

**KARAKTERISASI *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1
SEBAGAI PROBIOTIK**

SKRIPSI

Oleh

MARGARET AGUSTINA SIANTURI



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

KARAKTERISASI *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1
SEBAGAI PROBIOTIK

Oleh

MARGARET AGUSTINA SIANTURI
NIM : 23020122140126

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Margaret Agustina Sianturi
 N I M : 23020122140126
 Program Studi : Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Skripsi yang berjudul: **Karakterisasi *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 sebagai Probiotik** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu: **Dr. Rafli Zulfa Kamil, S.T.P., dan Dr. Sri Mulyani, SPt., M.P.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik, maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Juni 2026

Penulis



(Margaret Agustina Sianturi)

Mengetahui :

Pembimbing Utama

(Dr. Rafli Zulfa Kamil, S.T.P.)

Pembimbing Anggota

(Dr. Sri Mulyani, SPt., M.P.)

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : KARAKTERISASI *Lactiplantibacillus*
plantarum MTA-1 SEBAGAI PROBIOTIK

Nama Mahasiswa : MARGARET AGUSTINA SIANTURI

Nomor Induk Mahasiswa : 23020122140126

Program Studi/Departemen : S-1 TEKNOLOGI PANGAN/PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
 dan dinyatakan lulus pada tanggal.....

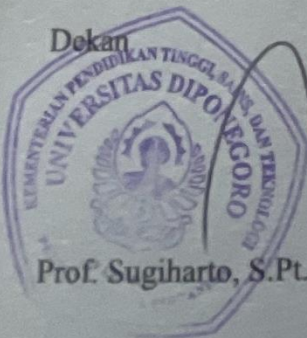
Pembimbing Utama

Dr. Rafli Zulfa Kamil, S.T.P.

Ketua Program Studi

Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

Dekan



Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Pembimbing Anggota

Dr. Sri Mulyani, S.Pt., M.P.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program

Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.

Ketua Departemen

Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas kasih karunia dan penyertaan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penyusunan skripsi yang berjudul “Karakteristik *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 sebagai Probiotik” dengan baik dan tepat waktu. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana. Penulis menyadari bahwa selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, masukan, dan bimbingan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung, sehingga skripsi ini akhirnya dapat diselesaikan. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak berikut.

1. Dr. Rafli Zulfa Kamil, S.T.P., selaku dosen pembimbing utama dan Dr. Sri Mulyani, SPt., M.P., selaku dosen pembimbing anggota, yang telah membimbing, memberikan arahan, informasi, motivasi, dan saran, meluangkan waktu, tenaga, serta usaha selama pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik dan tepat waktu.
2. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh kegiatan perkuliahan di Program Studi S-1 Teknologi Pangan dan melaksanakan penelitian hingga penyusunan skripsi untuk memperoleh gelar sarjana.
3. Bapak Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D., selaku Ketua Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas

Diponegoro sekaligus Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, yang memberikan izin, arahan, serta kesempatan kepada penulis untuk menjalani perkuliahan hingga menyelesaikan penyusunan skripsi.

4. drh. Siti Susanti, Ph.D. selaku Dosen Wali dan Koordinator Laboratorium Kimia Gizi Pangan, serta Bapak Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D., selaku Koordinator Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, yang telah memberikan bimbingan, izin, serta kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian di laboratorium.
5. Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc. dan Ibu Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si., selaku dosen penguji dalam ujian skripsi, serta Ibu Swastika Dewi, S.TP., M.Sc., selaku dosen panitia, yang telah memberikan pertanyaan, saran, dan masukan berharga dalam penyempurnaan skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu dosen serta staf karyawan Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, yang telah memberikan saran, masukan, serta bimbingan selama masa perkuliahan.
7. Keluarga tercinta, Papa Rizal Sianturi, Mama Setia Rohani, Kakak Ruth, Adik Angel, beserta seluruh keluarga besar, yang selalu mendoakan setiap pilihan dan mimpi penulis, memberikan kasih sayang tanpa syarat, dukungan, dan motivasi baik secara moral maupun materil, serta pengorbanan yang tiada henti selama masa studi hingga penyusunan skripsi ini.

8. Sahabat penulis sejak awal perkuliahan, Maria Neri Salikin, yang selalu hadir, memberikan semangat, menghadirkan canda tawa dan pelajaran hidup yang berharga melalui pengalaman yang dilalui bersama, sehingga menjadi bagian penting dalam perjalanan penulis hingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman-teman seperjuangan, Anjely Prima Romaida Simamora, Katarina Siena Divayani Mahadewi, dan Laura Amelia Putri, yang selalu menemani, menjadi tempat berbagi cerita, serta memberikan dukungan yang tiada henti kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini dapat berjalan lancar. Terima kasih karena tetap bertahan di sisi penulis disaat banyak masalah yang dihadapi bersama.
10. Cornelius Felix Ekaputra, Farid Ma'ruf, Rais Andian, Priyanka Triaguna, dan Nikolaus Raka Pradana, terima kasih atas dukungan, kebersamaan, segala suka duka, serta obrolan larut malam yang membuat perjuangan ini tidak terasa sendiri. Atas telinga yang selalu siap mendengar, atas nasihat dan motivasi yang diberikan di saat penulis sangat membutuhkannya. Kalian bukan sekedar teman, tapi keluarga. Tanpa kehadiran kalian, mungkin Tembalang tidak akan terasa hangat dan berkesan.
11. Vania Natasha, Pricillya Yanuar Hanada, Alya Azzahra, Dhiyaa Siti Aisyah, dan Anmitha Rakeesha Putri, selaku rekan penelitian yang telah bekerja sama dengan baik sehingga penelitian berjalan lancar. Terima kasih telah menemani dan membantu selama penelitian, serta memotivasi dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi.

12. Teman-teman penulis, Rozanah Zhahrina, Rivana Artika, dan Putri Irvina, terima kasih telah menjadi teman yang sangat baik bagi penulis, kebersamaan penulis sejak masa orientasi, memperkenalkan penulis pada suasana dan kehidupan di kota ini, membuat penulis tidak merasa sendirian dan memberikan banyak kenangan baik selama perkuliahan.
13. Teman-teman Persekutuan Mahasiswa Kristen (PMK) Fakultas Peternakan dan Pertanian, Jessica Ria Uli, Gloria Berlianne Utomo, Grace Charmita, serta teman-teman lainnya, yang telah memotivasi, mendukung, serta mendekatkan penulis kepada Tuhan hingga penyelesaian skripsi.
14. Seseorang yang kehadirannya sangat penting di hidup penulis, Saudara Bryan Immanuel Saolah, yang selalu menemani penulis sejak dua tahun terakhir. Terima kasih atas kesabaran dan waktu yang diberikan, menemani dan mendengarkan keluh kesah penulis, memberikan motivasi, serta dukungan emosional yang melebihi kata cukup sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
15. Teman-teman Teknologi Pangan Angkatan 2022 yang telah memotivasi dan mendukung penulis dalam menyelesaikan penyusunan skripsi.
16. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu demi satu, yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis dalam menempuh pendidikan S-1 Teknologi Pangan di Universitas Diponegoro sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

17. Penulis mengucapkan terima kasih kepada diri sendiri yang telah berjuang hingga saat ini. Terima kasih telah percaya pada diri sendiri untuk merantau ke tempat yang asing dan belum pernah dikunjungi sebelumnya, memberanikan diri untuk keluar dari zona nyaman dan mencoba segala kesempatan yang datang, serta tetap melangkah meskipun terkadang tidak tahu ke mana arah tujuannya. Terima kasih sudah tetap percaya pada rencana Tuhan di tengah pergumulan yang menekan untuk menyerah. Terima kasih karena sudah bertahan, terus berproses, dan mampu menyelesaikan apa yang sudah dimulai dengan penuh tanggung jawab sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi penyempurnaan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan seluruh pihak yang berkepentingan. Akhir kata, penulis menyampaikan permohonan maaf apabila terdapat kekeliruan maupun penyampaian yang kurang berkenan dalam skripsi ini.

Semarang, Juni 2026

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR ILUSTRASI.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Buah Matoa sebagai Sumber <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	5
2.2. Bakteri Asam Laktat (BAL).....	6
2.3. Potensi Probiotik <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	8
2.4. Karakterisasi Probiotik <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	9
2.5. Keamanan <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> untuk Konsumsi Manusia	10
2.6. Fitur Fungsional <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	11
2.7. Evaluasi Karakteristik Probiotik	12
BAB III. MATERI DAN METODE	20
3.1. Materi Penelitian	20
3.2. Metode Penelitian.....	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1. Evaluasi Potensi Probiotik	31

4.2. Evaluasi Keamanan dengan Resistensi terhadap Antibiotik	45
4.3. Evaluasi Aktivitas Antioksidan terhadap Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	49
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	51
5.1. Simpulan	51
5.2. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	60
RIWAYAT HIDUP	79

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Kandungan Gizi Buah Matoa per 100 g.....	5
2.	Aktivitas Antimikroba Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	41
3.	Nilai Sensitivitas Antibiotik Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1.....	46

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Diagram Alir Prosedur Penelitian	22
2. Hasil Uji Resistensi Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1 terhadap pH ...	32
3. Hasil Uji Resistensi Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1 terhadap Garam Empedu (<i>Bile Salt</i>)	36
4. Hasil Uji Autoagregasi Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	38

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Resistensi pH Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	60
2. Resistensi Garam Empedu Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	61
3. Nilai Uji Autoagregasi Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	62
4. Nilai Uji Hidrofobisitas Permukaan Sel Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	63
5. Nilai Aktivitas Antimikroba Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	64
6. Nilai Aktivitas Antibiotik Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	65
7. Nilai Aktivitas Antioksidan Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	66
8. Perhitungan Nilai <i>Survival Rate</i> Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1 terhadap pH	67
9. Perhitungan Nilai <i>Survival Rate</i> Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1 terhadap Garam Empedu	68
10. Perhitungan Nilai Autoagregasi Isolat <i>L. Plantarum</i> MTA-1	69
11. Perhitungan Nilai Hidrofobisitas Permukaan Sel Isolat <i>L.</i> <i>plantarum</i> MTA-1	70
12. Perhitungan Nilai Aktivitas Antioksidan Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	71
13. Dokumentasi Uji Resistensi pH Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	72
14. Dokumentasi Uji Resistensi Garam Empedu (<i>Bile Salt</i>) Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	73
15. Dokumentasi Autoagregasi Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	74
16. Dokumentasi Uji Hidrofobisitas Permukaan Sel Isolat <i>L.</i> <i>plantarum</i> MTA-1	75
17. Dokumentasi Uji Aktivitas Antimikroba Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	76

18. Dokumentasi Uji Aktivitas Antibiotik <i>L. plantarum</i> MTA-1	77
19. Grafik Spektrum Absorbansi Aktivitas Antioksidan Isolat <i>L. plantarum</i> MTA-1	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia sebagai negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi memiliki potensi besar dalam pengembangan mikroorganisme lokal yang belum dimanfaatkan secara optimal (Rahmaniya *et al.*, 2024). Meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap kesehatan, tren konsumsi pangan fungsional, serta berkembangnya pangan berbasis nabati (*plant-based foods*) mendorong eksplorasi mikroorganisme potensial dari sumber *non-dairy*, terutama buah-buahan (Sine, 2022). Mikroorganisme yang berasal dari lingkungan alami Indonesia cenderung memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap kondisi tropis sehingga berpotensi dikembangkan sebagai kultur fungsional dibidang pangan dan kesehatan.

Salah satu mikroorganisme yang banyak dimanfaatkan dalam bidang pangan dan kesehatan adalah bakteri asam laktat (BAL), yaitu kelompok bakteri yang mampu memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat dan memiliki potensi sebagai probiotik (Ramadhani *et al.*, 2024). Salah satu spesies BAL yang mendapat perhatian dalam pengembangan pangan fungsional adalah *Lactiplantibacillus plantarum*. Bakteri ini telah dimanfaatkan sebagai kultur starter fermentasi, agen biopreservatif alami, serta probiotik yang mampu menjaga keseimbangan mikrobiota usus, meningkatkan respons imun, dan menghasilkan senyawa antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Badri *et al.*, 2024).

Bahan pangan nabati seperti buah-buahan umumnya mengandung karbohidrat sederhana seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa yang dapat dimanfaatkan *L. plantarum* sebagai sumber energi (Tsania *et al.*, 2021). *L. plantarum* memiliki sistem enzimatis yang mampu mengangkut dan memetabolisme gula sederhana melalui jalur glikolisis kemudian difermentasi menjadi asam laktat sebagai produk utama. Proses fermentasi ini tidak hanya menghasilkan energi dalam bentuk ATP bagi sel bakteri, tetapi juga menyebabkan penurunan pH lingkungan akibat akumulasi asam laktat. Lingkungan dengan kandungan karbohidrat tinggi dan pH relatif rendah merupakan kondisi optimal yang mendukung pertumbuhan *L. plantarum* (Dwijastuti *et al.*, 2025). Salah satu buah lokal Indonesia yang berpotensi menjadi habitat alami bagi pertumbuhan *L. plantarum* adalah buah matoa (*Pometia pinnata*) yang memiliki pH relatif asam dan kandungan karbohidrat yang cukup tinggi.

Potensi buah matoa sebagai sumber isolat *L. plantarum* membuka peluang untuk memperoleh kandidat probiotik baru dari sumber lokal Indonesia. Akan tetapi, potensi probiotik pada *L. plantarum* bersifat spesifik pada tingkat strain sehingga tidak semua strain dapat langsung dikategorikan sebagai probiotik. Perbedaan genetik antar-strain dalam satu spesies dapat menyebabkan variasi dalam kemampuan bertahan hidup, metabolisme, produksi senyawa antimikroba, serta interaksi dengan sel inang (Dwijastuti *et al.*, 2025). Suatu strain *L. plantarum* perlu memenuhi kriteria seleksi probiotik, seperti mampu bertahan pada kondisi asam lambung dan garam empedu, memiliki kemampuan adhesi yang diindikasikan melalui uji autoagregasi dan hidrofobisitas permukaan sel, menunjukkan aktivitas

antagonistik terhadap mikroorganisme patogen, serta terbukti aman melalui uji hemolitik dan profil sensitivitas antibiotik (Priadi *et al.*, 2020). Evaluasi karakteristik tersebut penting untuk memastikan efektivitas dan keamanan penggunaannya.

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa *L. plantarum* dari sumber yang tidak konvensional seperti lingkungan tanaman, madu, dan serangga menunjukkan potensi probiotik yang menjanjikan, termasuk ketahanan terhadap kondisi gastrointestinal dan aktivitas antimikroba yang baik (Meradji *et al.*, 2023). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dimas (2024) ditemukan bahwa isolat BAL dari buah matoa memiliki sifat fungsional berupa aktivitas proteolitik, lipolitik, serta mampu memproduksi eksopolisakarida. Hal tersebut menunjukkan potensi fungsional BAL dari buah tropis Indonesia sebagai probiotik yang unggul.

1.2. Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 yang diisolasi dari buah matoa (*Pometia pinnata*), serta mengetahui potensi probiotik dan fitur fungsionalnya. Karakterisasi dilakukan melalui pengujian autoagregasi dan hidrofobisitas permukaan sel, resistensi terhadap pH dan *bile salt*, aktivitas antimikroba, serta pengujian keamanan melalui uji resistensi antibiotik dan aktivitas antioksidan. Manfaat penelitian ini adalah mengetahui potensi *Lactiplantibacillus plantarum* dari buah matoa sebagai probiotik alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Buah Matoa sebagai Sumber *Lactiplantibacillus plantarum*

Matoa (*Pometia pinnata*) merupakan buah tropis asli Indonesia yang banyak ditemukan di wilayah Papua (Elidar dan Purwati, 2022). Buah ini termasuk famili *Sapindaceae* yang memiliki cita rasa dan aroma yang khas (Hajar *et al.*, 2021). Kandungan gizi buah matoa cukup lengkap, daging buah mengandung air dalam jumlah tinggi, serta karbohidrat sederhana seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa yang dapat menjadi sumber energi bagi mikroorganisme. Kandungan gizi buah matoa per 100 g dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Buah Matoa per 100 g

Komponen Gizi	Kadar (per 100 g)
Energi (kkal)	90
Air (g)	76,5
Protein (g)	1,2
Lemak (g)	0,1
Karbohidrat Total (g)	21,1
Serat Pangan (g)	0,5
Abu (g)	1,1
Kalsium (Ca) (mg)	20
Fosfor (P) (mg)	40
Zat Besi (Fe) (mg)	0,6
Tembaga (Cu) (mg)	0,3
Seng (Zn) (mg)	0,6
Natrium (Na) (mg)	2
Kalium (K) (mg)	10
Vitamin B1 (Tiamin) (mg)	0,18
Vitamin B2 (Riboflavin) (mg)	0,09
Vitamin C (mg)	54

Sumber: Kemenkes RI, 2019

Kandungan karbohidrat yang tinggi pada buah matoa menyediakan substrat yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme fermentatif, termasuk bakteri *Lactiplantibacillus plantarum* (Sine, 2022). Faktor lingkungan seperti pH buah yang relatif asam juga berperan dalam mendukung pertumbuhan *L. plantarum* karena bakteri ini termasuk kelompok bakteri asam laktat yang bersifat asidotoleran, yaitu mampu bertahan hidup di lingkungan dengan tingkat keasaman tinggi dan akan tumbuh optimal pada kisaran pH 5-6,5 (Priadi *et al.*, 2020). Selain sebagai habitat alami, kandungan nutrisi buah matoa seperti vitamin C, mineral, serta senyawa bioaktif juga dapat mendukung aktivitas metabolik *L. plantarum*. Karakteristik tersebut menjadikan buah matoa sebagai habitat alami yang potensial serta berpeluang dikembangkan sebagai sumber isolat probiotik berbasis nabati untuk mendukung pengembangan pangan fungsional.

2.2. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif, umumnya tidak membentuk spora, berbentuk kokus atau batang, serta termasuk mikroorganisme anaerob fakultatif yang mampu hidup pada kondisi dengan atau tanpa oksigen (Tulasi *et al.*, 2024). BAL dapat ditemukan secara alami pada berbagai habitat, seperti bahan pangan, saluran pencernaan manusia dan hewan, serta pada permukaan tanaman dan buah-buahan. BAL diklasifikasikan ke dalam beberapa genus utama seperti *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Streptococcus* (Anindita, 2022). Masing-masing genus memiliki kemampuan metabolisme yang berbeda, terutama dalam jalur fermentasi karbohidrat. Beberapa

BAL bersifat homofermentatif yang menghasilkan asam laktat sebagai produk utama, sedangkan lainnya bersifat heterofermentatif yang menghasilkan produk tambahan seperti asam asetat, etanol, dan karbon dioksida.

BAL termasuk dalam kategori *Generally Recognized as Safe* (GRAS) sehingga relatif aman untuk dikonsumsi dan tidak menimbulkan efek toksik bagi manusia (Nasution *et al.*, 2022). Karakteristik tersebut membuat BAL telah lama dimanfaatkan sebagai kultur starter fermentasi dalam bidang pangan, seperti *yoghurt*, roti *sourdough*, dan keju, karena kemampuannya dalam memperbaiki kualitas produk. Aktivitas metabolik BAL menghasilkan berbagai senyawa seperti asam organik, senyawa volatil, dan enzim yang dapat memengaruhi cita rasa, aroma, tekstur, serta daya simpan produk pangan. Beberapa isolat BAL juga banyak dikembangkan sebagai probiotik karena mampu menghasilkan metabolit antimikroba seperti asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Aini *et al.*, 2021). Salah satu spesies BAL yang banyak diteliti dan dimanfaatkan dalam bidang pangan maupun kesehatan adalah *Lactiplantibacillus plantarum*. Bakteri ini dikenal memiliki kemampuan adaptasi yang baik pada berbagai substrat pangan, termasuk bahan nabati, serta berpotensi sebagai probiotik karena kemampuannya menghasilkan senyawa antimikroba dan berperan dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus. Oleh karena itu, *Lactiplantibacillus plantarum* menjadi salah satu kandidat potensial dalam pengembangan pangan fungsional berbasis mikroorganisme.

2.3. Potensi Probiotik *Lactiplantibacillus plantarum*

Lactiplantibacillus plantarum merupakan salah satu spesies bakteri yang memiliki potensi besar sebagai probiotik. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *L. plantarum* mampu bertahan pada kondisi ekstrem di saluran pencernaan, seperti pH asam di lambung dan keberadaan garam empedu di usus, sehingga memungkinkan bakteri tersebut tetap hidup dan menjalankan aktivitas biologisnya di dalam tubuh (Okfrianti *et al.*, 2018). *L. plantarum* mampu menghasilkan peptida bioaktif selama proses fermentasi melalui aktivitas enzim proteolitik, yang diketahui memiliki manfaat kesehatan seperti membantu menurunkan tekanan darah, menurunkan kadar kolesterol, serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh. *L. plantarum* juga dapat membantu memperbaiki keseimbangan mikrobiota usus serta mengurangi gejala gangguan pencernaan (Ubaidilah, 2025).

Sejumlah studi *in vitro* dan *in vivo* juga melaporkan bahwa *L. plantarum* memiliki aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen. *L. plantarum* dapat menjadi antibiotik alami yang efektif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, dan *Staphylococcus aureus* melalui produksi asam organik dan bakteriosin (Safitri dan Mustakim, 2025). Aktivitas antimikroba tersebut berperan dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus dan mencegah kolonisasi mikroorganisme patogen. Selain itu, *L. plantarum* juga berperan dalam modulasi sistem imun dengan regulasi produksi sitokin dan peningkatan respons imun mukosa usus (Albarracín *et al.*, 2023; Di Chiano *et al.*, 2024). Beberapa karakteristik tersebut memperkuat potensi *L. plantarum* sebagai bakteri probiotik untuk kesehatan maupun pengembangan pangan fungsional.

2.4. Karakterisasi Probiotik *Lactiplantibacillus plantarum*

Karakterisasi probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* dilakukan untuk memastikan bahwa suatu isolat memiliki sifat fisiologis dan fungsional yang memadai sebelum diaplikasikan dalam pangan. Tahap awal karakterisasi mencakup identifikasi fenotipik untuk memastikan bahwa isolat yang diperoleh termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat. Identifikasi ini dilakukan melalui pengamatan morfologi sel menggunakan mikroskop, pewarnaan Gram untuk memastikan bahwa bakteri bersifat Gram positif, serta uji katalase untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase. *L. plantarum* memiliki dinding sel tebal yang tersusun dari peptidoglikan sehingga menunjukkan hasil Gram positif, serta bersifat katalase negatif yang menunjukkan bahwa bakteri ini tidak menghasilkan enzim katalase untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Hamidah *et al.*, 2019). Pengujian ini penting sebagai tahap awal untuk membedakan *L. plantarum* dari kelompok bakteri lain yang mungkin terdapat pada sampel. Selanjutnya dilakukan pengujian fisiologis yang berkaitan dengan kemampuan bakteri untuk bertahan pada kondisi menyerupai lingkungan saluran pencernaan. Isolat *L. plantarum* mampu bertahan hidup pada pH yang sangat rendah dengan kisaran pH 1,5–2,5, serta memiliki toleransi terhadap garam empedu 0,3%–0,4% (Kouadia *et al.*, 2024). Hal tersebut menunjukkan bahwa *L. plantarum* memiliki sifat probiotik karena mampu bertahan pada pH asam dan tetap hidup setelah terpapar garam empedu, sehingga akan mencapai usus dan tetap aktif menjalankan aktivitas biologisnya.

Karakterisasi probiotik juga mencakup evaluasi kemampuan adhesi bakteri yang berhubungan dengan kemampuannya berkolonisasi pada saluran pencernaan. *L. plantarum* memiliki kemampuan untuk saling berikatan dan membentuk agregat atau koloni yang stabil, yang dapat membantu bakteri bertahan di lingkungan usus. Selain itu, *L. plantarum* juga memiliki kemampuan untuk berinteraksi dan menempel pada mukosa usus (Dharmawan *et al.*, 2022). Kemampuan adhesi ini penting karena dapat meningkatkan peluang bakteri untuk berkolonisasi sementara di saluran cerna dan memberikan efek probiotik secara lebih efektif. *L. plantarum* juga menghasilkan senyawa-senyawa antimikroba yang akan merusak membran sel bakteri patogen sehingga pertumbuhannya terhambat (Yufidasari *et al.*, 2021). Evaluasi keamanan juga menjadi bagian penting dalam karakterisasi probiotik seperti tidak menunjukkan aktivitas hemolitik dan tidak membawa gen resistensi antibiotik yang berpotensi ditransfer ke bakteri lain sehingga dapat dipilih isolat *Lactiplantibacillus plantarum* yang memiliki potensi probiotik unggul serta aman.

2.5. Keamanan *Lactiplantibacillus plantarum* untuk Konsumsi Manusia

Keamanan merupakan aspek utama dalam pemanfaatan *Lactiplantibacillus plantarum* sebagai probiotik untuk konsumsi manusia. *L. plantarum* secara umum diakui aman dan banyak dimanfaatkan dalam produk pangan fermentasi, serta termasuk dalam kelompok mikroorganisme berstatus *Generally Recognized as Safe* (GRAS) karena tidak bersifat patogen dan tidak menghasilkan toksin berbahaya. Akan tetapi, keamanan probiotik bersifat spesifik pada tingkat isolat sehingga setiap isolat tetap memerlukan evaluasi sebelum digunakan secara luas. Penilaian

keamanan meliputi uji hemolitik untuk memastikan bakteri tidak melisis sel darah merah, dimana isolat yang aman tergolong γ -hemolitik atau tidak menunjukkan zona hemolisis pada media agar darah (Dwijastuti *et al.*, 2025). Uji sensitivitas antibiotik juga diperlukan untuk mengetahui potensi resistensi antibiotik yang dapat ditransfer ke mikroorganisme lain. Isolat yang aman umumnya sensitif terhadap antibiotik dan tidak membawa gen resistensi yang dapat dipindahkan (*transferable antibiotic resistance genes*) sehingga tidak menularkan sifat resistensi kepada mikroorganisme lain (Sharma *et al.*, 2024). Selain itu, keamanan probiotik juga ditunjukkan dengan tidak adanya faktor virulensi, tidak memproduksi senyawa toksik, dan tidak mengganggu keseimbangan mikrobiota usus.

2.6. Fitur Fungsional *Lactiplantibacillus plantarum*

Lactiplantibacillus plantarum memiliki berbagai fitur fungsional yang mendukung perannya sebagai probiotik dan mikroorganisme fungsional dalam pangan. Salah satu fitur fungsional utama *L. plantarum* yaitu mampu menghasilkan senyawa antioksidan, seperti peptida bioaktif, eksopolisakarida (EPS), glutathione, serta berbagai metabolit lain yang berperan dalam melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif (Tian *et al.*, 2025). Senyawa-senyawa tersebut bekerja melalui mekanisme penangkapan radikal bebas, penghambatan peroksidasi lipid, dan perlindungan terhadap komponen seluler dari kerusakan oksidatif. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa beberapa isolat *L. plantarum* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi berdasarkan pengujian dengan metode DPPH sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai probiotik

fungsional (Farida *et al.*, 2019; Wulandani *et al.*, 2022). Selain itu, *L. plantarum* juga dapat meningkatkan pelepasan atau transformasi senyawa fenolik dari substrat fermentasi menjadi bentuk yang lebih aktif sehingga meningkatkan kapasitas antioksidan selama fermentasi.

2.7. Evaluasi Karakteristik Probiotik

Evaluasi karakteristik probiotik merupakan tahapan penting dalam menentukan kelayakan suatu mikroorganisme sebagai kandidat probiotik. Karakterisasi dilakukan untuk menentukan kemampuan suatu mikroorganisme dalam memberikan manfaat kesehatan serta memastikan keamanannya sebelum digunakan dalam produk pangan. Parameter yang digunakan dalam evaluasi karakteristik probiotik meliputi resistensi terhadap pH, resistensi terhadap garam empedu (*bile salt*), kemampuan autoagregasi dan hidrofobisitas, serta aktivitas antimikroba. Berikut penjelasan lebih rinci mengenai parameter yang diuji pada penelitian ini:

2.7.1. Resistensi terhadap pH

Resistensi terhadap pH merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi karakteristik probiotik karena bakteri yang berpotensi sebagai probiotik harus mampu bertahan hidup pada berbagai kondisi pH di sepanjang saluran pencernaan. Pengujian resistensi terhadap pH bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mempertahankan viabilitasnya pada kondisi pH yang berbeda, yaitu sangat asam pada lambung dan kondisi netral hingga sedikit basa

pada saluran usus. Perubahan pH dapat memengaruhi stabilitas membran sel, aktivitas enzim, transport nutrisi, dan berbagai proses metabolisme bakteri. Kondisi pH yang terlalu rendah dapat menyebabkan kerusakan membran sel, meningkatkan permeabilitas membran, serta mengakibatkan kebocoran komponen intraseluler yang dapat menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian sel, sedangkan kondisi basa dapat mengganggu keseimbangan ion dan homeostasis sel sehingga memengaruhi kelangsungan hidup bakteri (Risna *et al.*, 2022). Oleh karena itu, bakteri yang mampu mempertahankan viabilitasnya pada rentang pH yang luas menunjukkan kemampuan adaptasi yang baik terhadap kondisi saluran pencernaan. Kemampuan bertahan hidup pada kondisi asam, netral, maupun basa merupakan salah satu karakteristik penting kandidat probiotik karena menentukan keberhasilannya melewati lambung dan mencapai usus dalam keadaan hidup serta tetap aktif secara metabolik (Harmoko *et al.*, 2024).

2.7.2. Resistensi terhadap Garam Empedu (*Bile Salt*)

Bakteri probiotik yang dikonsumsi melalui pangan harus mampu bertahan selama melewati saluran pencernaan agar dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya. Setelah melewati kondisi asam di lambung, bakteri akan menghadapi lingkungan usus halus yang mengandung garam empedu. Garam empedu merupakan senyawa yang diproduksi oleh hati dan disekresikan ke dalam usus yang berperan dalam proses emulsifikasi lemak. Senyawa ini dapat mengganggu stabilitas lipid membran sel bakteri, meningkatkan permeabilitas membran, dan menurunkan viabilitas sel (Priadi *et al.*, 2020). Bakteri kandidat

probiotik harus mampu bertahan pada konsentrasi garam empedu yang menyerupai kondisi fisiologis usus halus, yaitu sekitar 0,3%. Konsentrasi tersebut umum digunakan sebagai standar dalam pengujian ketahanan bakteri probiotik terhadap garam empedu secara *in vitro* (Limtrakul *et al.*, 2024).

Ketahanan bakteri terhadap garam empedu berkaitan dengan mekanisme adaptasi tertentu, salah satunya melalui aktivitas enzim *bile salt hydrolase* (BSH) yang berperan dalam proses dekonjugasi garam empedu sehingga mengurangi efek toksiknya terhadap sel bakteri (Wulandari *et al.*, 2024). Aktivitas enzim ini dapat meningkatkan ketahanan bakteri terhadap paparan garam empedu serta meningkatkan kemampuan bakteri probiotik untuk berkolonisasi pada saluran gastrointestinal inang. Bakteri yang memiliki toleransi terhadap garam empedu berpotensi mempertahankan viabilitasnya selama melewati saluran pencernaan serta mampu mencapai usus dalam kondisi aktif (Umiyanti *et al.*, 2019). Oleh karena itu, pengujian resistensi terhadap garam empedu merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan potensi suatu isolat bakteri sebagai probiotik.

2.7.3. Autoagregasi dan Hidrofobisitas

Autoagregasi merupakan kemampuan sel bakteri untuk saling berikatan antar sel yang berasal dari spesies yang sama sehingga membentuk agregat atau kelompok sel (Riani *et al.*, 2020). Agregat dapat menempel pada permukaan mukosa usus sehingga bakteri probiotik dapat bertahan pada usus. Kemampuan ini menjadi salah satu karakter penting dalam menentukan potensi bakteri sebagai probiotik karena berkaitan dengan kemampuan bakteri untuk bertahan dan

berkolonisasi di saluran pencernaan. Proses autoagregasi dipengaruhi oleh interaksi antar komponen permukaan sel bakteri, seperti protein permukaan, polisakarida, dan *lipoteichoic acid* yang berperan dalam proses adhesi antar sel. Bakteri yang memiliki kemampuan autoagregasi yang tinggi cenderung lebih mudah membentuk agregat sehingga dapat meningkatkan stabilitas populasi bakteri di lingkungan saluran pencernaan. Kemampuan autoagregasi juga membantu bakteri probiotik menghambat kolonisasi mikroorganisme patogen karena agregat akan mempersulit bakteri patogen untuk menempel pada permukaan usus (Panjaitan *et al*, 2018).

Hidrofobisitas merupakan sifat permukaan sel bakteri yang memungkinkan terjadinya interaksi antara sel bakteri dengan senyawa atau permukaan yang bersifat hidrofobik. Nilai hidrofobisitas yang tinggi menunjukkan adanya molekul hidrofob pada permukaan sel bakteri yang berperan dalam proses interaksi dengan lingkungan sekitarnya. Hidrofobisitas dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti galur bakteri, media pertumbuhan, umur bakteri, serta struktur permukaan sel bakteri (Panjaitan *et al.*, 2018). Bakteri dengan tingkat hidrofobisitas yang tinggi umumnya memiliki kemampuan adhesi yang lebih baik terhadap permukaan mukosa usus sehingga mampu bertahan di permukaan usus, berkembang biak, dan masuk ke dalam jaringan (Priadi *et al.*, 2020). Oleh karena itu, pengujian autoagregasi dan hidrofobisitas sering digunakan sebagai salah satu parameter dalam karakterisasi bakteri probiotik untuk mengevaluasi kemampuan adhesi dan kolonisasi bakteri di saluran gastrointestinal.

2.7.4. Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba merupakan kemampuan bakteri dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme patogen yang dapat merugikan kesehatan inang (Riadi, 2022). Parameter ini penting untuk menentukan potensi bakteri sebagai probiotik karena berkaitan dengan kemampuan bakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen serta menjaga keseimbangan mikrobiota di saluran pencernaan. Bakteri probiotik, khususnya bakteri asam laktat, diketahui mampu menghasilkan berbagai senyawa antimikroba selama proses metabolisme, seperti asam organik, hidrogen peroksida, diasetil, serta bakteriosin yang masing-masing memiliki mekanisme penghambatan yang berbeda terhadap mikroorganisme patogen (Dwinianti *et al.*, 2025).

Asam organik, seperti asam laktat dan asam asetat, akan menurunkan pH lingkungan sehingga merusak permeabilitas membran sel dan mengganggu aktivitas metabolisme mikroorganisme patogen (Hamidah *et al.*, 2019). Hidrogen peroksida memiliki sifat oksidatif yang dapat merusak komponen sel seperti membran lipid dan protein seluler sehingga menghambat atau mematikan sel patogen. Senyawa diasetil juga diketahui memiliki kemampuan dalam menghambat penggunaan arginin yang penting dalam proses pertumbuhan mikroorganisme tertentu (Indrawati *et al.*, 2023). Selain itu, bakteriosin yang merupakan senyawa protein atau peptida antimikroba bekerja dengan merusak integritas membran sel, membentuk pori pada membran, serta menyebabkan kebocoran komponen intraseluler sehingga menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan lisis sel bakteri target. Oleh karena itu, pengujian aktivitas antimikroba sering digunakan

sebagai salah satu parameter dalam karakterisasi bakteri probiotik untuk mengetahui kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen serta mendukung kesehatan saluran pencernaan.

2.8. Evaluasi Keamanan dengan Resistensi terhadap Antibiotik

Evaluasi keamanan merupakan salah satu aspek penting dalam penentuan potensi bakteri sebagai probiotik sebelum digunakan dalam produk pangan maupun dikonsumsi. Salah satu parameter yang sering digunakan dalam evaluasi keamanan adalah uji resistensi terhadap antibiotik. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat sensitivitas atau ketahanan suatu isolat bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik yang umum digunakan dalam pengobatan infeksi bakteri. Bakteri asam laktat sensitif terhadap kloramfenikol, tetrasiklin, ampicilin, amoksisilin/asam klavulanat, sefalotin, dan imipenem, serta resisten terhadap vankomisin, rifampisin, streptomisin, basitrasin, eritromisin, siprofloksasin, amikasin, trimetoprim, dan gentamisin (Ugi dan Hambali, 2019). Bakteri probiotik yang bersifat resisten terhadap antibiotik berpotensi membawa gen resistensi yang dapat ditransfer ke mikroorganisme patogen di saluran pencernaan melalui mekanisme transfer gen horizontal seperti konjugasi, transformasi, atau transduksi (Kusmiyati *et al.*, 2024).

Resistensi terhadap antibiotik pada bakteri dapat terjadi secara alami (intrinsik) maupun diperoleh (*acquired resistance*) (Putri, 2026). Bakteri yang memiliki resistensi intrinsik umumnya memiliki mekanisme pertahanan alami terhadap antibiotik tertentu, seperti perubahan struktur dinding sel, produksi enzim yang dapat menginaktivasi antibiotik, atau sistem pompa efluks yang mampu

mengeluarkan senyawa antibiotik dari dalam sel. Sementara itu, resistensi yang diperoleh dapat terjadi akibat mutasi genetik atau melalui akuisisi gen resistensi dari bakteri lain yang dibawa oleh elemen genetik bergerak seperti plasmid, transposon, atau integron (Kurnianto dan Syahbanu, 2023). Resistensi jenis ini menjadi perhatian utama karena dapat menyebar antar bakteri melalui plasmid, transposon, atau elemen genetik lainnya. Oleh karena itu, pengujian resistensi antibiotik diperlukan untuk memastikan bahwa isolat bakteri yang digunakan sebagai probiotik tidak membawa gen resistensi yang berpotensi ditransfer kepada bakteri patogen. Hasil pengujian resistensi antibiotik dapat memberikan informasi penting mengenai keamanan penggunaan bakteri probiotik dalam produk pangan.

2.9. Evaluasi Aktivitas Antioksidan

Evaluasi aktivitas antioksidan merupakan salah satu parameter penting dalam karakterisasi bakteri probiotik karena berkaitan dengan kemampuannya dalam menetralkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif dan mudah bereaksi dengan komponen sel (Niaga, 2019). Tubuh dalam kondisi normal memiliki sistem antioksidan yang berfungsi untuk menjaga keseimbangan antara pembentukan radikal bebas dan kemampuan tubuh dalam menetralkannya. Namun, produksi radikal bebas yang melebihi kapasitas sistem antioksidan tubuh akan berpotensi menyebabkan kerusakan yang dikenal sebagai stres oksidatif. Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan berbagai komponen biologis penting, seperti lipid pada membran sel,

protein, serta DNA, yang pada akhirnya dapat berkontribusi terhadap munculnya berbagai penyakit degeneratif, seperti penyakit kardiovaskular, kanker, diabetes, dan proses penuaan dini (Situmorang dan Zulham, 2020).

Beberapa bakteri probiotik diketahui memiliki kemampuan menghasilkan senyawa atau metabolit yang bersifat antioksidan (Mubarok *et al.*, 2019). Aktivitas antioksidan pada bakteri probiotik dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, antara lain dengan menghasilkan senyawa bioaktif seperti asam organik, peptida bioaktif, dan eksopolisakarida yang mampu menangkap radikal bebas. Selain itu, bakteri probiotik juga dapat menghasilkan enzim antioksidan, seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase yang berperan dalam mengubah radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil dan tidak berbahaya. Beberapa isolat bakteri juga mampu meningkatkan aktivitas sistem antioksidan alami dalam tubuh inang melalui interaksi dengan mikrobiota usus dan sistem imun, sehingga dapat membantu memperkuat mekanisme pertahanan tubuh terhadap stres oksidatif (Liyantha dan Afriansyah, 2025). Oleh karena itu, pengujian aktivitas antioksidan menjadi salah satu parameter dalam mengevaluasi potensi fungsional bakteri probiotik dalam memberikan efek protektif terhadap kerusakan sel akibat radikal bebas.

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2025. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan dan Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah.

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi isolat *Lacticplantibacillus plantarum* MTA-1 yang diperoleh dari buah matoa segar. Untuk pengujian potensi probiotik dan aktivitas fungsional, digunakan pula lima isolat bakteri patogen referensi, yaitu *Salmonella typhimurium* FNCC 0050, *Listeria monocytogenes* FNCC 0156, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, sebagai mikroorganisme target dalam uji antimikroba. Media yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) Broth (HiMedia), MRS Agar (Merck), *Nutrient Broth* (Merck), *Nutrient Agar* (Merck), NaOH 0,1N, HCl 0,1N, larutan NaCl 0,85%, *aquades*, xylene, standar McFarland 0,5, garam empedu (*bile salt*), alkohol, garam dapur (Refina), *blank disk*, serta *disk* antibiotik yang meliputi tetrasiklin (TA), klindamisin (DA), eritromisin (E), Penisilin (P), dan ampisilin (AMP).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini mencakup *centrifuge tube*, sentrifugasi inkubator, pH meter ohaus, spektrofotometer, mikropipet, cawan petri

disposable, kuvet plastik, jarum ose, pinset, *cotton swab*, sarung tangan latex, masker, *chlorine*, bunsen, korek api, kertas label, *cling wrap*, *aluminium foil*, spidol, pulpen, erlenmeyer, gelas ukur, gelas beaker, sendok, pipet tetes, timbangan analitik, plastik tahan panas, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *laminar air flow*, koloni *counter*, autoklaf, inkubator, termo *gun*, mikropipet, dan tip.

3.2. Metode Penelitian

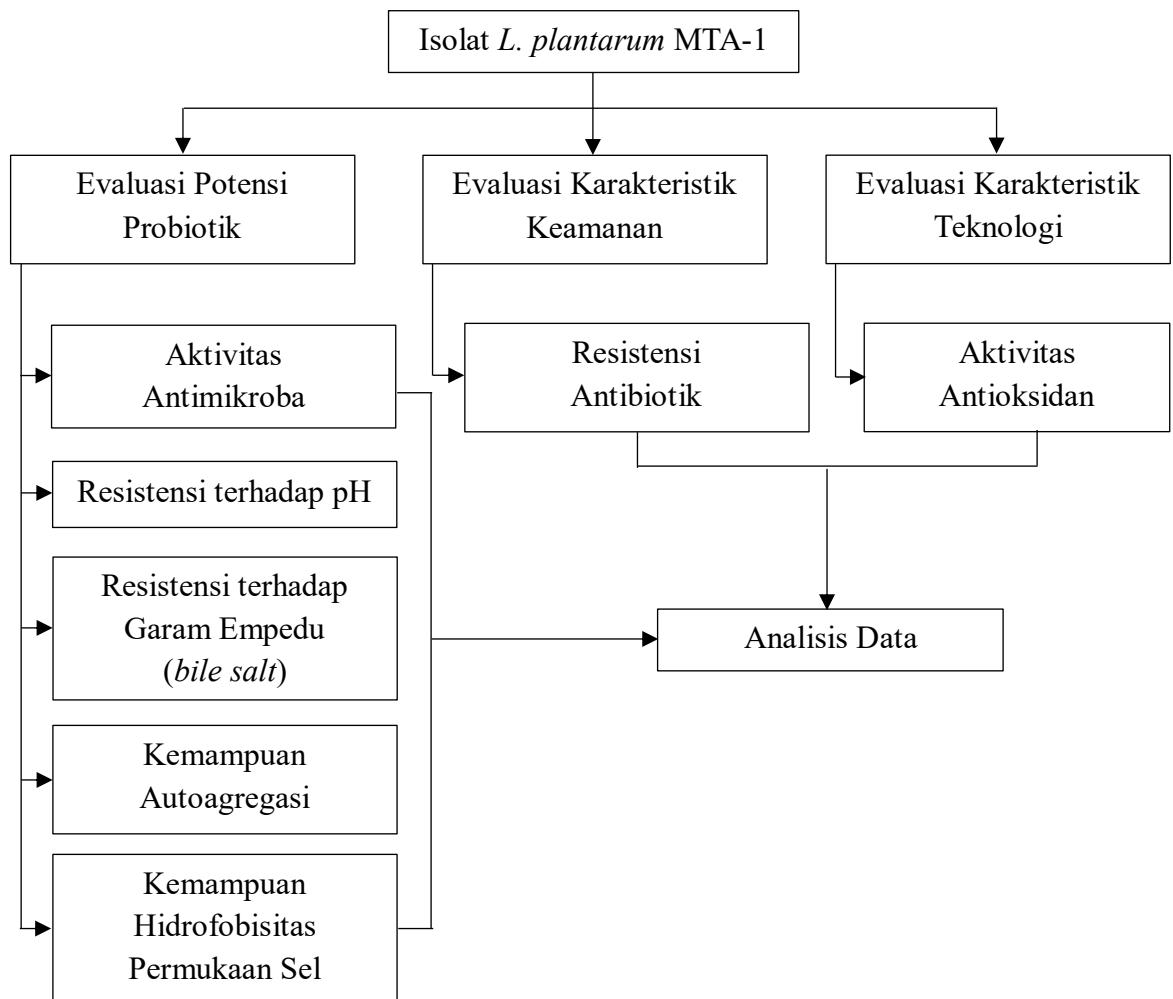
Metode penelitian ini meliputi rancangan penelitian, prosedur penelitian, serta analisis data yang diperoleh berdasarkan hasil pengujian. Metode penelitian tersebut diuraikan sebagai berikut.

3.2.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode penelitian eksploratif-deskriptif. Metode eksploratif digunakan untuk memperoleh informasi awal mengenai suatu objek atau fenomena yang masih belum banyak diteliti, sedangkan metode deskriptif digunakan untuk mendeskripsikan karakteristik objek penelitian secara sistematis dan rinci tanpa menguji hubungan sebab-akibat (Wiraguna, 2024).

3.2.2. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan meliputi inokulasi isolat *L. plantarum*, karakterisasi *L. plantarum*, pengujian sifat fungsional *L. plantarum*, dan analisis data.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Prosedur Penelitian

3.2.2.1. Inokulasi Isolat *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1

Isolat *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 merupakan stok kultur yang diperoleh dari hasil isolasi bakteri asam laktat yang berasal dari buah matoa (*Pometia pinnata*). Isolat tersebut telah diidentifikasi sebagai *Lactiplantibacillus plantarum* dan digunakan sebagai kultur murni dalam penelitian ini. Selanjutnya, inokulasi isolat *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 mengacu pada metode penelitian Monghimani *et al.* (2024). Tahap inokulasi ini bertujuan untuk

memperoleh kultur aktif dengan kondisi fisiologis optimal sebelum digunakan dalam pengujian potensi probiotik. Isolat *L. plantarum* MTA-1 diambil sebanyak 1 mL secara aseptik menggunakan mikropipet, kemudian diinokulasikan ke dalam 9 mL media MRS *broth* steril. Kultur selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, yang merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan bakteri tersebut sehingga memungkinkan sel mencapai fase pertumbuhan aktif. Setelah proses inkubasi, kultur aktif digunakan untuk berbagai pengujian potensi probiotik, meliputi uji resistensi terhadap pH, resistensi terhadap garam empedu, autoagregasi, hidrofobisitas, aktivitas antimikroba, sensitivitas terhadap antibiotik, serta aktivitas antioksidan. Penggunaan kultur aktif bertujuan untuk memastikan hasil pengujian mencerminkan kemampuan fisiologis dan fungsional isolat secara optimal.

3.2.3. Evaluasi Potensi Probiotik

3.2.3.1. Resistensi terhadap pH

Metode pengujian resistensi terhadap pH mengacu pada penelitian Moghimani *et al.* (2024). Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasi isolat bakteri dalam MRS *broth* yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, sebanyak 1 mL sel bakteri disentrifugasi dan disuspensikan kembali dalam larutan NaCl yang telah disesuaikan dengan berbagai tingkat pH, yaitu pH 2 sebagai simulasi kondisi lambung, pH 8 sebagai simulasi kondisi usus halus, dan pH 7 sebagai kontrol. Pengamatan awal (H₀) dilakukan dengan melakukan pengenceran berseri dari 10⁻¹ hingga 10⁻⁸ pada masing-masing perlakuan pH, kemudian sebanyak 1 mL dari pengenceran 10⁻⁶ hingga 10⁻⁸ diinokulasikan ke dalam cawan

petri *disposable* dan ditambahkan media MRS agar steril, lalu dihomogenkan menggunakan metode *pour plate* dengan gerakan membentuk angka delapan. Suspensi isolat *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 jam, kemudian dilakukan pengamatan lanjutan (H3) dengan prosedur pengenceran berseri dari 10⁻¹ hingga 10⁻⁷. Sebanyak 1 mL dari pengenceran 10⁻⁵ hingga 10⁻⁷ dituang ke dalam cawan petri dan ditambahkan MRS agar steril, kemudian dihomogenkan kembali menggunakan metode *pour plate*. Seluruh cawan kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam kondisi anaerob. Uji viabilitas sel ditentukan berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh, sehingga dapat digunakan untuk menilai tingkat ketahanan bakteri terhadap variasi pH yang dinyatakan sebagai *survival rate*. Nilai *survival rate* dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Survival Rate (\%)} = \frac{H_3}{H_0} \times 100$$

Keterangan:

H0 : jumlah koloni awal sebelum perlakuan

H3: jumlah koloni setelah inkubasi 3 jam pada pH 2, pH 7, dan pH 8

3.2.3.2. Resistensi terhadap Garam Empedu

Pengujian resistensi terhadap garam empedu (*bile salt*) mengacu pada penelitian Monghimani *et al.* (2024). Pengujian diawali dengan menumbuhkan isolat *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 dalam media MRS *broth* yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam hingga mencapai fase pertumbuhan aktif. Kultur aktif kemudian diinokulasikan ke dalam media MRS *broth* yang telah

ditambahkan *bile salt* 0,3%. Pengamatan sebelum inkubasi (H0) dilakukan dengan pengenceran berseri dari 10^{-1} hingga 10^{-7} menggunakan larutan NaCl 0,85% steril. Sebanyak 1 mL dari pengenceran 10^{-5} hingga 10^{-7} diinokulasikan ke dalam cawan petri *disposable*, kemudian ditambahkan media MRS agar steril dan dihomogenkan menggunakan metode *pour plate* dengan gerakan membentuk angka delapan agar bakteri tersebar merata. Suspensi isolat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam, dilanjutkan dengan pengamatan setelah inkubasi (H4). Setelah diinkubasi, dilakukan kembali pengenceran berseri dari 10^{-1} hingga 10^{-6} menggunakan larutan NaCl 0,85% steril. Sebanyak 1 mL dari pengenceran 10^{-4} hingga 10^{-6} diinokulasikan ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan MRS agar steril dan dihomogenkan kembali seperti pada tahap H0. Seluruh cawan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam kondisi anaerob. Setelah itu, viabilitas sel ditentukan berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh. Nilai viabilitas ini digunakan untuk menilai tingkat ketahanan bakteri terhadap *bile salt* yang dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Survival Rate (\%)} = \frac{H_4}{H_0} \times 100$$

Keterangan:

H0 : jumlah koloni awal sebelum inkubasi

H4 : jumlah koloni setelah inkubasi 4 jam

3.2.3.3. Autoagregasi dan Hidrofobisitas Permukaan Sel

Pengujian autoagregasi mengacu pada penelitian Monghimani *et al.* (2024).

Pengujian diawali dengan menumbuhkan isolat *Lactiplantibacillus plantarum*

MTA-1 dalam media MRS *broth* yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk memperoleh pelet sel. Pelet bakteri selanjutnya dicuci sebanyak tiga kali menggunakan larutan NaCl steril 0,85% untuk menghilangkan sisa media, kemudian disuspensikan kembali dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Suspensi bakteri diinkubasi kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 600 nm menggunakan spektrofotometer pada waktu awal (H0), serta setelah inkubasi selama 6 jam (H6) dan 24 jam (H24). Persentase autoagregasi dihitung berdasarkan penurunan nilai absorbansi menggunakan rumus:

$$\text{Autoagregasi (\%)} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_1} \times 100$$

Keterangan:

A0: absorbansi awal sebelum inkubasi

A1: absorbansi setelah inkubasi 6 jam dan 24 jam

Pengujian hidrofobisitas menggunakan metode yang mengacu pada penelitian Monghimani *et al.* (2024). Pengujian diawali dengan menumbuhkan isolat *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 dalam media MRS *broth* yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk memperoleh pelet sel. Pelet bakteri dicuci sebanyak tiga kali menggunakan larutan NaCl steril 0,85% untuk menghilangkan sisa media, kemudian disuspensikan kembali dalam larutan yang sama. Suspensi sel selanjutnya dicampurkan dengan xylene dalam rasio 3:1 (v/v) lalu divortex selama 2 menit untuk membentuk emulsi. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam hingga terjadi pemisahan fase, setelah itu

absorbansi fase air diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Nilai hidrofobisitas dihitung berdasarkan penurunan absorbansi dengan rumus:

$$\text{Hidrofobisitas (\%)} = 1 - \frac{A_1}{A_0} \times 100$$

Keterangan:

A₀: nilai absorbansi awal pada 600 nm

A₁: nilai absorbansi akhir pada 600 nm

3.2.3.4. Aktivitas Antimikroba

Metode pengujian aktivitas antimikroba mengacu pada penelitian Monghimani *et al.* (2024). Pengujian dilakukan menggunakan empat bakteri patogen, yaitu *Salmonella typhimurium* FNCC 0050, *Listeria monocytogenes* FNCC 0156, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*. Masing-masing bakteri patogen sebanyak 1 mL diinokulasikan ke dalam 9 mL MRS *Broth* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur patogen kemudian disentrifugasi dan dicuci dua kali menggunakan larutan NaCl 0,85% steril, lalu disuspensikan kembali dan disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5. Sementara itu, kultur *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 dipersiapkan dengan menginokulasikan 1 mL kultur ke dalam 9 mL MRS *broth* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian disentrifugasi dan dicuci untuk memperoleh supernatan sebagai sumber senyawa antimikroba. Selanjutnya, MRS agar steril dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat, kemudian suspensi bakteri patogen diinokulasikan secara merata pada permukaan media menggunakan *cotton swab*.

Blank disk diambil menggunakan pinset steril lalu direndam dalam supernatan selama 10 menit, kemudian sebanyak 3 *disk* diletakkan di atas permukaan media secara acak dengan jarak yang cukup antar *disk*. Seluruh cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan aktivitas antimikroba ditentukan berdasarkan terbentuknya zona hambat di sekitar *disk*. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm). Pengukuran dilakukan hanya pada zona bening yang terbentuk di sekeliling *blank disk*, sehingga diameter *blank disk* (6 mm) tidak termasuk dalam hasil pengukuran. Apabila zona hambat berbentuk lingkaran sempurna, pengukuran dilakukan pada dua arah yang saling tegak lurus, kemudian hasil pengukuran dirata-ratakan. Sedangkan, zona hambat yang tidak berbentuk lingkaran sempurna diukur pada enam arah yang berbeda melalui titik pusat *blank disk*, kemudian seluruh hasil pengukuran dirata-ratakan untuk memperoleh nilai diameter zona hambat. Nilai rata-rata tersebut selanjutnya digunakan untuk menentukan kategori aktivitas antimikroba.

3.2.3.5. Evaluasi Keamanan dengan Resistensi terhadap Antibiotik

Pengujian sensitivitas terhadap antibiotik mengacu pada penelitian Monghimani *et al.* (2024). Uji resistensi antibiotik terhadap isolat dilakukan menggunakan metode *disk diffusion method*. Pengujian diawali dengan menginokulasikan *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 dalam media MRS broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur aktif diinokulasikan secara merata pada permukaan media MRS agar menggunakan *cotton swab* steril. *Disk* antibiotik yang digunakan meliputi penisilin, ampicilin (10 µg/disk), eritromisin (15

$\mu\text{g/disk}$), tetrasiklin ($30 \mu\text{g/disk}$), dan klindamisin. Seluruh *disk* antibiotik diambil menggunakan pinset steril dan diletakkan di atas permukaan media MRS agar dengan jarak yang cukup antar disk untuk mencegah tumpang tindih zona hambat. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat pada masing-masing *disk* antibiotik diukur menggunakan jangka sorong. Apabila zona hambat berbentuk lingkaran sempurna, pengukuran dilakukan pada dua arah yang saling tegak lurus dan dirata-ratakan. Namun, apabila zona hambat tidak berbentuk lingkaran sempurna, pengukuran dilakukan pada enam arah melalui titik pusat *disk* antibiotik, kemudian seluruh hasil pengukuran dirata-ratakan.

3.2.3.6. Evaluasi Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan mengacu pada penelitian Monghimani *et al.* (2024) menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Pengujian dilakukan dengan mencampurkan volume yang sama dari *cell free supernatant* (CFS) *Lactiplantibacillus plantarum* MTA-1 dengan 1,5 mL larutan DPPH yang dilarutkan dalam metanol 0,4 mmol. Campuran tersebut dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C dalam kondisi gelap selama 1 jam untuk mencegah degradasi DPPH akibat paparan cahaya. Setelah inkubasi, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Kontrol yang digunakan pada pengujian ini berupa campuran 1,5 mL larutan DPPH dan 1,5 mL metanol. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase *radical scavenging activity* yang dihitung menggunakan rumus berikut:

$$scavenging\ activity\ (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

Keterangan:

A0: absorbansi larutan kontrol (DPPH + metanol)

A1: absorbansi larutan sampel (DPPH + CFS isolat)

3.2.4. Analisis Data

Analisis data hasil percobaan dilakukan menggunakan Microsoft Excel 2021 yang disajikan dalam bentuk *mean* dan standar deviasi. Hasil analisis data akan disajikan secara deskriptif.