolecules*, 8(4), 110
- Kirpich IA, Solovieva NV, Leikhter SN, Shidakova NA, Lebedeva OV, Sidorov PI, Bazhukova TA, Soloviev AG, Barve SS, McClain CJ, Cave M. Probiotics restore bowel flora and improve liver enzymes in human alcohol-induced liver injury: a pilot study. *Alcohol.*, 2008; 42: 675–682.
- Kloos WE, Bannerman TL (1994) Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev* 7: 117-140.
- Kudęłka, W. (2005). Characterization of fermented milk beverages in the EU and Poland [Charakterystyka mlecznych napojów fermentowanych w Unii Europejskiej oraz w Polsce]. *Zesz. Nauk. Akademii Ekonomicznej Wrocław*, 678, 149–160 [in Polish]
- Lebeer, S.; Bron, P.A.; Marco, M.L.; Van Pijkeren, J.P.; O’Connell Motherway, M.; Hill, C.; Pot, B.; Roos, S.; Klaenhammer, T. Identification of probiotic

- effector molecules: Present state and future perspectives. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2018, 49, 217–223
- Li C, Kwok LY, Mi Z, Bala J, Xue J, Yang J, Ma Y, Zhang H, Chen Y. 2017. Characterization of the angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of fermented milks produced with *Lactobacillus casei*. *J Dairy Sci* 100: 9495-9507.
- López-Meza, J. E., A. Ochoa-Zarzosa, J. E. Barboza-Corona, and D. K. Bideshi. 2015. Antimicrobial peptides: Current and potential applications in biomedical therapies. *BioMed Res. Int.* 2015:367243.
- Mahdi, Chanif, Padaga, Masdiana & J. Raharjo, Sentot. (2018). The characterization of bioactive peptides of goat milk fermented to activities as anti-hypercholerolemia. *International Food Research Journal.* 25.
- Massoud, Ramona & Belgheisi, Saba & Massoud, A.. (2016). Effect of High Pressure Homogenization on Improving the Quality of Milk and Sensory Properties of Yogurt: A Review. *International Journal of Chemical Engineering and Applications.* 7. 66-70.
- Martinez-Villaluenga, C., Peñas, E., & Frias, J. (2017). Bioactive Peptides in Fermented Foods. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*, 23–47.
- McGregor, R., & SD. Poppitt. 2013. Milk protein for improved metabolic health: a review of the evidence. *Nutr Metab.* 10(46):1-13.
- Meira, Stela & Daroit, Daniel & Helfer, Virginia & Corrêa, Ana & Segalin, Jéferson & Carro, Silvana & Brandelli, Adriano. (2012). Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. *Food Research International.* 48. 322–329.
- Mitscherlich E, Marth EH.(1984) *Microbial Survival in the Environment: Bacteria and Rickettsiae Important in Human and Animal Health*, Berlin: Springer-Verlag
- Mohanty, Debapriya & Jena, Rajashree & Choudhury, Prasanta & Pattnaik, Ritesh & Mohapatra, Swati & Manish, & Saini, Manish. (2015). Milk Derived Antimicrobial Bioactive Peptides: A Review. *International Journal of Food Properties*, 19:4, 837-846.
- Mohanty DP, Mohapatra S, Misra S, Sahu PS. Milk derived bioactive peptides and their impact on human health—A review. *Saudi J. Biol. Sci.* 23: 577–583 (2016).
- Nagpal, R.; Behare, P.; Rana, R.; Kumar, A.; Kumar, M.; Arora, S.; Morotta, F.; Jain, S.; Yadav, H. Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials: An update. *Food Funct.* 2011, 2, 18–27
- Park, Y. W., & Nam, M. S. (2015). Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: A Review. *Korean journal for food science of animal resources*, 35(6), 831–840.
- Pellegrini, A. (2003). Antimicrobial Peptides from Food Proteins. *Current Pharmaceutical Design*, 9(16), 1225–1238.
- Prasetyo, H. 2010. Pengaruh Penggunaan Starter Yoghurt pada Level Tertentu terhadap Karakteristik Yoghurt yang Dihasilkan. Skripsi. Solo: Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Sah BNP, Vasiljevic T, McKechnie S, Donkor ON. Antibacterial and antiproliferative peptides in synbiotic yogurt— Release and stability during refrigerated storage. *J. Dairy Sci.* 2016;99:4233–4242. doi: 10.3168/jds.2015-10499.

- Savijoki, K., Ingmer, H., Varmanen, P., 2006. Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 71, 394–406.
- Setiarto, R. H. B., Widhyastuti, N., & Fairuz, I. (2017). Pengaruh starter bakteri asam laktat dan penambahan tepung talas termodifikasi terhadap kualitas yogurt sinbiotik. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 11(1), 18-30.
- Shiby, V.K.; Mishra, H.N. Fermented milk and milk products as functional foods— A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2013, 53, 482–496.
- Shah NP (2007) Functional cultures and health benefits. *Int Dairy J* 17: 1262–1277.
- Shu G, Yang H, Chen H, Zhang Q, Tian Y. 2015. Effect of incubation time, inoculum size, temperature, pasteurization time, goat milk powder and whey powder on ace inhibitory activity in fermented milk by *L. Plantarum* LP69. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 14: 107-116..
- Shori, A. B., Baba, A. S., & Muniandy, P. (2019). Potential Health-Promoting Effects of Probiotics in Dairy Beverages. *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages*, 173–204.
- Singh, A. K., Drolia, R., Bai, X., & Bhunia, A. K. (2015). Streptomycin Induced Stress Response in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Shows Distinct Colony Scatter Signature. *PloS one*, 10(8), e0135035.
- Suharto, El & Arief, Irma & Taufik, Epi. (2016). Quality and Antioxidant Activity of Yogurt Supplemented with Roselle during Cold Storage. *Media Peternakan*. 39. 82-89.
- Song, Y., Sun, Z., Guo, C. et al. Genetic diversity and population structure of *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* isolated from naturally fermented dairy foods. *Sci Rep* 6, 22704 (2016).
- Steele, J.; Broadbent, J.; Kok, J. Perspectives on the Contribution of Lactic Acid Bacteria to Cheese Flavor Development. *Current Opinion in Biotechnology* 2013, 24, 135–141.
- Stergiadis, S., Nørskov, N. P., Purup, S., Givens, I., & Lee, M. (2019). Comparative Nutrient Profiling of Retail Goat and Cow Milk. *Nutrients*, 11(10), 2282.
- Tadesse, D. A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M. J., & McDermott, P. F. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002. *Emerging infectious diseases*, 18(5), 741–749.
- Tagliacruzchi, D., Martini, S., & Solieri, L. (2019). Bioprospecting for Bioactive Peptide Production by Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Dairy Food. *Fermentation* 5, 96.
- Taha, S., El Abd, M., De Gobba, C. et al. Antioxidant and antibacterial activities of bioactive peptides in buffalo's yoghurt fermented with different starter cultures. *Food Sci Biotechnol* 26, 1325–1332 (2017).
- Trachoo, N. (2002). Review article: Yogurt: The fermented milk, *Songklanakrin J. Sci. Technol.*, 24(4)
- Turel I. The interactions of metal ions with quinolone antibacterial agents. *Coord. Chem. Rev.* 232, 27–47 (2002)
- Turk, B.E., Huang, L.L., Piro, E.T., Cantley, L.C., 2001. Determination of protease cleavage site motifs using mixture-based oriented peptide libraries. *Nature Biotechnol.* 19, 661-667.

- Vinderola, C.G., Mocchiutti, P. & Reinheimer, J. A. (2002). Interactions Among Lactic Acid Starter and Probiotic Bacteria Used for Fermented Dairy Products. *Journal of Dairy Science*. 85: 721-729.
- Wojtczak, A., Ziarno, M., Czarniak, K. (2018). The influence of technological factors on the survivability of *Lb. acidophilus* and *Lb. casei*. *Przem. Spoż.*, 72(8), 42–45.
- Yang, Cuiping, Li, Huihui, Zhang, Tao, Chu, Yifan, Zuo, Junli, Chen, Dengyu. (2020). Study on antibiotic susceptibility of *Salmonella typhimurium* L forms to the third and fourth generation cephalosporins. *Scientific Reports*.
- Yildiz, F. 2010. Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products. Taylor and Francis Group, United State
- Yuswananda, N. P. 2015 Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp. pada Makanan Jajanan di Masjid Fathullah Ciputat Tahun 2015. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
- Zajmi A, Mohd Hashim N, Noordin MI, Khalifa SA, Ramli F, Mohd Ali H, El-Seedi HR. Ultrastructural Study on the Antibacterial Activity of Artonin E versus Streptomycin against *Staphylococcus aureus* Strains. *PLoS One*. 2015 Jun 1;10(6):e0128157.

