

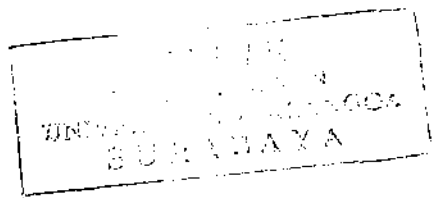
1. LACTOBACILLUS CASEI
2. SALMONELLA TERHADAP PERTUMBUHAN
3. ESCHERICHIA COLI

KK  
TKD. 13/00  
Win  
u

**Tesis**

**DAYA KERJA FILTRAT BIAKAN DAN BIAKAN HIDUP  
*Loctobacillus casei* Subsp. *Shirota* TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* DAN  
*Escherichia coli* IN VITRO**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK**



**RUDJU WINARSA**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1999**

**DAYA KERJA FILTRAT BIAKAN DAN BIAKAN HIDUP  
*Lactobacillus casei* Subsp. *Shirota* TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* DAN  
*Escherichia coli* IN VITRO**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK**

**TESIS**

**Untuk Memperoleh Gelar Magister  
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Pada Program Pascasarjana  
Universitas Airlangga**

**Oleh**

**RUDJU WINARSA  
NIM. 099612226M**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1999**

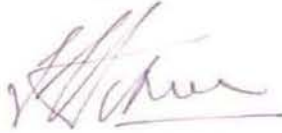
**Halaman Pengesahan**

**Tesis Ini Telah Disetujui**

**Tanggal November 1999**

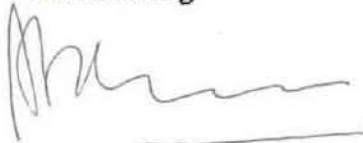
**Oleh :**

**Pembimbing Utama**



**Setio Harsono, dr., MS., DSMK  
NIP. 130 610 097**

**Pembimbing**



**Prof. Atasiati Idajadi, dr., DSMK  
NIP. 130 126 215**

**Mengetahui**

**Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga**



**Soetjipto, dr., MS., Ph.D.  
NIP. 130 687 606**

**Telah Diuji Pada**

**Tanggal 6 Oktober 1999**

---

**PANITIA PENGUJI TESIS**

**Ketua : Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., DSMK**

**Anggota : 1. Prof. Atasiati Idajadi, dr., DSMK**

**2. dr. Setio Harsono, MS., DSMK**

**3. dr. Muhammad Cholil Munif**

**4. Ir. Siti Hartanti, MS**

## UCAPAN TERIMA KASIH

Rasa syukur dipanjatkan kepada Allah SWT karena atas rahmah dan hidayahnya kami dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang diberi judul “Daya Kerja Filtrat Biakan dan Biakan Hidup *Lactobacillus casei* Subsp. *Shirota* Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli* *In vitro* “

Maksud dan tujuan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Dengan terselesainya tulisan ini, semata-mata tidak hanya karena kerja keras kami sendiri, namun semata-mata berkat bimbingan, dorongan dan bantuan terutama Dosen pembimbing dan penguji serta kerabat di sekitar kami dan tentunya keluarga saya. Dalam kesempatan ini sudah sepantasnya diucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada :

1. dr. Setio Harsono, MS., DSMK selaku dosen pembimbing utama yang sudi disela-sela kesibukannya telah meluangkan waktunya, dengan bijak, sabar serta perhatian penuh telah membimbing dalam penelitian maupun penyusunan tulisan ini
2. Prof. Atasiati Idajadi, dr., DSMK., sebagai dosen pembimbing dan sekaligus sebagai Ketua Minat Studi Mikrobiologi yang banyak memberi saran dan arahan dalam penelitian maupun penulisan naskah ini.
3. Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., M.S., DSMK, sebagai dosen penguji yang telah memberikan banyak saran dan kritik membangun dalam penyempurnaan tulisan ini
4. Ir. Siti Hartanti, MS., sebagai dosen penguji yang telah memberikan banyak saran dan kritik membangun dalam penyempurnaan tulisan ini

5. Dr. Muhammad Cholil Munif, sebagai dosen pembimbing statistik yang telah memberikan masukan-masukan dalam menginterpretasikan dan mengolah data hingga terselesainya tulisan ini.

Selain itu secara khusus disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu secara material maupun spiritual antara lain :

1. Mendikbud melalui Program TMPD yang telah secara penuh memberikan biasasinya mulai dari kuliah hingga terselesainya program ini
2. Rektor Universitas Airlangga Surabaya, yang telah memberi kesempatan untuk mengikuti Program Pascasarjana di Universitas Airlangga
3. Direktur Pascasarjana Universitas Airlangga dan seluruh jajaran sivitas akademika yang telah membantu baik fasilitas maupun administrasi
4. PT Indofood Jakarta melalui Ibu Eva Rijanti Hutapea yang telah memberikan bantuan dananya yang cukup untuk penelitian
5. Dekan Fakultas MIPA Universitas Jember, yang telah memberikan fasilitas berupa laboratorium untuk penelitian
6. Soetjipto, dr., MS., PhD. selaku Ketua Program Ilmu Kedokteran Dasar yang telah banyak membantu dalam kelancaran studi kami
7. Bapak Ibu teknisi, laboran dan administrasi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, yang telah banyak membantu dalam kelancaran studi kami
8. Teman-teman satu minat studi yang secara tidak langsung memberi dorongan moral dalam kelancaran studi dan penyusunan tesis ini
9. Istriku Dra. Unik Mumpuni dan kedua anakku yang tercinta Afi Adi Kirana dan Dwita

Mega Ratu yang telah banyak memberi dorongan moral untuk menyelesaikan tesis ini.

10. Ibu Soepiadi dan Bapak Alamarhum beserta saudara-saudaraku yang kami cintai yang telah mendorong secara moral dan materi dalam menyelesaikan tesis ini.

Untuk itu semua, mudah-mudahan tulisan ini dapat bermanfaat.

Rudju Wiansa

## Ringkasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh filtrat hasil biakan dan biakan hidup *Lactobacillus casei* Subsp. *Shirota* terhadap pertumbuhan *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli in vitro*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Dengan menggunakan metoda *plate viable count* dan mengukur diameter koloni kuman yang muncul maka dapat diketahui daya hambat filtrat terhadap pertumbuhan kuman. Adapun data diolah dengan analisis varian yang dilanjutkan dengan uji LSD. Selain itu dilakukan analisis varian regresi linier maupun kuadrat, untuk mengetahui hubungan filtrat dan reduksi jumlah lempeng total kuman dan diameter koloni kuman.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara *in vitro* filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* ( $P < 0,05$ ). Selain itu ada hubungan yang signifikan regresi linier dan kuadrat antara filtrat yang ditambahkan pada medium dengan reduksi jumlah lempeng total kuman (Signif.  $F < 0,05$ ). Semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium, semakin tereduksi jumlah lempeng total kuman maupun ukuran diameter koloni kuman. Penambahan biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* tidak berpengaruh terhadap reduksi jumlah lempeng total kuman maupun tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* dan *S. flexneri*, tetapi berpengaruh terhadap reduksi jumlah lempeng total kuman *E. coli* dan tidak berpengaruh signifikan pada reduksi tambahan ukuran diameter kuman *E. coli*.



## Abstract

In this study the effect of filtrate and isolates *Lactobacillus casei* Subsp. *Shirota* to control of *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* and *Escherichia coli* bacterias in vitro were tested. *L. casei* Subsp. *Shirota* were fermented for their lactic acid, diacetyl, hydrogen peroxide and bacteriocin etc production and of their inhibition of *S. typhimurium*, *S. flexneri* and *E. coli*. Data would collected from enumeration of viable count and measurement of colony diameter. The data were analyzed by analyzed of variance followed by LSD test. Regression linier and quadratic analyzed were applied to cover their relationship between the filtrate and total viable count and colony diameter of pathogen bacterias. The filtrate showed to inhibit *S. typhimurium*, *S. flexneri* and *E. coli*, but isolates 1.000 to 10.000 times number of pathogen bacterias did not significant to inhibit *S. typhimurium* and *S. flexneri* but significant inhibited *E. coli*. Inhibition of their pathogen bacterias in vivo by filtrate and isolates is suggested.

---

**Keywords :** *L. casei* Subsp. *Shirota*

Filtrate

Inhibition

*S. typhimurium*, *S. flexneri* and *E. coli*

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
UCAPAN TERIMAKASIH .....	iii
RINGKASAN .....	v
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang dan Permasalahan .....	2
1.2 Perumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.3.1 Tujuan Umum .....	6
1.3.2 Tujuan Khusus .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	8
2.1 Makanan dan Minuman Terfermentasi .....	9
2.2 Bakteri Asam Laktat .....	9

	<b>Halaman</b>
2.2.1 Tinjauan umum.....	9
2.2.2 Fisiologi dan Biokimia .....	10
2.2.3 Senyawa-senyawa Anti Bakteri yang Dihasilkan Bakteri	
Asam Laktat .....	13
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA PENELITIAN .....</b>	<b>18</b>
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	18
3.2 Hipotesis Penelitian .....	20
<b>BAB 4. METODA PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	21
4.1.1 Uji daya kerja filtrat <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> ..terhadap kuman uji.....	21
4.1.2 Pengaruh kultur hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap kuman uji .....	22
4.2 Sampel Penelitian .....	23
4.3 Variabel Penelitian .....	24
4.4 Bahan-bahan Penelitian .....	27
4.5 Alat-alat yang Digunakan Dalam Penelitian .....	30
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	31
4.7 Prosedur Pengumpulan Data .....	31
4.8 Tahap Pelaksanaan Penelitian .....	33
4.9 Cara Analisis Data .....	36

	Halaman
<b>BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA .....</b>	<b>37</b>
<b>5.1 Pengaruh Filtrat Terhadap Kuman .....</b>	<b>37</b>
5.1.1 Pengaruh filtrat terhadap kuman <i>S. typhimurium</i> .....	37
5.1.2 Pengaruh filtrat terhadap kuman <i>S. flexneri</i> .....	44
5.1.3 Pengaruh filtrat terhadap kuman <i>E. coli</i> .....	51
<b>5.2 Pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap kuman .....</b>	<b>57</b>
5.2.1 Pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap kuman <i>S. typhimurium</i> .....	57
5.2.2 Pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap kuman <i>S. flexneri</i> .....	62
5.2.3 Pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap kuman <i>E. coli</i> .....	66
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>72</b>
<b>6.1 Pengaruh Filtrat Hasil Pertumbuhan <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap         kuman .....</b>	<b>72</b>
6.1.1 <i>S. typhimurium</i> .....	72
6.1.2 <i>S. flexneri</i> .....	76
6.1.3 <i>E. coli</i> .....	78
<b>6.2 Pengaruh Biakan Hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> Terhadap kuman .....</b>	<b>81</b>
6.2.1 <i>S. typhimurium</i> ... ..	81
6.2.2 <i>S. flexneri</i> .....	83
6.2.3 <i>E. coli</i> .....	86

	<b>Halaman</b>
<b>BAB 7. SIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>89</b>
<b>7.1 Simpulan</b> .....	<b>89</b>
<b>7.2 Saran-saran</b> .....	<b>89</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>91</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>95</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
<b>5.1 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman</b>	
<i>S. typhimurium</i> .....	38
<b>5.2 Beda signifikan antara perlakuan pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total</b>	
kuman <i>S. typhimurium</i> .....	38
<b>5.3 a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total</b>	
kuman <i>S. typhimurium</i> .....	40
<b>5.3b. Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total</b>	
kuman <i>S. typhimurium</i> .....	40
<b>5.4 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman</b>	
<i>S. typhimurium</i> .....	41
<b>5.5 Beda signifikan antar perlakuan pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter</b>	
koloni kuman <i>S. typhimurium</i> .....	41
<b>5.6a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap ukuran koloni</b>	
kuman <i>S. typhimurium</i> .....	43
<b>5.6b. Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni</b>	
kuman <i>S. typhimurium</i> .....	43
<b>5.7 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap jumlah total kuman <i>S. flexneri</i></b> .....	44
<b>5.8 Beda signifikan antara perlakuan pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total</b>	
kuman <i>S. flexneri</i> .....	45

<b>5.9 a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total</b>	
kuman <i>S. flexneri</i> .....	46
<b>5.9b. Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total</b>	
kuman <i>S. flexneri</i> .....	46
<b>5.10 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman</b>	
<i>S. flexneri</i> .....	47
<b>5.11 Beda signifikan antar perlakuan pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter</b>	
koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	48
<b>5.12a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap ukuran koloni</b>	
kuman <i>S. flexneri</i> .....	50
<b>5.12b. Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap ukuran koloni</b>	
kuman <i>S. flexneri</i> .....	50
<b>5.13 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap jumlah total kuman <i>E. coli</i></b> .....	51
<b>5.14 Beda signifikan antara perlakuan pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total</b>	
kuman <i>E. coli</i> .....	51
<b>5.15a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total</b>	
kuman <i>E. coli</i> .....	52
<b>5.15b. Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total</b>	
kuman <i>E. coli</i> .....	53
<b>5.16 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman <i>E. coli</i></b> .....	54
<b>5.17 Beda signifikan antar perlakuan pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter</b>	
koloni kuman <i>E. coli</i> .....	55

	<b>Halaman</b>
5.18a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman <i>E. coli</i> .....	56
5.18b. Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap kuman <i>E. coli</i> .....	56
5.19 Pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap jumlah lempeng total kuman <i>S. typhimurium</i> .....	57
5.20a. Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap jumlah lempeng total kuman <i>S. typhimurium</i> .....	58
5.20b. Analisis varian regresi kuadratik pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap jumlah lempeng total kuman <i>S. typhimurium</i> .....	59
5.21 Analisis varian pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> .....	59
5.22a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> .....	61
5.22b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran koloni kuman <i>S. typhimurium</i> .....	63
5.23 Analisis varian pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap jumlah lempeng total <i>S. flexneri</i> .....	62
5.24a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	63
5.24b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	63



5.25 Analisis varian pengaruh biakan hisup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	64
5.26a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	65
5.26b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	66
5.27 Analisis varian pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap jumlah lempeng total kuman <i>E. coli</i> .....	67
5.28 Beda signifikan antar perlakuan <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap jumlah lempeng total kuman <i>E. coli</i> .....	67
5.29a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup terhadap jumlah lempeng total kuman <i>E. coli</i> .....	68
5.29b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh biakan hidup terhadap jumlah lempeng total kuman <i>E. coli</i> .....	68
5.30 Analisis varian pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>E. coli</i> .....	69
5.31a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>E. coli</i> .....	70
5.31b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran koloni kuman <i>E. coli</i> .....	70
5.32 Nilai-nilai perbandingan antar kuman uji terhadap filtrat .....	71

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Jalur EMP, kelompok bakteri asam laktat homofermentatif, <i>L. casei</i> .....	10
3.2 Bagan kerangka konseptual penelitian .....	19
3.3 Bagan konsep daya kerja filtrat terhadap kuman uji .....	21
3.4 Bagan pengaruh kultur hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shtrota</i> terhadap kuman uji .....	22
5.1 Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman <i>S. typhimurium</i> .....	39
5.2 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman <i>S. typhimurium</i> pada filtrat .....	40
5.3 Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> .....	42
5.4 Pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> perbandingan antara kontrol (0% filtrat vs 7% filtrat).....	43
5.5 Hubungan regresi ukuran diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> pada filtrat ... ..	44
5.6 Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman <i>S. flexneri</i> .....	46
5.7 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman <i>S. flexneri</i> pada filtrat .....	47
5.8 Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	49
5.9 Pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> : perbandingan ukuran koloni kontrol (0% filtrat) vs 5% filtrat.....	49
5.10 Hubungan regresi diameter koloni <i>S. flexneri</i> pada filtrat .....	50
5.11 Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman <i>E. coli</i> .....	53
5.12 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman <i>E. coli</i> pada filtrat .....	54
5.13 Pengaruh filtrat terhadap ukuran koloni kuman <i>E.coli</i> .....	56
5.14 Pengaruh filtrat terhadap koloni kuman <i>E. coli</i> : perbandingan antara kontrol (0% filtrat ) vs 2,5 % filtrat .....	56

5.15 Hubungan regresi ukuran diameter koloni kuman <i>E. coli</i> pada filtrat .....	57
5.16 Pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> hidup terhadap jumlah lempeng total kuman <i>S. typhimurium</i> .....	59
5.17 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman <i>S. typhimurium</i> pada rasio biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> .....	60
5.18 Pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> .....	62
5.19 Hubungan regresi tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> pada rasio biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> .....	65
5.20 Pengaruh biakan hidup terhadap jumlah lempeng total kuman <i>S. flexneri</i> .....	65
5.21 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman <i>S. flexneri</i> pada rasio biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> .....	66
5.22 Pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	67
5.23 Hubungan regresi antara tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> pada rasio biakan <i>L. casei</i> .....	68
5.24 Pengaruh <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap jumlah lempeng total kuman <i>E. coli</i> .....	70
5.25 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman <i>E. coli</i> pada rasio <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> hidup .....	71
5.26 Pengaruh biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>E. coli</i> .....	72
5.27 Hubungan regresi tambahan ukuran diameter koloni kuman <i>E. coli</i> pada rasio biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> .....	73

## DAFTAR LAMPIRAN

No. Lampiran	Halaman
1. Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total <i>S. typhimurium</i> ... ..	95
2. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total <i>S. typhimurium</i> .....	95
3. Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> .....	97
4. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> .....	97
5. Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total <i>S. flexneri</i> .....	99
6. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total <i>S. flexneri</i> ... ..	99
7. Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	101
8. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> .....	102
9. Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total <i>E. coli</i> .....	103
10. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total <i>E. coli</i> .....	103
11. Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman <i>E. coli</i> .....	105
12. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman <i>E. coli</i> .....	105
13. Pengaruh <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> terhadap jumlah lempeng total <i>S. typhimurium</i>	107

14. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup terhadap jumlah lempeng total *S. typhimurium* ..... 107

15. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap diameter tambahan koloni kuman *S. typhimurium* ..... 109

16. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup terhadap diameter koloni kuman *S. typhimurium* ..... 109

17. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total *S. flexneri* .... 110

18. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup terhadap jumlah lempeng total *S. flexneri* ..... 110

19. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap diameter tambahan koloni kuman *S. flexneri* ..... 111

20. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup terhadap diameter koloni kuman *S. flexneri* ..... 112

21. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total *E. coli* ..... 115

22. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup terhadap jumlah lempeng total *E. coli* ..... 113

23. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap diameter tambahan koloni kuman *E. coli* ..... 115

24. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup terhadap diameter tambahan koloni kuman *E. coli* .....115

25. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total *S. typhimurium* pada filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota* (Lihat data lampiran 1) .....117

26. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> pada filtrat <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 3).....	118
27. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total kuman <i>S. flexneri</i> pada filtrat <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 5) .....	119
28. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> pada filtrat <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 7).....	120
29. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total <i>E. coli</i> pada filtrat <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 9) .....	121
30. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni kuman <i>E. coli</i> pada filtrat <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 11).....	122
31. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total <i>S. typhimurium</i> pada biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 13) .....	123
32. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan diameter koloni kuman <i>S. typhimurium</i> pada biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 15).....	124
33. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total kuman <i>S. flexneri</i> pada biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 17) ...	125
34. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni kuman <i>S. flexneri</i> pada biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 19).....	126
35. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total <i>E. coli</i> pada biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 21) .....	127
36. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni kuman <i>E. coli</i> pada biakan hidup <i>L. casei</i> Subsp. <i>Shirota</i> (Lihat data lampiran 23) .....	128

## BAB 1

## PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang dan Permasalahan

Masyarakat Indonesia mengenal berbagai jenis makanan dan minuman terfermentasi sejak lama. Makanan dan minuman terfermentasi dibuat dengan bantuan mikrona atau enzimnya. Peran mikroba atau enzimnya mampu mengubah bahan mentah (*raw material*) menjadi produk makanan yang memiliki sifat fisis maupun kemis berbeda dengan bahan asalnya. Sebagai contoh makanan dan minuman terfermentasi antara lain tempe, growol, gatot, asinan, moromi, yoghurt, yakult, yomost, susu asam dan lain-lain.

Berbagai jenis mikroba dapat ditambahkan dari luar dengan cara menginokulasikan kultur murni atau campuran sesuai yang dikehendaki, atau dapat pula dengan cara spontan (serta-merta, ada dengan sendirinya). Secara tidak sengaja mikroba bersama-sama hasil metabolismenya dianggap berperan sebagai *biosafety* terhadap produknya sendiri. Akibatnya, makanan atau minuman tersebut menjadi lebih awet karena dapat terhindar dari bakteri pembusuk ataupun patogen (Rahayu *et al.* 1995). Dalam beberapa penelitian terdahulu terbukti bahwa mikroba yang tumbuh dan berperan dalam proses perubahan makanan atau minuman tersebut mampu mensintesis berbagai senyawa tertentu yang mempunyai sifat sebagai bahan penghambat bakteri (bakteriostatik) bahkan sebagai pembunuh (bakteriosidik) terhadap bakteri lain, baik pembusuk ataupun patogen.

Fakta terbukti secara turun-temurun, makanan ataupun minuman terfermentasi tidak membahayakan jika dikonsumsi. Kelompok bakteri tertentu sering dijumpai berperan aktif dalam fermentasi, contohnya bakteri asam laktat. Kelompok bakteri asam laktat sering



digunakan dalam proses fermentasi berbagai bahan padat ataupun cair. Bakteri asam laktat yang sering digunakan dalam fermentasi meliputi *Streptococcus* spp yang berperan pada fermentasi tempe yang kedaluarsa (*over fermented*)(Steinkraus, 1989), *Pediococcus* spp dan *Lactobacillus* spp pada fermentasi moromi (kecap) (Rahayu *et al.* 1995). *Streptococcus* spp dan *Lactobacillus* spp pada fermentasi growol (Wibowo, 1993), *S. thermophilus* dan *L. fermentum*, serta khususnya *L. casei* sering digunakan dalam fermentasi susu cair (Anonim, 1989). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri asam laktat tumbuh dengan sendirinya dalam diversifikasi makanan dan minuman.

Beberapa tahun belakangan ini makin banyak dijual di pasaran berbagai merek produk minuman menggunakan cara fermentasi dengan bakteri asam laktat yang berasal dari bahan dasar susu. Produk minuman susu terfermentasi (*fermented milk*) tersebut menggunakan spesies dan subspecies bakteri asam laktat tertentu, di antaranya *L. casei* Subsp. *Shirota*, *L. casei* Subsp. *fermentum*, *L. casei* Subsp. *ramnosus*, *L. casei* Subsp. *casei*, *L. casei* Subsp. *sake* dan lain-lain. Namun pada umumnya pemilihan jenis dan subsp. ini didasarkan tujuan fermentasi, yaitu untuk memperoleh *flavor* yang khas dan sekaligus untuk mendapatkan minuman yang menyehatkan jika dikonsumsi. Menyehatkan yang dimaksud adalah bahan makanan ataupun minuman terfermentasi tersebut mengandung bahan-bahan hasil metabolisme dan dapat meningkatkan nilai cerna menjadi lebih baik. Selain itu metabolit-metabolit yang dihasilkan selama fermentasi oleh bakteri asam laktat dapat menekan pertumbuhan, bahkan mampu mengeliminasi bakteri pembusuk dan patogen serta dapat memperkuat sistem pencernaan (Muller dan Radler, 1993; Vignolo *et al.* 1993; Vescovo *et al.* 1996).



Entropatogen merupakan kelompok bakteri usus, beberapa jenis di antaranya sering menimbulkan kasus infeksi usus. Infeksi, kolonisasi dan perusakan jaringan serta perforasi pada dinding saluran pencernaan yang ditimbulkannya sering dijumpai menimbulkan kasus infeksi kronis ataupun akut yang sering berakibat fatal. Selain itu juga sering ditemukan sebagai kasus-kasus infeksi endemik seperti di suatu wilayah kumuh, tempat pengungsian, tempat-tempat bencana banjir bahkan sampai menu di restoran ataupun menu di pesawat terbang (Winarno, 1995). Namun hal yang perlu dicatat bahwa asal infeksi kuman enteropatogen adalah berasal dari makanan dan minuman kebutuhan sehari-hari antara lain daging, ikan, susu, sayur-sayuran, umbi serta buah-buahan dan air minum yang membawa kuman. Adapun kuman-kuman enteropatogen yang sering dijumpai dapat mengkontaminasi makanan dan minuman sehari-hari meliputi *S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. typhimurium*, *S. flexneri*, *S. sonnei*, *S. dysenteriae*, *Vibrio* spp, *E. coli* dan lain-lain. Berikut ini contoh beserta penyakit yang ditimbulkannya di antaranya *typhoid fever* yaitu penyakit yang ditimbulkan oleh kelompok kuman *Salmonella* sp, diare basiler yaitu penyakit yang ditimbulkan oleh *Shigella* sp dan *Vibrio* sp juga *E. coli*, khususnya *E. coli* selain dapat berasal komensal dan oportunistis, namun pada belakangan ini kuman tersebut ditemukan menjadi patogen yang hemoragik.

Penyakit-penyakit enterik basiler seperti disebutkan di atas masih menunjukkan prevalensi infeksi yang masih tergolong tinggi di negara-negara berkembang seperti negara-negara di Afrika, Amerika Latin maupun di negara-negara berkembang lainnya di Asia Tenggara termasuk di Indonesia (Winarno, 1994). Keberadaan penyakit sering pula menunjukkan peledakan infeksi pada masyarakat tertentu, seperti tempat tinggal yang kumuh (*rural*), tempat-tempat pengungsian, di kawasan bencana banjir dan bencana-bencana alam

lainnya. Oleh karena itu usaha-usaha yang bersifat preventif dalam upaya menangani penyakit-penyakit infeksi pada saluran pencernaan masih tetap dipandang strategis. Salah satu upaya pencegahan atau usaha-usaha eliminasi kuman patogen dalam saluran pencernaan dapat dilakukan dengan mengkonsumsi cairan atau minuman yang berasal dari bahan fermentasi oleh bakteri asam laktat. Oleh karena itu pemikiran penelitian pengaruh cairan/filtrat yang berasal dari bakteri asam laktat terhadap kuman-kuman patogen dipandang strategis.

Minuman yang berasal dari hasil fermentasi oleh bakteri asam laktat mengandung sejumlah bakteri dalam keadaan hidup beserta senyawa-senyawa hasil pembongkaran dan sintesis hasil metabolimnya. Biasanya senyawa-senyawa hasil metabolismenya larut dalam cairan/filtratnya atau medium pertumbuhannya. Beberapa hasil penelitian secara *in vitro* maupun *in vivo*, filtrat ataupun beberapa jenis komponen senyawa dapat digunakan dalam upaya mereduksi, mengeliminasi jumlah total bakteri pembusuk ataupun kuman-kuman patogen pada kasus-kasus tertentu. Filtrat hasil pertumbuhan bakteri asam laktat cukup efektif untuk mereduksi jumlah total kuman patogen dan bakteri lainnya (Russel *et al.* 1993). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50 hingga 156 mmol per liter asam laktat yang dihasilkan oleh *L. casei* Subsp. *rhamnosus* dapat menghambat kuman *Helicobacter pylori* baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Midolo *et al.* 1995). Dikatakan oleh Gonazles *et al.* (1993), metabolit hasil fermentasi bakteri asam laktat jika dikonsumsi akan merupakan salah satu cara alternatif mengeliminasi bakteri-bakteri patogen dalam saluran pencernaan. Hal serupa telah banyak dilakukan oleh konsumen pada dekade tahun terakhir ini, yaitu mengkonsumsi minuman susu terfermentasi oleh bakteri asam laktat.

Berbagai jenis dan merek susu terfermentasi dengan menggunakan *Lactobacillus* telah banyak dijual di pasaran, beberapa di antaranya adalah yakult, calpico yang menggunakan *L. casei* Subsp. *Shirota* (Anonim, 1989). Minuman susu terfermentasi tersebut telah begitu meluas dikonsumsi masyarakat, oleh karena itu kesungguhan khasiatnya perlu dipertanyakan. Dalam slogannya dikatakan, minuman susu terfermentasi mengandung sejumlah bakteri dan metabolit hasil pertumbuhannya yang terlarut dalam filtratnya, dapat menyehatkan saluran pencernaan, terutama dalam upaya mengeliminasi berbagai jenis kuman, terutama kuman patogen pada saluran pencernaan (enteropatogen). Nampaknya pendapat ini masih perlu diuji kebenarannya terhadap beberapa jenis bakteri yang sering menginfeksi saluran pencernaan manusia. Namun sampai seberapa jauh sifat-sifat daya hambat filtrat hasil pertumbuhannya *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap pertumbuhan kuman enteropatogen masih perlu diuji pada tingkat pengenceran filtrat. Tingkat pengenceran filtrat menjadi penting karena beberapa hal, antara lain : (1) filtrat asli hasil fermentasi oleh bakteri asam laktat mempunyai tingkat kekentalan yang masing relatif tinggi; (2) masih perlunya penambahan komponen cair lainnya untuk menambah volume, *taste* dan *flavor*. Oleh karena itu perlu diuji pada berbagai tingkat pengenceran filtrat terhadap pertumbuhan kuman yang tergolong dalam bakteri enteropatogen.

Bakteri enteropatogen untuk indikator untuk menguji daya kerja penghambatan filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* digunakan beberapa jenis kuman antara lain *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri* dan *Escherichia coli*. Ketiga jenis kuman indikator dipilih karena merupakan kuman penting sebagai kontaminan produk makanan sehari-hari, seperti susu, daging, telur, ikan dan lain-lain. Sehingga tentunya kuman-kuman tersebut dekat dengan kehidupan dan sering menginfeksi saluran pencernaan manusia.

Selain meneliti pengaruh filtratnya di atas, juga diteliti pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman enteropatogen yang sama pada lempeng agar. Hal ini karena ada anggapan bahwa bakteri asam laktat dikonsumsi dalam keadaan hidup-hidup, maka dimungkinkan akan terjadi interaksi *L. casei* dengan bakteri lain dalam saluran pencernaan, terutama bakteri patogen. Dengan demikian perlu diteliti hubungan antara kultur hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kultur hidup kuman enteropatogen pada lempeng agar.

## 1.2 Perumusan Masalah

1.2.1 Apakah pertumbuhan *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* dapat dihambat oleh filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* pada lempeng agar.

1.2.2 Apakah pertumbuhan kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* dapat dihambat oleh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* pada lempeng agar.

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh filtrat hasil pertumbuhan dan pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap pertumbuhan kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

(1) Untuk mengetahui pengaruh filtrat hasil pertumbuhannya *L. casei* Subsp. *Shirota* dalam berbagai tingkat pengenceran filtrat terhadap jumlah total dan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* pada lempeng agar.

- (2) Untuk mengetahui pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah total kuman dan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* pada lempeng agar.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Hasil-hasil temuan dalam penelitian ini terutama pengaruh filtrat biakan dan biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman enteropatogen, dapat menunjang perkembangan ilmu kedokteran khususnya dalam hal hubungannya dengan penyakit-penyakit yang ditimbulkan oleh kuman enteropatogen.

1.4.2 Hasil kajian mengenai komponen senyawa yang terdapat dalam filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* memberikan informasi tentang gizi dan manfaatnya minuman terfermentasi dengan bakteri asam laktat untuk ilmu-ilmu yang berhubungan dengan gizi dan makanan.

1.4.3 Memberikan informasi pada kalangan praktisi produsen makanan dan minuman yang menggunakan jasa fermentasi menggunakan bakteri asam laktat, khususnya bakteri *L. casei*.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Makanan dan Minuman Terfermentasi

Makanan dan minuman terfermentasi merupakan makanan dan minuman yang diperoleh dari bahan dasar tertentu yang diubah dengan bantuan mikroba atau enzimnya, sehingga mengalami perubahan secara fisis maupun kimia, serta mempunyai ciri *flavor* yang khas (Steinkraus, 1993). Melalui proses fermentasi, mikroba berperan mengubah bahan dasar (*raw material*) menjadi produk makanan ataupun minuman yang mempunyai nilai ekonomi lebih tinggi. Selain itu juga mempunyai nilai gizi yang lebih baik, mudah dicerna dan juga mempunyai cita rasa yang khas serta lebih tahan lama dibandingkan dengan bahan asalnya itu sendiri.

Fermentasi makanan dan minuman yang menggunakan bakteri asam laktat, asam-asam organik sebagai hasil metabolit primer dan hasil-hasil metabolit sekunder sekunder lainnya mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain, terutama bakteri pembusuk (Vignolo *et al.* 1993; Rahayu *et al.* 1995). Berbagai contoh makanan dan minuman yang diproses dengan bantuan bakteri asam laktat meliputi *gatot*, *growol*, *asinan*, *moromi* (kecap), *yoghurt*, *yakult*, *yomost*, *petis ikan* dan lain-lain (Wibowo, 1993). Makanan dan minuman tersebut biasanya dikonsumsi dengan cara baik terlebih dahulu dimasak ataupun dalam keadaan segar, sehingga sangat dimungkinkan bakteri hidup juga ikut dikonsumsi. Dengan demikian secara alami bakteri yang ada di dalamnya bersama-sama makanan ataupun minuman ikut masuk ke dalam saluran pencernaan. Terbukti secara turun-temurun, makanan ataupun minuman terfermentasi oleh bakteri asam laktat tersebut tidak merugikan atau

membahayakan konsumen, tetapi justru menguntungkan bagi konsumennya bahkan hingga sekarang masih dipercaya oleh masyarakat.

## 2.2 Bakteri Asam Laktat

### 2.2.1 Tinjauan Umum

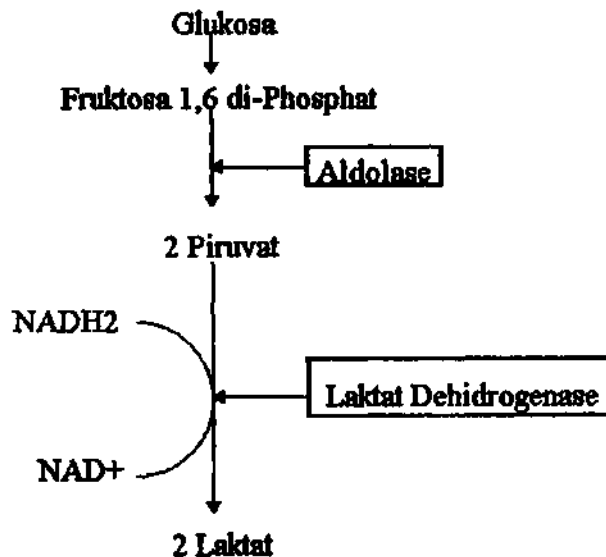
Bakteri asam laktat merupakan kelompok spesies bakteri yang mempunyai kemampuan untuk membentuk asam laktat dari metabolisme karbohidrat. Secara ekologis, kelompok bakteri ini sangat bervariasi dan mempunyai anggota spesies yang mendominasi berbagai macam bahan dan tempat seperti makanan dan minuman serta beberapa habitat seperti tanaman, jerami, rongga mulut, saluran pencernaan hewan dan manusia.

Bakteri asam laktat mempunyai bentuk batang atau kokus, dan mempunyai karakteristik secara umum antara lain bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, tidak motil, tidak membentuk pigmen, katalase negatif dan membentuk asam laktat sebagai hasil utama dari pembongkaran karbohidrat. Secara umum bakteri ini menghendaki tumbuh baik pada nutrisi yang kompleks dan pertumbuhannya distimulasi oleh suasana mikroaerofilik hingga anaerob, serta tumbuh pada kisaran pH 3,0-8,0 dan suhu ruangan 3-50°C (Steinkraus, 1983). Umumnya mampu menggunakan mono dan disakarida sebagai sumber energinya. Beberapa spesies mampu membentuk senyawa antagonistik terhadap bakteri lain yang memungkinkan bakteri asam laktat mendominasi lingkungan tertentu yang tadinya berisi campuran beberapa jenis mikroba (Wibowo, 1989). Asam organik terbentuk bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Selain asam organik sebagai hasil metabolisme utamanya dan sampingan lainnya seperti diasetil, hipotiosianat, tiosianat, bakteriosin maupun hidrogen peroksida bersifat toksis terhadap bakteri (Fardiaz *et al.* 1994)

## 2.2.2 Fisiologi dan Biokimia

### (1) Metabolisme karbohidrat

Karbohidrat merupakan sumber utama pada bakteri asam laktat. Gula dengan atom enam C antara lain glukosa, fruktosa, galaktosa dapat dimetabolisir melalui jalur EMP (Embden-Meyerhof-Parnas Pathways)(Moat, 1979). Genus *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Lactobacillus* menggunakan jalur ini, sebagai salah satunya jalur untuk memecah gula. Proses ini diawali oleh aktivasi glukosa menjadi fruktosa 1,6 di-Phosfat oleh enzim aldolase menjadi dua molekul triosa 3-phosfat yang selanjutnya dikonversi menjadi asam laktat melalui piruvat (Crueger and Crueger, 1984). Bakteri asam laktat yang menggunakan jalur EMP adalah kelompok bakteri asam laktat homofermentatif, salah satu jenisnya di antaranya adalah *L. casei*.



Gambar 2.1 Jalur EMP, kelompok bakteri asam laktat homofermentatif, *L. casei*  
Sumber : Moat (1979)

Hampir 85% glukosa dikonversi menjadi asam laktat dan 15% lainnya dikonversi menjadi asam asetat, 2,3 butanediol, gliserol, ascetoin secara bersama-sama dapat memberikan aroma produk. Selain itu bakteri asam laktat juga dapat menggunakan asam-asam organik.



## (2) Metabolisme asam organik

Beberapa asam organik dapat dimetabolisir oleh bakteri asam laktat. Berkaitan dengan hal tersebut maka asam-asam organik termetabolisir menjadi beberapa senyawa volatil yang dapat memberikan *flavor* spesifik pada makanan dan minuman terfermentasi oleh bakteri asam laktat.

Beberapa senyawa asam yang dapat digunakan oleh bakteri asam laktat meliputi asam malat, piruvat, sitrat, tartrat, fumarat, kuinat dan lain-lain. Tampaknya asam piruvat menjadi kunci perantara dalam proses metabolisme karbohidrat maupun asam-asam organik lainnya. Hasil transformasi asam piruvat diantaranya asetaldehid, aseton, diasetil dan butanadiol (Wibowo, 1989). Adapun asam sitrat dapat menjadi alternatif sumber tenaga oleh bakteri asam laktat. Pada dasarnya asam sitrat dikonversi menjadi oksaloasetat dan asam asetat oleh enzim sitratliase. Dekarboksilasi oksaloasetat menghasilkan asam piruvat yang selanjutnya dikonversi lebih lanjut menjadi asam laktat, asam asetat, 2,3 butanadiol dan alkohol. Kebanyakan asam-asam organik bersifat volatil, sehingga bersama-sama dengan diasetil dan senyawa-senyawa lain menghasilkan bau yang khas pada produknya.

## (3) Metabolisme asam amino

Bakteri asam laktat bersifat proteolitik lemah, namun kebutuhan sel terhadap asam-asam amino sudah dapat terpenuhi dari degradasi protein yang ada di sekitarnya (mediumnya). Berbagai jenis protease dan peptidase berperan dalam degradasi protein dan peptida pada fermentasi susu untuk memperoleh asam-asam amino dan peptida guna membentuk *flavor* spesifik.

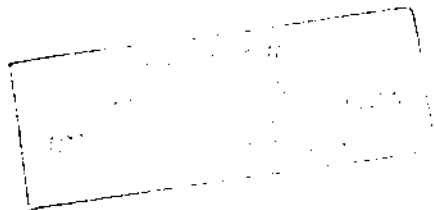
Dari hasil analisis produk fermentasi asam-asam amino diketahui mengalami dekarboksilasi, deaminasi menjadi piruvat, indol, glutarat, asam amino butirat, triptofan dan lain-lain (Wibowo, 1989).

#### (4) Metabolisme asam lemak

Selain memiliki proteolitik lemah, bakteri asam laktat juga dikenal mempunyai lipolitik ekstra sel, terutama bakteri-bakteri asam laktat yang tumbuh pada daging dan susu. Hasil-hasil pemecahan lipida meliputi asam-asam lemak bebas dan gliserol yang merupakan senyawa yang dibutuhkan oleh bakteri asam laktat dalam pertumbuhannya. Dalam medium bantuan (*artificial medium*) kebutuhan asam lemak dipenuhi oleh adanya penambahan *Tween 80*, *Tween 85* ataupun lesitin dimana fungsi utamanya untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri asam laktat agar tumbuh secara optimum. Untuk memproduksi *lacticin* dari *L. casei* dilakukan penambahan *Tween 80* sebanyak 0,5-2% dalam medium pertumbuhannya (Vignolo *et al.* 1995). Nampaknya kebutuhan asam lemak dalam pertumbuhannya sangat penting.

#### 2.2.3 Senyawa-senyawa Anti Bakteri yang Dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat

Ada beberapa jenis senyawa yang bersifat anti bakteri yang diproduksi oleh bakteri asam laktat, antara lain asam-asam organik, diasetil, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrogen peroksida) dan bakteriosin (Fardiaz *et al.* 1994).



### (1) Asam Organik

Asam laktat merupakan asam organik sebagai hasil utama metabolisme secara primer oleh bakteri asam laktat yang mempunyai jumlah yang paling besar. Sekitar 85% lebih dihasilkan oleh bakteri asam laktat oleh bakteri asam laktat bertipe homofermentatif. Asam laktat mempunyai sifat anti bakteri yang berperan membentuk daya hambat terhadap bakteri lain, oleh karena sifat asamnya itu sendiri. Sifat-sifat keasamannya tersebut memberikan kondisi yang tidak cocok bagi bakteri lain untuk tumbuh. Telah terbukti bahwa kulit ayam yang diinokulasi dengan berbagai kuman patogen (*Salmonella* spp, *L. monocytogenes* dan *C. jejuni* serta *S. aureus*) kemudian dicuci dalam 0,3% asam laktat/0,05% Sodium benzoat, kemudian diinkubasi pada 4°C, 16 hari, ternyata dari sejumlah spesies kuman yang diinokulasikan jumlah total turun secara signifikan (Hwang *et al.* 1995).

### (2) Bakteriosin

Selain asam laktat sebagai antibakteri dengan jumlah paling besar, ada sejumlah kecil senyawa yang bersifat antibakteri yaitu bakteriosin. Bakteriosin merupakan polipeptida atau berupa protein (Vignolo *et al.* 1993). Beberapa sumber menyebutkan bahwa bakteriosin dibagi menjadi 4 (empat) grup (Kabuki *et al.* 1996; Gonzales *et al.* 1996) yang berdasarkan pada besar molekul dan komposisi asam amino. Pada pustaka yang sama menyebutkan bahwa bakteriosin kelas I disebut dengan *lanthionine* yang mempunyai berat molekul < 5 kDa yang berupa peptida kecil misalnya *lanthionine* (*nisin*). Bakteriosin kelas II adalah bakteriosin yang memiliki berat molekul < 13 kDa yang merupakan peptida hidrofobik yang mempunyai spesifikasi stabil panas dan terdiri dari asam amino contohnya *lactacin* F. Sedangkan kelas III adalah bakteriosin yang mempunyai berat

molekul > 30 kDa yang mempunyai spesifikasi labil panas yang merupakan protein dengan massa besar contohnya *helvicetin* J. Adapun kelas IV adalah kelompok bakteriosin yang kompleks yang mempunyai struktur kompleks dengan komponen kimia lainnya. Beberapa genus bakteri yang menghasilkan bakteriosin antara lain strain-strain dari *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. plantarum*, *L. sake*, *L. brevis*, *L. casei* dan *L. gasseri* (Klaenhammer, 1993 cit Kabuki et al. 1996).

Karena berupa polipeptida maka sintesis senyawa tersebut melalui peristiwa sintesis protein di dalam sel. Adapun pengontrolan sintesis diatur oleh kromosom ekstra maupun oleh kromosom bakteri. *Acidophilin* disintesis oleh *L. acidophilus*, dimana sintesisnya dikendalikan oleh sekelompok gen yang terdapat dalam plasmid (ekstrakromosomal)(Eckner et al. (1992) cit Rahayu et al. (1995). Namun dikatakan oleh Muller et al. (1993), sintesis *caseicin* dari *L. casei* dikontrol oleh kromosom bakteri.

Masing-masing jenis bakteri asam laktat mempunyai kesanggupan yang berbeda-beda dalam mensintesis dan menghasilkan bakteriosin dengan besar molekul yang berbeda-beda pula. *Caceicin*, *lactocin 705*, *acidophilin* dan *pediocin*, *helvicetin* dihasilkan oleh jenis-jenis dan mempunyai berat molekul yang berbeda-beda (Muller et al. 1993; Vignolo et al. 1996; Motlagh et al. 1992; dan Vaughan et al. 1994). *Caseicin* merupakan polipeptida (protein) yang mempunyai besar molekul 42 kDa dan mempunyai sifat termolabil (Vignolo et al. 1993).

Bakteriosin mempunyai sifat daya hambat pertumbuhan karena polipeptidanya mampu bergabung dengan protein-protein lapisan membran sel, sehingga membran sel tidak lagi dapat berfungsi dengan baik dalam hal menseleksi molekul-molekul keluar-masuk sel.

Vignolo *et al.* (1993) berhasil mengisolasi bakteri asam laktat dari bahan asam saus, sembilan di antaranya 52 strain *L. casei* yang didapatkan mempunyai sifat antimikroba, terhadap *L. monocytogenes*, *Staphylococcus*. maupun jenis bakteri Gram negatif lainnya. Midolo *et al.* (1995) memperoleh Subsp. *L. acidophilus* Subsp. *rhamnosus* dan *L. casei* keduanya mempunyai sifat menghambat pertumbuhan *H. pylori*, namun sebaliknya *Bifidobacterium bifidus*, *Pedococcus pentaceus* dan *B. bulgaricus* tidak memiliki sifat menghambat. Adapun Vignolo *et al.* (1996) mengatakan bahwa *L. casei* CRL 705 mampu menghambat *L. monocytogenes*. Sedangkan Motlagh *et al.* (1992) menyebutkan bahwa kemampuan *pediocin* Ach dalam menghambat pertumbuhan terhadap *Listeria*, masing-masing menunjukkan kepekaan yang berbeda-beda. Sebanyak 1.350 AU/ml (*Arbitrary Unit*) *pediocin* Ach dapat mengurangi populasi *L. monocytogenes* Scott A sebesar 1 log (90%). Adapun pada konsentrasi yang sama mampu mengurangi populasi *L. monocytogenes* Ohio 2 sebesar 3 log. Adapun pada konsentrasi yang sama pula dapat mengurangi populasi *L. ivanovi* ATCC 19119 sebesar 7 log.

Bakteriosin yang disintesis oleh *L. casei* IMPC Lc34 sangat efektif untuk mereduksi total bakteri mesofilik dan kelompok kaliform, antara lain seperti *Pseudomonas hydrophila*, *S. typhimurium*, *S. aureus* pada sayur-sayuran siap santap (*ready-to use vegetables*)(Vescovo *et al.* 1996). *L. casei*, *L. acidophilus* berpeluang sangat potensial sebagai bioterapeutik dalam pasien yang terinfeksi oleh kuman patogen. Hasil penelitian Fardiaz *et al.* 1994) menunjukkan bahwa *E. coli*, *Salmonella* sp dan *Shigella* sp terhambat pertumbuhannya secara total oleh filtrat minuman fermentasi skim kelapa menggunakan *S. acidophilus* dan *L. casei*. Dalam fermentasi susu, *E. coli* terhambat pertumbuhannya setelah 9 jam pada kultur fermentasi yang sedang berjalan (Gonzales, 1993).

### (3) Hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Hidrogen peroksida merupakan salah satu senyawa yang berasal dari hasil samping metabolisme sistem biologi. Senyawa ini bersifat toksis terhadap kehidupan sel itu sendiri. Senyawa ini tergolong dalam radikal bebas. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan menjadi toksis jika bereaksi dengan logam transisi Fe<sup>2+</sup> membentuk radikal bebas hidroksil membentuk •OH (Thomas *et al.* 1985 *cit* Astuti, 1995). Reaksi selengkapnya sebagai berikut :



Selain reaksi tersebut di atas, radikal bebas hidroksil juga diperoleh dari ion superoksida (O<sub>2</sub> •) yang tidak reaktif bereaksi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> membentuk oksigen ion hidroksil dan radikal bebas hidroksil yang sangat reaktif (Moat, 1979). Selengkapnya reaksinya sebagai berikut :



Radikal bebas hidroksil hasil dari reaksi tersebut di atas sangat reaktif. Radikal bebas hidroksil merupakan senyawa toksis karena reaktivitasnya yang tinggi dan berdampak negatif terhadap senyawa-senyawa penting yang digunakan untuk mempertahankan integritas sel. Dampak negatif tersebut antara lain terhadap asam lemak tidak jenuh, membran sel, DNA dan protein sel, yang akibatnya kerusakan sel bakteri target.

Selain ketiga senyawa penghambat di atas, ada beberapa senyawa lain dicurigai sebagai penghambat antara lain diasetil, hipotisianat dan tiosianat. Seluruh komponen tersebut diatas larut di dalam filtrat atau mediumnya, sehingga secara bersama-sama mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain. Rahayu *et al.*(1995) mendapatkan isolat *L. casei* Subsp. *rhamnosus* TGR-2 dari substrat growol yang mempunyai sifat antibakteri

dibandingkan dengan isolat-isolat yang ditemukan lainnya. Metabolit ekstraseluler yang didapatkan dari fermentasi menggunakan isolat tersebut mempunyai daya hambat terhadap *S. typhimurium*, *E. coli* maupun *Bacillus cereus*. Dalam pustaka yang sama dikemukakan bahwa metabolit ekstraseluler *L. casei* Subsp. *rhamnosus* TGR-2 mampu mereduksi jumlah sel *E. coli* dari nilai absorbansi  $>0,25$  untuk kontrol menjadi  $<0,10$  untuk perlakuan dengan metabolit ekstrasel Lc TGR-2 pada inkubasi kurang lebih 9 jam, dan penghambatan tersebut juga ditunjukkan bahwa mampu memperpanjang waktu fase lag dari 2 jam menjadi 6 jam (Rahayu *et al.* 1995). Selanjutnya metabolit ekstrasel tersebut juga mampu mereduksi jumlah sel *S. typhimurium* dari nilai absorbansi  $> 0,25$  untuk kontrol menjadi  $< 0,15$  untuk perlakuan metabolit ekstrasel Lc. TGR-2 pada inkubasi kurang lebih 9 jam, dan memperpanjang fase lag dari 2 jam menjadi 6 jam. Sedangkan *B. cereus* terhambat dari nilai absorbansi  $> 0,25$  untuk kontrol menjadi  $< 0,10$  untuk perlakuan dengan metabolit ekstrasel Lc. TGR-2 pada inkubasi 10-11 jam dan memperpanjang fase lag dari 0 jam menjadi 6 jam.

## BAB 3

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

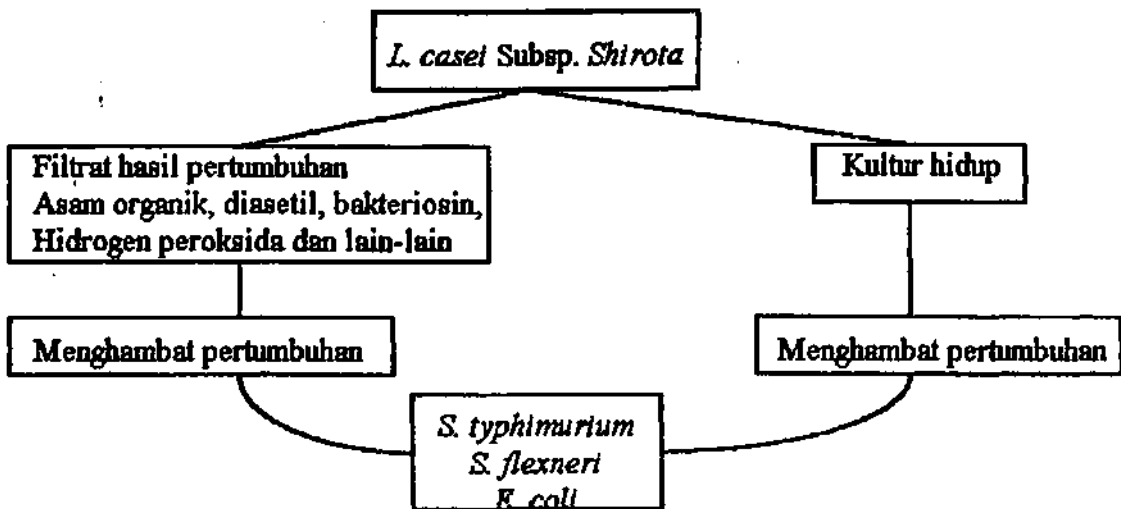
#### 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Dalam proses fermentasi makanan ataupun minuman oleh bakteri asam laktat, selalu diikuti oleh perubahan-perubahan fisis maupun kimia bahan dasar (*raw material*) menjadi produk yang mempunyai *flavor* yang khas. Selain itu juga mempunyai nilai lebih, antara lain meningkatnya nilai cerna, bertambahnya gizi dan menjadikan produk makanan ataupun minuman lebih awet. Perubahan-perubahan tersebut di atas merupakan akibat adanya pertumbuhan bakteri asam laktat pada substratnya. Hasil aktivitas pertumbuhan bakteri asam laktat antara lain terbentuknya hasil-hasil metabolisme primer yaitu asam-asam organik (asam laktat) dan metabolit sekunder seperti polipeptida yang biasa disebut bakteriosin, hidrogen peroksida, diasetil dan senyawa asam-asam volatil lainnya.

Produk-produk berupa metabolit primer maupun sekunder yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat tersebut di atas dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Hal ini karena senyawa-senyawa tersebut dapat berpengaruh pada bagian-bagian sel kuman. Asam organik yang tinggi mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain karena memberi suasana asam pada medium pertumbuhannya. Selain itu asam mampu mengganggu atau merusak (*detrimental*) dinding sel, mengkoagulasikan protein dan mengendapkannya. Bakteriosin mampu merubah permeabilitas membran sel, sehingga membran sel kurang selektif lagi terhadap lalu-lintas molekul-molekul yang melewatinya. Selain itu bakteriosin mampu mempercepat kehilangan ion  $K^+$ , depolarisasi membran, mengganggu aktifitas respirasi serta mengganggu hidrolisis dan aliran ATP sel.



Karena sifat-sifat yang spesifik di atas maka produk fermentasi yang menggunakan bakteri asam laktat pada dekade belakangan ini banyak dikembangkan menjadi makanan atau minuman yang menyehatkan, mempunyai nilai lebih di antaranya terhindarnya kerusakan produk oleh bakteri pembusuk dan mampu membantu mengeliminir kuman patogen dalam saluran pencernaan jika dikonsumsi. Mengonsumsi filtrat hasil pertumbuhan bakteri asam laktat dianggap memperbaiki saluran pencernaan terhadap ancaman kuman enteropatogen. Hal ini didukung oleh peneliti terdahulu, secara *in vitro* metabolit-metabolit primer maupun sekunder yang terlarut dalam filtratnya mampu menghambat pertumbuhan kuman patogen, menurunkan total kuman dan mengeliminir bakteri patogen dalam saluran pencernaan. Selain itu secara *in vivo* terbukti bahwa filtrat hasil pertumbuhan bakteri asam laktat dapat memperkuat sistem saluran pencernaan. Namun demikian pernyataan-pernyataan di atas masih perlu diuji lebih jauh terhadap kuman-kuman enteropatogen. Kuman enteropatogen yang sering dijumpai dalam makanan ataupun minuman meliputi *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli*. Selain itu diuji pula pengaruh kultur hidup bakteri asam laktat terhadap kuman enteropatogen yang sama pada lempeng agar. Berikut ini adalah bagan kerangka konseptual penelitian.



Gambar 3.1 Bagan kerangka konseptual penelitian

Berdasarkan latar belakang dan permasalahan, perumusan masalah, tujuan penelitian, tinjauan pustaka maka disusun suatu hipotesis seperti berikut :

### 3.2 Hipotesis Penelitian

3.2.1 Filtrat hasil pertumbuhan bakteri asam laktat *L. casei* Subsp. *Shirota* pada tingkat pengenceran tertentu mampu menghambat pertumbuhan kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* pada lempeng agar.

3.2.2 Biakan hidup bakteri asam laktat *L. casei* Subsp. *Shirota* pada perbandingan jumlah sel tertentu mampu menghambat pertumbuhan kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* pada lempeng agar.

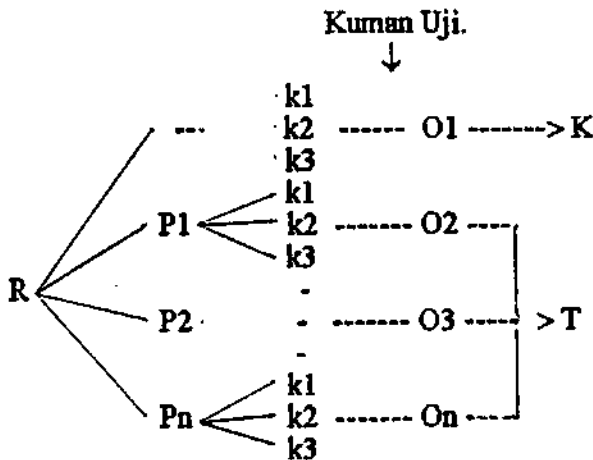
**BAB 4  
METODA PENELITIAN**

**4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan *true experimental laboratorium* dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola *Randomized Control Post-test Only Design*. Dalam penelitian ini dibagi menjadi 2 bagian, yaitu :

**4.1.1 Daya kerja filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman uji**

Gambar 4.1 berikut ini adalah bagan konsep percobaan daya kerja filtrat



**Gambar 4.1 Bagan konsep daya kerja filtrat terhadap kuman uji**

**Keterangan :**

R = Filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota*

K = Kelompok kontrol; pada kelompok ini tidak ditambahkan filtrat

P1, P2 dan Pn = tingkat pengenceran filtrat

T = Kelompok perlakuan

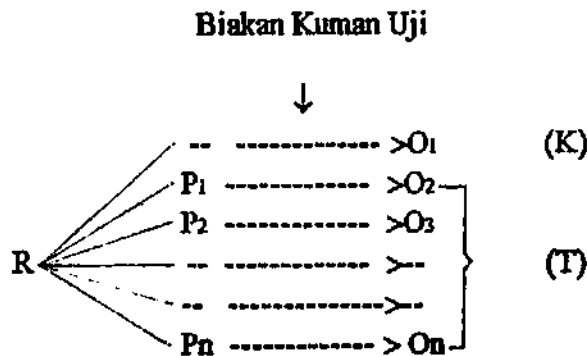
k<sub>1</sub>, k<sub>2</sub> dan k<sub>3</sub> = kelompok kuman uji; dalam hal ini ada 3 (tiga) jenis kuman (*S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli*).

O = Pengamatan; baik kelompok kontrol (O<sub>1</sub>) maupun kelompok perlakuan (O<sub>2</sub>-O<sub>n</sub>) diinkubasi 18 jam pada suhu 37°C (inkubator).

Kontrol maupun perlakuan diulangi 6 (enam) kali ulangan, diperoleh dari rumus Ulangan =  $(p-1)(q-1) \geq 20$  (Hanafiah (1991)).

4.1.2 Pengaruh kultur hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman uji.

*Lactobacillus* ditumbuhkan secara bersama-sama kuman uji dan dilihat pengaruh interaksi antara keduanya. Bagan pengaruh kultur hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman uji disajikan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Bagan pengaruh kultur hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman uji

Keterangan :

R = Sampel *L. casei* Subsp. *Shirota* diambil secara radom. Jumlah sampel merupakan kelipatan 0 kali (kontrol), 1.000 kali, 2.000 kali, 4.000 kali, 6.000 kali, 8.000 kali dan 10.000 kali lebih besar dari jumlah kuman uji.

K = Kelompok kontrol; pada kelompok kontrol kuman uji ditumbuhkan secara sendiri-sendiri.

P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> hingga P<sub>n</sub> = jumlah kerapatan kuman uji.

T = kelompok perlakuan

O<sub>1</sub> = Pengamatan. Pengamatan mula-mula dilakukan pada 12 jam dihitung dari mulainya inokulasi dan pengamatan berikutnya pada 18 jam. Hal-hal yang diamati meliputi jumlah koloni dan ukuran diameter koloni kuman yang muncul.

## 4.2 Sampel Penelitian

4.2.1 Bakteri *L. casei* Subsp. *Shirota* dalam penelitian ini diperoleh dari Yakult Indonesia.

Dalam membuat inokulum maupun fermentasi untuk memperoleh filtrat diambilkan bakteri secara acak pada biakan bakteri pada agar miring.

4.2.2 Filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dipakai dalam penelitian ini diambil secara acak.

4.2.3 Kuman uji yang meliputi *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* diperoleh dari PAU Pangan Gizi dan Balai Veteriner Bogor. Suspensi kuman diambil dari koloni pada media perbenihan secara acak.



## 4.3 Variabel Penelitian

### 4.3.1 Klasifikasi variabel

a. Uji daya kerja filtrat *L. casei* Subsp. *Shtrota* terhadap kuman uji.

#### (1) Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah persentase pengenceran (vol/vol) filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shtrota*.

#### (2) Variabel tergantung

Variabel tergantung adalah jumlah dan diameter koloni kuman uji yang tumbuh.

#### (3) Variabel kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini meliputi :

- pH medium
- Jenis medium
- Jumlah inokulum
- Temperatur ruangan inkubasi
- Lama waktu inkubasi
- Umur bakteri
- Alat-alat yang digunakan

b. Interaksi *L. casei* Subsp. *Shtrota* dengan kuman uji

(1) Variabel bebas adalah jumlah biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shtrota*

(2) Variabel tergantung adalah jumlah koloni kuman (*S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli*) yang muncul, ukuran diameter koloni kuman yang tumbuh pada lempeng agar.

**(3) Variabel kendali meliputi**

- pH medium
- Jenis medium
- Inokulum yang digunakan
- Temperatur
- Lama inkubasi
- Umur biakan
- Alat-alat yang digunakan.

**4.3.2 Definisi operasional variabel****a. Uji daya kerja filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman uji****(1) Variabel bebas**

Filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* dicampurkan pada media Nutrient Agar (NA) pada tingkat pengenceran tertentu yaitu 1 %, 2%, 4% dan hingga 8% filtrat (vol/vol).

Filtrat asli dari hasil pertumbuhan *L. casei* dianggap 100%.

(2) Jumlah kuman yang dihitung adalah koloni yang muncul pada lempeng agar setelah 18 jam inkubasi pada 37°C.

**(3) Variabel kendali**

Medium yang digunakan untuk menumbuhkan dan memperbanyak *L. casei* Subsp. *Shirota* adalah MRS agar (deMan Rogosa Sharpe Agar).

Medium yang digunakan untuk menghitung jumlah kuman adalah NA yang ditambah dengan filtrat dengan berbagai konsentrasi. Perlakuan tersebut meliputi NA + 0% filtrat (vol/vol),

NA + 1% filtrat, NA + 2% filtrat, NA + 3% filtrat, berturut-turut hingga NA+8% filtrat (vol/vol). Filtrat disesuaikan hingga mencapai pH 7.

Jumlah inokulum kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* ditentukan dengan ukuran absorbansi Spectronic masing-masing pada angka 0,065; 0,066 dan 0,082.

Temperatur pengeraman yang digunakan adalah 37°C pada inkubator dengan lama pengeraman 18 jam.

Kuman yang digunakan berumur 24 jam. Adapun alat-alat yang digunakan disterilisasi memakai autoclave.

**b. Interaksi antara *L. casei* Subsp. *Shirota* dengan kuman uji**

(1) Variabel bebas dalam percobaan ini adalah jumlah biakan hidup *L. casei* dengan jumlahnya ditentukan dengan menggunakan spektronik.

Perbandingan jumlah biakan yang diinokulasikan antara kuman uji dengan *L. casei* Subsp. *Shirota* adalah :

1 : 0 (kontrol) ; 1 : 1.000 ; 1 : 2.000 ; 1 : 4.000 ; 1 : 6.000 ; 1 : 8.000 dan 1 : 10.000

(2) Variabel tergantung meliputi jumlah koloni dan diameter koloni kuman uji yang tumbuh pada lempeng agar (TSA). Jumlah koloni dan ukuran diameter hasil perlakuan dibandingkan kontrol. Jumlah koloni yang dimaksudkan di sini adalah jumlah koloni masing-masing kuman uji yang tumbuh pada lempeng agar. Adapun ukuran diameter koloni adalah ukuran diameter (mm) koloni kuman yang tumbuh pada lempeng agar. Untuk memperoleh data ukuran diameter, dipilih secara random sebanyak 10% dari jumlah koloni yang muncul. Pengukuran diameter koloni dilakukan di bawah mikroskop dengan menggunakan skala nunius (meja mikroskop dimodifikasi sedemikian rupa supaya petridis



dengan ukuran  $\varnothing 9$  cm dapat diletakkan di atasnya dan dapat digeser-geser yang digunakan untuk mengukur besar diameter koloni).

(3) Variabel kendali meliputi sejumlah variabel yang sudah dikendalikan yaitu antara lain : pH medium telah diatur menurut pH medium asli, yaitu 7,2. Jenis medium yang digunakan adalah TSA. Jenis inokulum, *L. casei* Subsp. *Shirota* berasal dari Yakult Indonesia dan untuk kuman uji diperoleh dari PAU UGM dan Balai Veteriner Bogor. Temperatur pengeraman diatur pada 37°C dan diinkubasi dalam kondisi sungkup lilin dan kemudian dimasukkan ke dalam inkubator. Umur bakteri yang digunakan adalah 24 jam. Alat-alat dan bahan disterilisasi dengan menggunakan autoclave pada 121°C, 2 Atm selama 15 menit.

#### 4.4 Bahan-bahan Penelitian

##### 4.4.1 Mikroba

Dalam penelitian ini digunakan berbagai jenis isolat mikroba antara lain : *L. casei* Subsp. *Shirota* dan beberapa kuman enteropatogenik yaitu *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E.coli*.

##### 4.2.2 Media

Berbagai jenis media digunakan dalam penelitian, meliputi :

a. MRS Agar (deMan, Rogosa, Sharpe Agar), dengan komposisi :

10 g bacteriological peptone

8 g lam lemco powder

4 g ekstrak yeast

20 g Dekstrosa

- 1 ml Tween 80
- 2 g Dipotassium Hidrogen fosfat
- 5 g Natrium asetat 3 H<sub>2</sub>O
- 2 g Triamonium sitrat
- 0,2 g Magnesium sulfat 7 H<sub>2</sub>O
- 0,05 Mangan sulfat 4 H<sub>2</sub>O
- 10 g Agar powder

Seluruh komponen media dilarutkan dalam aquades sebanyak 1.000 ml, diaduk rata pada penangas air. Larutan dinyatakan homogen jika media telah terlihat jernih. Selanjutnya dibagikan menurut tempatnya dan disterilisasi menggunakan autoclave pada 121°C, 2 Atm selama 15 menit. Medium ini digunakan untuk kultur dan untuk memperbanyak *L. casei*

b. TGY (*Tryptone Glucose yeast Extract broth*), yang memiliki komposisi dalam 1.000 ml sebagai berikut :

- 1 % Tryptone (difco)
- 1 % Glukosa
- 1 gram ekstrak yeast
- 0,2 % Tween 80
- 0,033 mM Mn<sup>2+</sup>
- 0,02 mM Mg<sup>2+</sup>
- pH akhir 6,5

Seluruh komponen media dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1.000 ml, diaduk hingga rata di atas penangas air. Larutan dinyatakan homogen jika media telah terlihat jernih. Selanjutnya dibagi-bagikan menurut tempatnya dan kemudian disterilisasi

menggunakan autoclave pada 121°C, 2 Atm selama 15 menit. Media ini digunakan untuk memperoleh filtrat *L. casei*.

**c. Campuran medium NA-filtrat**

Medium campuran NA dan Filtrat dibuat untuk pertumbuhan kuman uji dalam perlakuan dalam percobaan pengaruh filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota*

terhadap kuman uji. Komposisi medium NA dalam tiap liter mengandung :

3 g Bacto ekstrak daging

10 g Bacto pepton

5 g NaCl

15 g Agar powder

Untuk membuat medium campuran NA dan filtrat, medium NA dibuat terlebih dahulu. Empat komponen tersebut di atas dilarutkan dalam 1.000 ml aquades, di atas penangas air. Larutan dinyatakan homogen jika telah terlihat jernih. Dibagi dalam tempatnya. Sterilisasi menggunakan autoclave pada 121°C, 2 Atm selama 15 menit. Medium dibagi pada tabung reaksi masing-masing kurang lebih 20 ml atau menurut perlakuan yang dilaksanakan.

**d. Media TSA (*Tryptic Soy Agar, Oxoid*), yang mempunyai komposisi dalam setiap literanya :**

15 g Tryptone

5 g Soya peptone

5 g NaCl

15 g Agar powder

Seluruh komponen media dilarutkan dalam aquades sebanyak 1.000 ml, diaduk hingga rata di atas penangas air. Larutan dinyatakan masak dan homogen jika larutan

terlihat jernih. Selanjutnya dibagikan pada tempatnya. Disterilisasi menggunakan autoclave pada 121°C, 2 Atm selama 15 menit. Media TSA digunakan untuk menumbuhkan secara bersama-sama serta untuk membedakan koloni *L. casei* dengan koloni masing-masing kuman uji

#### 4.5 Alat-alat yang Digunakan Dalam Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan beberapa macam peralatan antara lain :

- Autoclave
- Inkubator
- Sungkup lilin
- Waterbath
- Vaccum pump
- Sentrifugasi
- Lemari es
- Vortex
- Timbangan analitis
- Mikroskop binokuler
- Erlenmeyer, 500 ml, 200 ml, 100 ml, 50 ml, 25 ml
- Cawan petri Ø9 cm
- Tabung reaksi
- Pipet 5 ml, 1 ml dan mikropipet
- Lampu bunsen Spiritus
- Kertas milipor 0,2 µm

- Jarum ose
- Kapas dan kertas kayu

#### 4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

##### 4.6.1 Lokasi penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi pada Program-program Studi MIPA Universitas Jember.

##### 4.6.2 Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 1998 hingga Februari 1999.

#### 4.7 Prosedur Pengumpulan Data

##### 4.7.1 Uji daya kerja filtrat *L. casei* terhadap kuman uji

###### a. Membuat biakan *L. casei* Subsp. *Shirota*

Biakan *L. casei* Subsp. *Shirota* diperbanyak pada medium MRS agar. Inkubasi dilakukan pada sungkup lilin dan dimasukkan pada inkubator dengan suhu pengeraman 37°C selama 48 jam

b. Membuat biakan *L. casei* pada TGY broth. Biakan ini dibuat untuk diambil filtratnya, sebelumnya dibuat starternya. Starter dibuat pada medium yang sama. Disiapkan TGY broth pada pH 6,5 sebanyak 100 ml, kemudian dibagi menjadi 2 bagian, terdiri dari 90 ml (dalam Erlen meyer 100 ml) yang digunakan untuk memperoleh filtrat dan 10 ml (dalam Erlen meyer 25 ml) untuk starter.

Starter dibuat dengan menginokulasikan 1 tabung biakan *L. casei* umur 24 jam dalam 10 ml TGY broth dan diinkubasi pada sungkup lilin dan dimasukkan dalam inkubator yang dipastikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Secara aseptis starter diinokulasikan

dalam TGY broth 90 ml untuk dibuat sebagai kultur utama. Diinkubasikan pada sungkup lilin dan dimasukkan dalam inkubator yang dipastikan pada suhu 37°C, selama 96 jam. Medium cair tersebut disentrifugasi untuk memperoleh filtrat.

#### c. Cara pemisahan filtrat

Filtrat diperoleh dengan cara memisahkan supernatan dari massa selnya, dengan cara sentrifugasi cairan hasil fermentasi *L. casei* pada TGY broth pada 2.000 rpm selama 15 menit pada 4°C. Selanjutnya dilakukan sterilisasi terhadap supernatan, dengan cara saring menggunakan kertas milipor 0,2 µm. Filtrat yang dihasilkan berupa cairan jernih berwarna kekuningan. pH akhir filtrat menunjukkan 3,8.

### 4.7.2 Interaksi antara kultur hidup *L. casei* dengan kuman uji

#### a. Membuat biakan *L. casei* Subsp. *Shirota* pada MRS agar

*L. casei* disediakan pada medium miring MRS agar umur 24 jam.

#### b. Membuat biakan berbagai kuman uji

Ketiga jenis kuman uji (*S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli*) disediakan pada medium NA miring umur 24 jam.

#### c. Menyiapkan media TSA

Media TSA disiapkan yang digunakan untuk menumbuhkan secara bersama-sama *L. casei* dengan kuman uji.

#### 4.7.3 Membuat suspensi biakan uji

- Menyiapkan 5 ml NaCl 0,85% steril pada tabung reaksi
  - Menggambil 5 koloni dari biakan kuman pada NA umur 24 jam, kemudian disuspensikan pada 5 ml NaCl dan dikocok dengan vortek.
  - Ditera pada spektrofotometer (Spectronic) pada nilai absorban 0,065 (*S. typhimurium*), 0,082 (*E. coli*) dan 0,066 (*S. flexneri*).
- Diencerkan hingga pengenceran 10<sup>5</sup>, dengan cara seri.
- Dilakukan penanaman untuk menghitung jumlah bakteri yang memenuhi syarat untuk perhitungan yaitu antara 30-300 koloni per cawan petri.

#### 4.8 Tahap Pelaksanaan Penelitian

##### 4.8.1 Uji Daya Kerja Filtrat *L. casei* subsp. *Shirota*

Untuk menguji pengaruh filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota* digunakan metoda *Total Plate Count* dengan cara tuang (*pour plate method*). Filtrat dicampurkan pada medium kemudian bersamaan dengan medium tersebut dituang sampel kuman uji. Dengan menghitung total plate count dapat diketahui pengaruh filtrat terhadap kuman.

Medium yang digunakan pada metoda ini adalah Nutrient Agar (NA). NA yang dibuat disesuaikan dengan kebutuhan perlakuan. Ada beberapa NA dengan kadar air yang berbeda-beda. NA<sub>1</sub> = NA powder + 1.000 ml air; NA<sub>1</sub> = NA powder + 990 ml air, NA<sub>2</sub> = NA powder + 980 ml air; NA<sub>2</sub> = NA powder + 960 ml air dan seterusnya.

Adapun filtrat yang digunakan adalah dari berbagai tingkat pengenceran yaitu mulai dari : 0,0% filtrat, 1,0% filtrat 2,0% filtrat hingga 8,0% filtrat (vol/vol). Filtrat yang digunakan sebelumnya dinetralisir menjadi pH 7.

Sebelum dicampurkan medium NA terlebih dahulu dicairkan dan disimpan pada waterbath yang dipastikan pada suhu 45°C. Sebelum dituang dilakukan pencampuran dengan filtrat dan kemudian disuspensikan 0,1 ml suspensi biakan yang telah ditera jumlahnya.

**(a) Pengaruh filtrat terhadap *S. typhimurium***

**Kontrol : 20 ml NA + 0 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**1. 1% : 19,8 ml NA<sub>1</sub> + 0,2 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**2. 2% : 19,6 ml NA<sub>2</sub> + 0,4 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**3. 3% : 19,4 ml NA<sub>3</sub> + 0,6 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**4. 4% : 19,2 ml NA<sub>4</sub> + 0,8 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**5. 5% : 19,0 ml NA<sub>5</sub> + 1,0 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**6. 6% : 18,8 ml NA<sub>6</sub> + 1,2 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**7. 7% : 18,6 ml NA<sub>7</sub> + 1,4 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**8. 8% : 18,4 ml NA<sub>8</sub> + 1,6 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**(b) Pengaruh filtrat terhadap *S. flexneri***

**Kontrol : 20 ml NA + 0 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**1. 1% : 19,8 ml NA<sub>1</sub> + 0,2 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**2. 2% : 19,6 ml NA<sub>2</sub> + 0,4 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**3. 3% : 19,4 ml NA<sub>3</sub> + 0,6 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**4. 4% : 19,2 ml NA<sub>4</sub> + 0,8 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**5. 5% : 19,0 ml NA<sub>5</sub> + 1,0 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**

**6. 6% : 18,8 ml NA<sub>6</sub> + 1,2 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman**



**(c) Pengaruh filtrat terhadap kuman *E. coli***

- Kontrol : 20 ml NA<sub>k</sub> + 0,0 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman
1. 0,5% : 19,9 ml NA<sub>k</sub> + 0,1 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman
  2. 1% : 19,8 ml NA<sub>1</sub> + 0,2 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman
  3. 1,5% : 19,7 ml NA<sub>2</sub> + 0,3 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman
  4. 2,0% : 19,6 ml NA<sub>3</sub> + 0,4 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman
  5. 2,5% : 19,5 ml NA<sub>4</sub> + 0,5 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman
  6. 3,0% : 19,4 ml NA<sub>5</sub> + 0,6 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman
  7. 3,5% : 19,3 ml NA<sub>6</sub> + 0,7 ml filtrat + 0,1 ml suspensi kuman

Masing-masing volume filtrat ditambahkan pada NA dalam keadaan medium tersebut masih mencair (dipastikan dengan Waterbath pada suhu 45°C). Kemudian diinokulasikan (metoda delusi) 0,1 ml suspensi biakan kuman. Inkubasi dilakukan di dalam inkubator pada 37°C selama 18 jam. Masing-masing perlakuan diulangi 6 kali (duplo).

Dihitung jumlah koloni yang muncul. Kontrol dalam percobaan ini adalah medium NA tanpa penambahan filtrat.

**4.8.2 Interaksi antara *L. casei* Subsp. *Shirota* dengan kuman**

Percobaan ini untuk mengetahui pengaruh kehidupan bersama antara biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap pertumbuhan kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli*. Prinsip pelaksanaannya adalah menanam secara bersama-sama antara biakan *L. casei* Subsp. *Shirota* dan kuman uji pada perbandingan jumlah yang ditentukan.

Perbandingan antara *L. casei* hidup dengan kuman uji sebagai berikut :

<i>L. casei</i> Subsp. <i>Shtrota</i>	:	Kuman uji
0	:	1
1.000	:	1
2.000	:	1
4.000	:	1
6.000	:	1
8.000	:	1
10.000	:	1

Pengamatan meliputi : Jumlah koloni kuman yang muncul (*cfu*) pada masing-masing perlakuan dan ukuran diameter koloni kuman uji. Untuk menghitung ukuran (mm) koloni kuman uji dipilih secara acak 10 persen dari jumlah yang muncul.

Untuk membedakan koloni *L. casei* dengan kuman uji dalam percobaan ini menggunakan medium TSA. Pada medium TSA koloni *L. casei* mudah dibedakan dengan kuman uji yaitu *L. casei* mempunyai kenampakan jauh lebih buram (*opaque*) dan tebal dari pada koloni kuman uji.

#### 4.9 Cara Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan analisis varian satu jalur dengan tingkat kepercayaan 5% ( $\alpha = 0,05$ ). Jika ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji LSD. Selain itu diuji regresi linier dan kuadratik.

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Ada dua macam hasil percobaan yaitu pengaruh filtrat terhadap kuman dan pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shtrota* terhadap kuman. Dengan cara menghitung jumlah lempeng total dan ukuran diameter koloni yang muncul, maka dapat diprediksi daya hambat filtrat dan biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shtrota* pada kuman. Berikut ini disajikan analisis hasil penelitian.

#### 5.1 Pengaruh Filtrat Terhadap Kuman

Ada tiga macam hasil analisis data pengaruh filtrat terhadap kuman, yaitu : pengaruh filtrat terhadap kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan pengaruh filtrat terhadap kuman *E. coli*.

##### 5.1.1 Pengaruh filtrat terhadap kuman *S. typhimurium*

Untuk mengetahui pengaruh filtrat terhadap kuman *S. typhimurium* diperoleh dua macam data yaitu : pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* dan pengaruh filtrat terhadap diameter koloni *S. typhimurium*. Berikut ini disajikan analisis varian pengaruh filtrat terhadap kuman *S. typhimurium*.

(1) Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*

Tabel 5.1 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 1).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Prob.
Antar perlakuan	7	51659,3281	7379,9040	6,6735	0,0000*
Dalam perlakuan	40	44233,7917	1105,8448		
Total	47	95893,1198			

Keterangan : \* berbeda signifikan

Dari Tabel 5.1 nilai rata-rata antara perlakuan berbeda signifikan dengan F probabilitas = 0,0000 ( $P < 0,05$ ). Artinya filtrat yang ditambahkan pada medium berpengaruh signifikan mereduksi jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* yang ditumbuhkan secara *in vitro*.

Untuk mengetahui beda antar perlakuan maka diuji dengan LSD.

Tabel 5.2 Beda signifikan antara perlakuan pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*

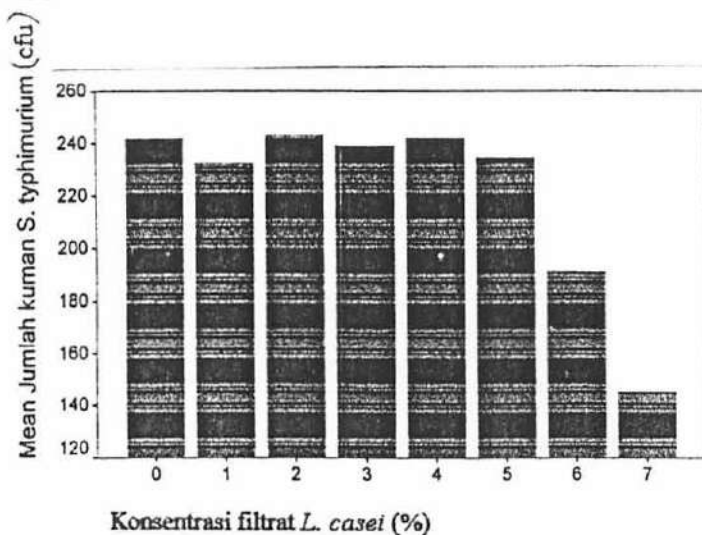
Kelompok	Kontrol	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%
Rata-rata	241,833	232,2500	243,0833	238,8333	242,0000	234,5000	191,0833	145,3333	0
Jumlah Lempeng Total (cfu)									

Keterangan : Angka 1%, 2%, 3%, ...8% adalah persentase filtrat  
 Nilai-nilai yang dihubungkan dengan garis tidak berbeda signifikan

Dari Tabel 5.2 dapat dilihat bahwa penambahan filtrat sebanyak 6% dan 7% (vol/vol) pada medium berpengaruh signifikan mereduksi jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* yang ditumbuhkan. Adapun *S. typhimurium* tidak tumbuh pada medium yang ditambah dengan  $\geq 8\%$  filtrat. Nilai rata-rata jumlah lempeng total kuman yang ditumbuhkan pada medium yang ditambah dengan filtrat 6% berbeda signifikan dengan medium yang ditambah dengan 7% filtrat, 5% filtrat, 4% filtrat, 3% filtrat, 2% filtrat, 1%

filtrat maupun dengan kontrol (0% filtrat). Sedangkan nilai rata-rata jumlah lempeng total kuman yang ditambahkan pada medium yang ditambah dengan 7% filtrat berbeda signifikan dengan filtrat sebanyak 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% dan dengan kontrol (0% filtrat). Sehingga secara umum dikatakan bahwa penambahan  $\geq 8\%$  filtrat yang ditambahkan pada medium pertumbuhannya berpengaruh signifikan mereduksi jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*.

Penampilan diagram batang (Gambar 5.1), bahwa nilai rata-rata jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* pada medium yang ditambah dengan 6% filtrat adalah 191,0833 cfu, merupakan nilai di bawah nilai rata-rata kontrol yaitu 241,8333 cfu ataupun nilai-nilai perlakuan yang lainnya, sehingga dinyatakan berbeda signifikan. Demikian juga rata-rata jumlah lempeng total kuman pada medium yang ditambah dengan 7% filtrat adalah 145,333 cfu berbeda signifikan dengan rata-rata jumlah lempeng total kuman perlakuan yang lainnya.



Gambar 5.1 Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*

Tabel 5.3a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 1).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	1	29180,905	29180,905	20,12108	0,0000 *
Residu	46	66712,215	1450,266		

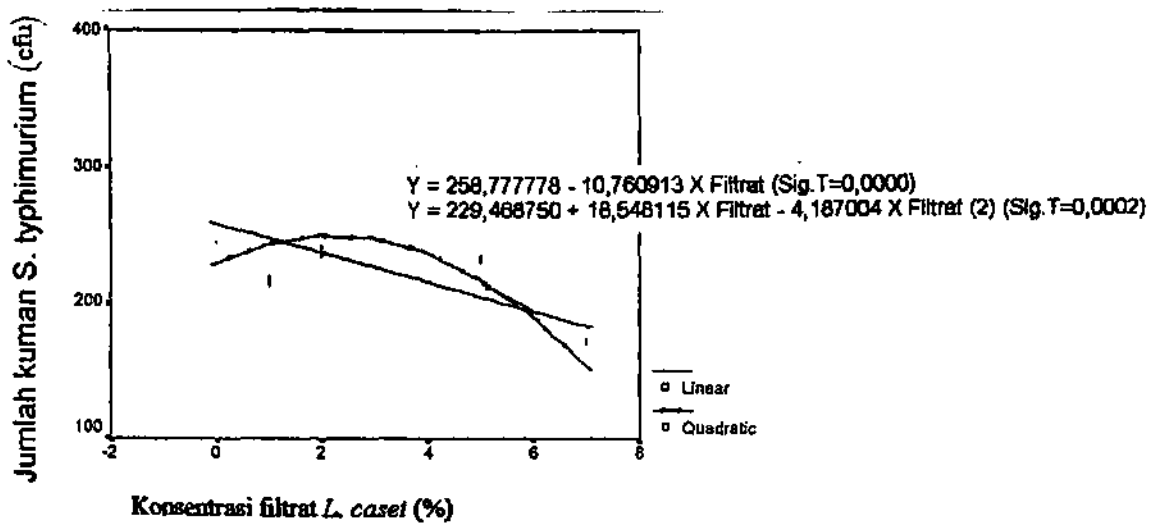
Keterangan : \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.3b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 1)

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	2	46852,155	2346,078	21,49577	0,0000*
Residu	45	49040,965	1089,799		

Keterangan : \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.3a,b yang diperlihatkan pada Gambar 5.2, bahwa ada hubungan signifikan antara penambahan jumlah filtrat pada medium dengan reduksi jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* (Signif. F <0,05). Semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium maka berpengaruh signifikan menurunkan jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*, namun pada penambahan ≥8% filtrat, *S. typhimurium* tidak dapat tumbuh.



Gambar 5.2 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* pada filtrat

Berikut ini hasil analisis pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman

*S. typhimurium*.

Tabel 5.4 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 3)

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Prob.
Antar perlakuan	7	13,2317	1,8902	29,1628	0,0000*
Dalam perlakuan	40	2,5927	0,0648		
Total	47	15,8244			

Keterangan : \* berbeda signifikan

Dari analisis Tabel 5.4, nilai rata-rata antar perlakuan berbeda signifikan dengan F probabilitas = 0,0000 ( $P < 0,05$ ). Artinya penambahan filtrat pada medium berpengaruh mengkerdilkan koloni kuman *S. typhimurium*. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan diuji dengan LSD.

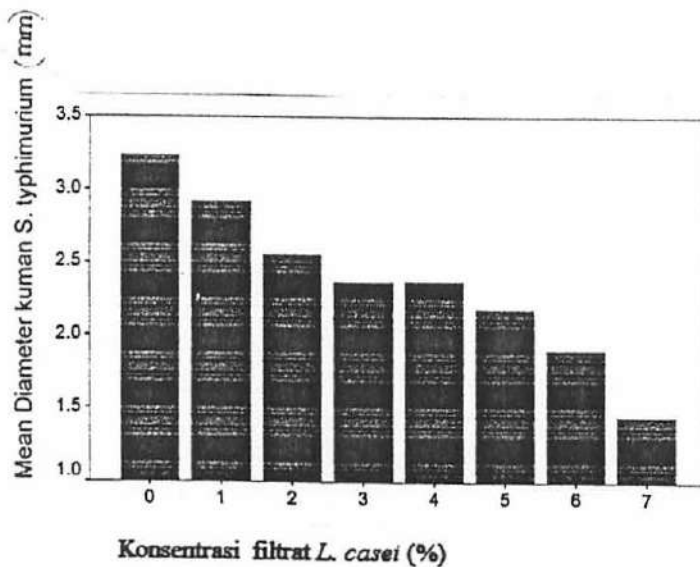
Tabel 5.5 Beda signifikan antar perlakuan pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium*

Kelompok Kontrol	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	
Rata-rata Ukuran Dia- meter Koloni (mm)	3,2350	2,9233	2,5550	2,3700	2,3650	2,1817	1,8983	1,4433	0

Keterangan : Angka 1%, 2%, 3%, ...8% adalah persentase filtrat  
 Nilai-nilai yang dihubungkan dengan garis tidak beda signifikan

Secara umum pada Tabel 5.5 menunjukkan bahwa filtrat yang ditambahkan pada medium berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni kuman *S. typhimurium*. Pengkerdilan ukuran koloni *S. typhimurium* yang tumbuh pada medium yang ditambah dengan 7% filtrat berbeda signifikan dengan ukuran koloni yang tumbuh pada medium yang ditambah 6% filtrat, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% maupun kontrol (0% filtrat).

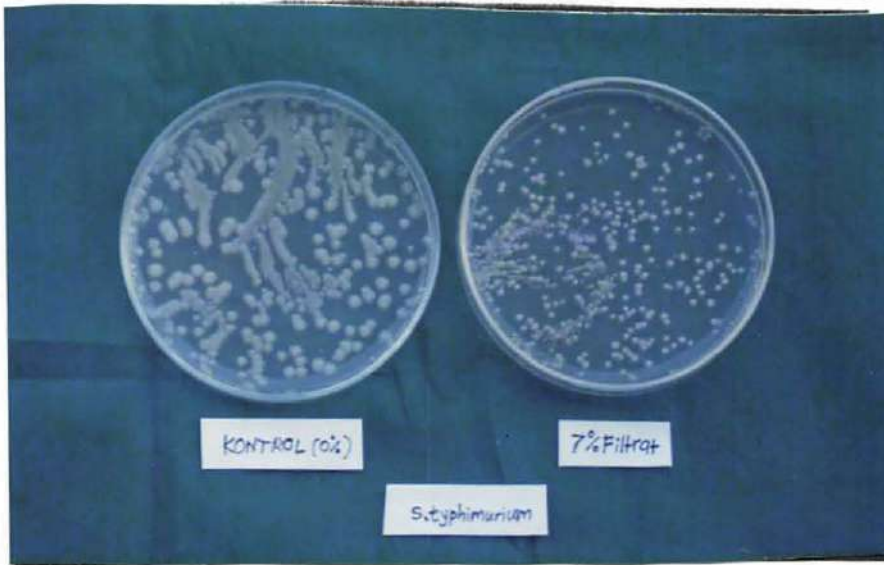
Nampak pada diagram batang (Gambar 5.3) semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium maka semakin sempit ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium*. Nampak bahwa nilai rata-rata ukuran diameter koloni pada kontrol 3,2350 mm berbeda signifikan dengan nilai rata-rata ukuran koloni yang tumbuh pada medium yang ditambah dengan 1% filtrat, 2%, 3%, 4%, 5%, 6% maupun dengan 7% filtrat (vol/vol) yang berturut-turut mempunyai nilai rata-rata 2,9233 mm, 2,5550 mm, 1,8933 mm, 2,3650 mm, 2,1817 mm, 1,8983 mm dan 1,4433 mm. Sehingga semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium semakin kecil pula diameter koloni kuman *S. typhimurium*.



Gambar 5.3 Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *S. typhimurium*

Gambar 5.4, secara visual memperlihatkan perbedaan yang mencolok ukuran diameter koloni kuman antara kontrol (0% filtrat) dengan koloni kuman *S. typhimurium* pada medium yang ditambah dengan 7% filtrat.





Gambar 5.4 Pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* : perbandingan antara kontrol (0% filtrat vs 7% filtrat).

Tabel 5.6a. Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 3).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif.F
Regresi	1	12,598250	12,598250	179,63204	0,0000*
Residu	46	3,226148	0,070134		

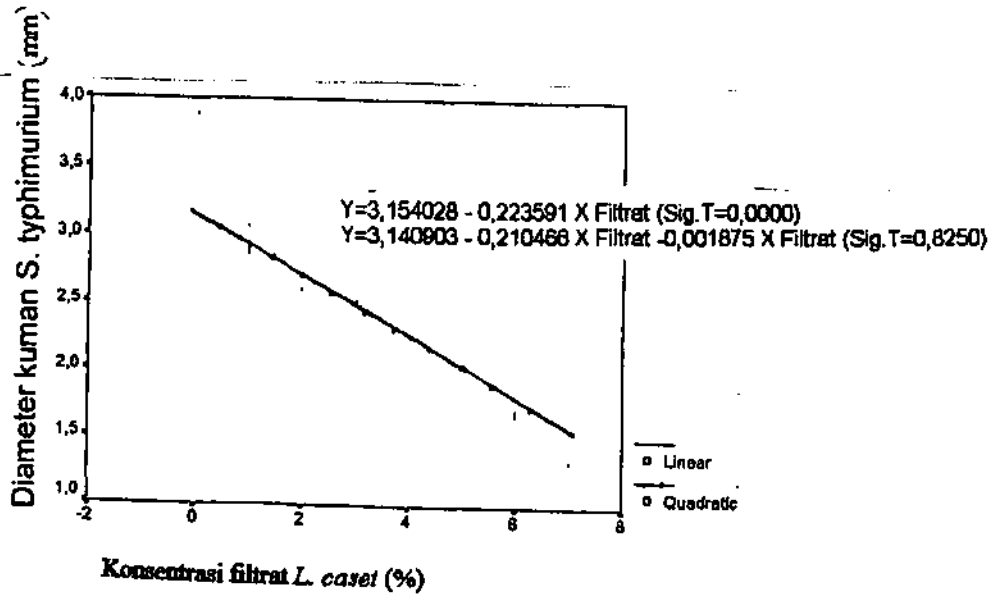
Keterangan : \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.6b Analisis varian regresi kuadratik penngaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 3).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif.F
Regresi	1	12,601794	6,3008969	87,98486	0,0000*
Residu	45	3,222604	0,07161134		

Keterangan : \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.6a,b yang diperlihatkan pada Gambar 5.5 menunjukkan bahwa ada hubungan yang signifikan antara jumlah persentase filtrat yang ditambahkan pada medium dengan ukuran koloni kuman yang muncul. Semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium maka semakin kecil koloni kuman *S. typhimurium* yang muncul.



Gambar 5.5 Hubungan regresi ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* pada filtrat

5.1.2 Pengaruh filtrat terhadap kuman *S. flexneri*

Untuk mengetahui pengaruh filtrat terhadap *S. flexneri*, diperoleh dua macam analisis yaitu pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* dan pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*.

(1) Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*

Tabel 5.7 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 5).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F. Prob.
Antar perlakuan	5	32418,8889	6483,7878	10,98	0,0000*
Dalam perlakuan	30	17718,0833	590,6028		
Total	35	50136,9722			

Keterangan : \* berbeda signifikan

Dari Tabel 5.7 rata-rata antar perlakuan berbeda signifikan dengan  $F$  probabilitas = 0,0000 ( $P < 0,05$ ). Artinya filtrat yang ditambahkan pada medium pertumbuhan berpengaruh signifikan dalam mereduksi jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*.

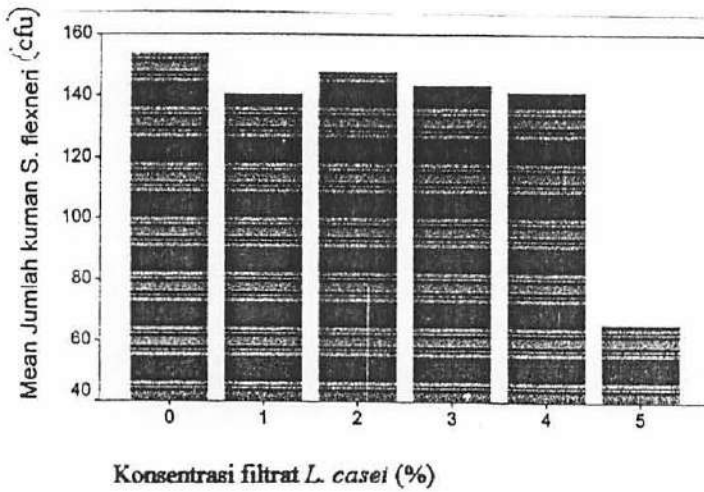
Tabel 5.8 Beda signifikan antar perlakuan filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*

Kelompok	Kontrol	1%	2%	3%	4%	5%	6%
Rata-rata Jumlah Lempeng Total (cfu)	153,6667	147,6667	143,4167	141,2500	140,5000	65,0000	0

Keterangan : Angka 1%, 2%, 3%, ...6% adalah persentase filtrat  
 Nilai-nilai yang dihubungkan dengan garis tidak berbeda signifikan

Dari Tabel 5.8 diketahui bahwa pada medium yang ditambah dengan 5% filtrat (vol/vol) jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* tereduksi secara signifikan berturut turut dengan kontrol (penambahan 0% filtrat), medium yang ditambah dengan 1%, 2%, 3% dan 4% filtrat (vol/vol). Pada medium yang ditambah dengan  $\geq 6\%$  filtrat, kuman *S. flexneri* tidak tumbuh.

Pada diagram batang (Gambar 5.6) ada perbedaan yang signifikan antara rata-rata jumlah lempeng total kuman yang ditumbuhkan pada medium kontrol (0% filtrat) maupun 1%, 2%, 3% dan 4% filtrat dengan jumlah lempeng total kuman yang ditumbuhkan pada medium yang ditambah dengan 5% filtrat, yaitu berturut-turut 153,6667 cfu, 140,5000 cfu, 147,6667 cfu, 143,4167 cfu dan 141,2500 cfu dengan 65,6667 cfu. Sehingga secara umum dikatakan bahwa komponen senyawa dalam filtrat secara *in vitro* menghambat pertumbuhan dan perkembangan *S. flexneri*.



Gambar 5.6 Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*

Analisis regresi berikut ini adalah merupakan hubungan jumlah lempeng total kuman pada filtrat.

Tabel 5.9a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 27).

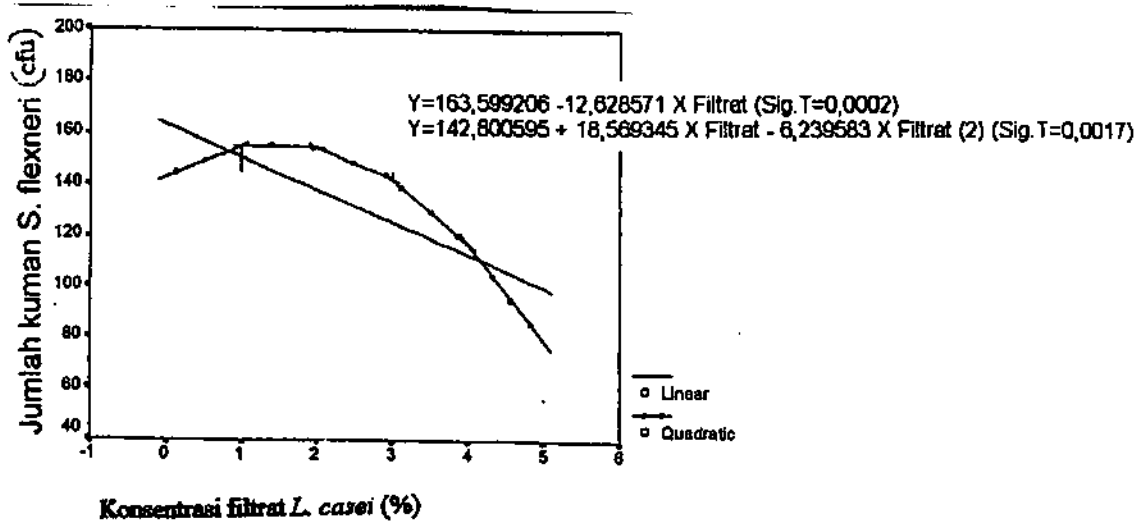
Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	1	16745,486	16745,486	17,050065	0,0002*
Regresi	34	33391,487	982,103		

Keterangan : \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.9b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 27).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	2	25466,343	12733,172	17,03218	0,0000*
Residu	33	24670,629	747,595		

Keterangan : \* Ada hubungan signifikan



Gambar 5.7 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* pada filtrat

Pada Tabel 5.9a,b yang diperlihatkan pada Gambar 5.7 ada hubungan signifikan antara jumlah filtrat yang ditambahkan pada medium dengan reduksi jumlah lempeng total kuman yang ditumbuhkannya (Signif.  $F < 0,05$ ). Semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium, maka semakin kuat reduksi kuman *S. flexneri*, hingga batas penambahan jumlah filtrat tertentu ( $\geq 6\%$  filtrat) kuman tidak dapat tumbuh. Secara *in vitro* pertumbuhan *S. flexneri* dipengaruhi oleh filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota*.

(1) Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *S. flexneri*

Tabel 5.10 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 7).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Prob.
Anatar perlakuan	5	4,9668	0,9934	18,5351	0,0000*
Dalam perlakuan	30	1,6078	0,05336		
Total	35	6,5746			

Keterangan : \* berbeda signifikan

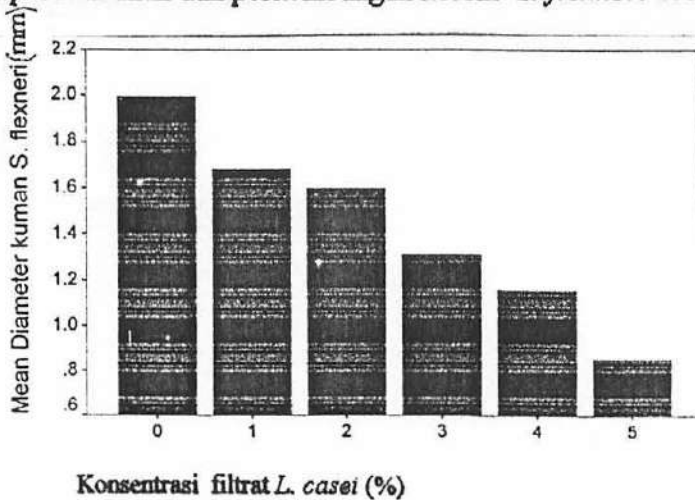
Dari Tabel 5.10 nilai rata-rata antar perlakuan dinyatakan berbeda signifikan dengan F probabilitas = 0,0000 ( $P < 0,05$ ). Tabel 5.11 menunjukkan beda antar perlakuan.

Tabel 5.11 Beda signifikan antar perlakuan pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*

Kelompok	Kontrol	1%	2%	3%	4%	5%	6%
Rata-rata Diameter Koloni (mm)	1,9950	1,6817	1,5967	1,3117	1,1600	0,8550	0

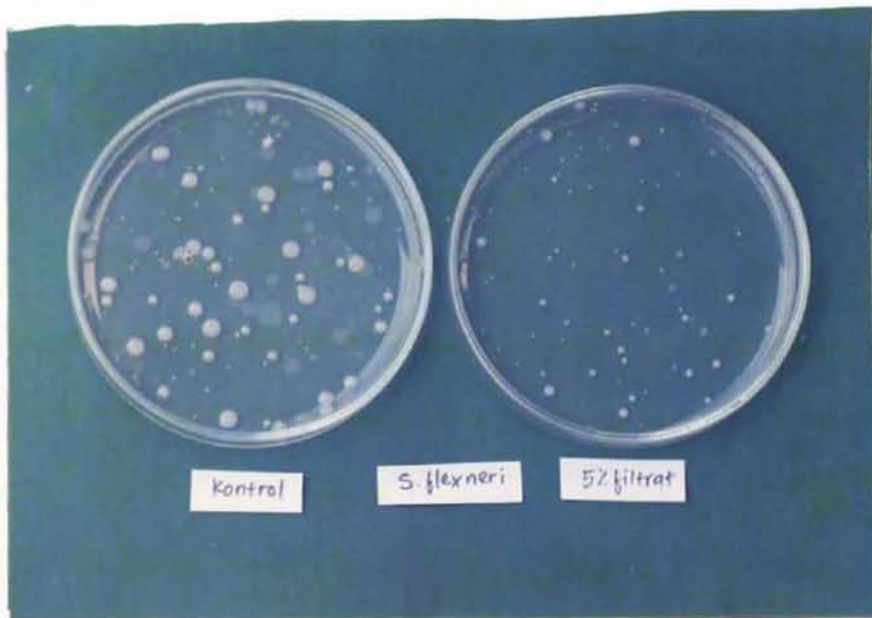
Keterangan : Angka 1%, 2%, 3%, ...6% adalah persentase filtrat  
 Nilai-nilai yang dihubungkan dengan garis tidak beda signifikan

Nampak pada diagram batang (Gambar 5.8) semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium pertumbuhan, semakin sempit ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*. Nilai rata-rata ukuran diameter koloni untuk kontrol (0% filtrat) yaitu 1,9950 mm merupakan nilai yang berbeda signifikan dengan ukuran diameter koloni yang ditambah dengan 1%, 2%, 3%, 4% maupun 5% filtrat (vol/vol), masing-masing mempunyai nilai rata-rata berturut-turut 1,6817 mm, 1,5967 mm, 1,3117 mm, 1,1600 mm dan 0,8550 mm. Sehingga dapat dikatakan bahwa filtrat mampu mengkerdilkan koloni atau berpengaruh menghambat pertumbuhan dan perkembangan koloni *S. flexneri* secara *in vitro*.



Gambar 5.8 Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni *S. flexneri*

Demikian juga secara visual (Gambar 5.9) menunjukkan perbedaan ukuran diameter yang menyolok pada medium kontrol (0%) dengan diameter koloni-koloni kuman yang ditumbuhkan pada medium yang ditambah dengan 5% filtrat. Yaitu dengan angka dinyatakan 1,9950 mm (kontrol) sangat berbeda jauh dengan 0,8550 mm (5% filtrat), sehingga secara visual nampak kerdil untuk koloni-koloni yang tumbuh pada medium yang ditambah dengan 5% filtrat (vol/vol). Secara umum dikatakan bahwa filtrat mampu mengkerdilkan koloni *S. flexneri* secara *in vitro*.



Gambar 5.9 Pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri* : perbandingan ukuran koloni kontrol (0% filtrat) Vs 5% filtrat

Berikut ini analisis regresi hubungan pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *S. flexneri*.

Tabel 5.12a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 7).

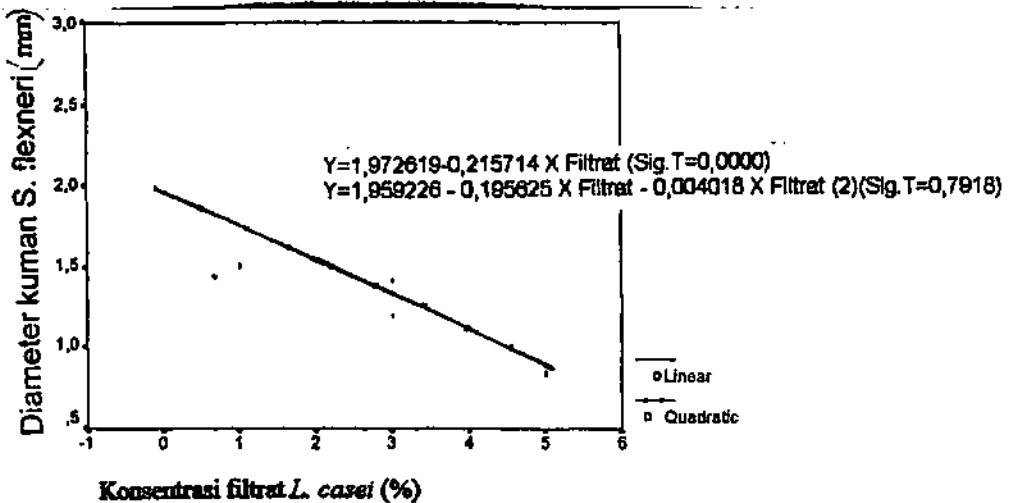
Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif. F
Residu	1	4,8859286	4,8859286	98,37412	0,0000*
Residu	34	1,6886714	0,0496668		

Keterangan: \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.12b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 7)

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif. F
Residu	1	4,8895446	2,4447723	47,87824	0,0000*
Residu	33	1,6850554	0,0510623		

Keterangan: \* Ada hubungan signifikan



Gambar 5.10 Hubungan regresi diameter koloni *S. flexneri* pada filtrat

Dari Tabel 5.12a,b yang diperlihatkan pada Gambar 5.10 dinyatakan ada hubungan signifikan antara jumlah filtrat yang ditambahkan pada medium dengan ukuran koloni kuman *S. flexneri* yang ditumbuhkan (Signif. F < 0,05). Semakin banyak filtrat yang ditambahkan



pada medium maka berpengaruh memperkecil ukuran koloni kuman *S. flexneri*.

5.1.3 Pengaruh filtrat terhadap kuman *E. coli*

Untuk mengetahui pengaruh filtrat terhadap kuman *E. coli* diperoleh dua macam data yaitu : pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli* dan pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *E. coli*.

(1) Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli*

Tabel 5.13 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 9).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F. Prob.
Antar perlakuan	6	6386,2262	1064,3710	2,4215	0,0102*
Dalam perlakuan	35	15384,5417	439,5583		
Total	41	21770,7679			

Keterangan : \* berbeda signifikan

Dari Tabel 5.13 nilai rata-rata antar perlakuan dinyatakan ada beda signifikan dengan F probabilitas = 0,0102 ( $P < 0,05$ ). Artinya filtrat yang ditambahkan pada medium berpengaruh signifikan mereduksi jumlah lempeng total kuman *E. coli*.

Tabel 5.14 Beda signifikan antar perlakuan pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli*

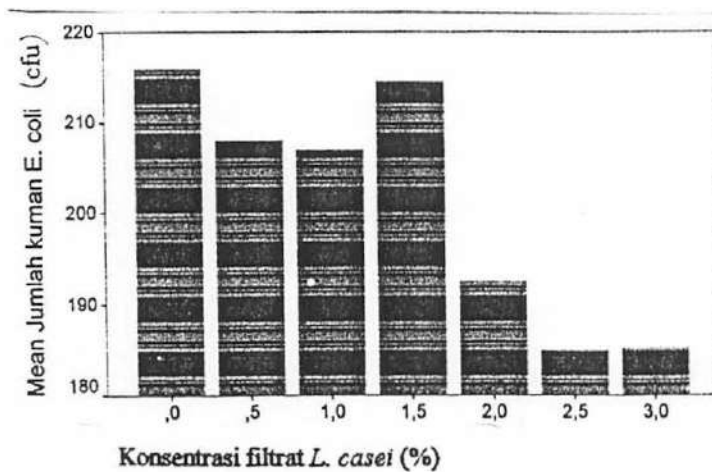
Kelompok	Kontrol	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%
Rata-rata	215,8333	208,000	206,9167	214,4167	192,4167	184,9167	185,2500	0
Jumlah Lempeng Total (cfu)								

Keterangan : Angka 0,5%, 1,0%, 1,5%, ...3,5% adalah persentase filtrat  
 Nilai-nilai yang dilubungkan dengan garis tidak beda signifikan

Tabel 5.14 menunjukkan bahwa reduksi jumlah lempeng total kuman *E. coli* terlihat pada medium yang ditambah dengan 2,5% filtrat. Sedangkan pada medium yang ditambah dengan

yang ditambah dengan  $\geq 3,5\%$  filtrat kuman *E. coli* tidak tumbuh.

Penampilan diagram batang (Gambar 5.11) menunjukkan pengaruh filtrat terhadap *E. coli* yaitu nilai rata-rata jumlah lempeng lempeng kuman pada medium yang ditambah dengan 2,5% filtrat adalah 185,2500 cfu merupakan nilai rata-rata di bawah nilai kontrol (0% filtrat) yaitu 215,8333 cfu ataupun di bawah nilai-nilai yang lain, sehingga dinyatakan berbeda signifikan. Demikian juga nilai rata-rata jumlah kuman pada medium yang ditambah dengan 3% filtrat adalah 184,9167 cfu berbeda signifikan dengan nilai rata-rata perlakuan lainnya. Sehingga pada diagram batang nampak hasil yang semakin menurun. Ini berarti filtrat berpengaruh mereduksi jumlah lempeng total kuman *E. coli in vitro*.



Gambar 5.11 Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli*

Tabel 5.15a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 9).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F. hitung	Signif. F
Residu	1	4978,037	4978,0372	11,85760	0,0014*
Residu	40	16792,731	419,8183		

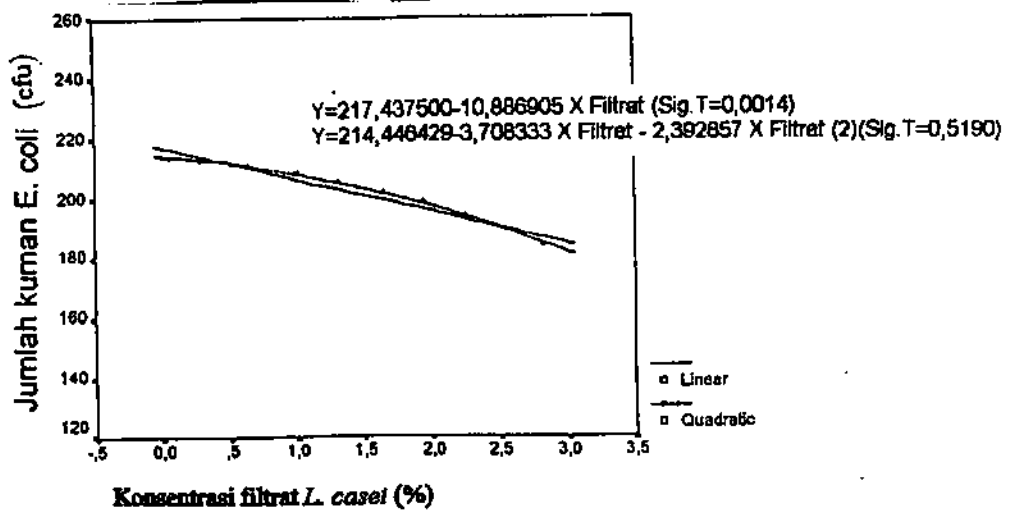
Keterangan: \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.15b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 9).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Residu	2	5158,399	2579,1994	6,05505	0,0002*
Residu	39	16612,369	425,9582		

Keterangan: \* Ada hubungan signifikan.

Tabel 5.15a,b yang diperlihatkan pada Gambar 5.12 dapat dibaca bahwa ada hubungan yang signifikan antara jumlah filtrat yang ditambahkan pada medium dengan reduksi jumlah lempeng total kuman *E. coli*. (Signif F<0,05) Semakin banyak filtrat yang ditambahkan maka semakin tereduksi jumlah lempeng total kuman *E. coli*, namun pada batas penambahan filtrat tertentu (3,5% filtrat) *E. coli* tidak tumbuh.



Gambar 5.12 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman *E. coli* pada filtrat.

(1) Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *E. coli*Tabel 5.16 Analisis varian pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 11).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F. Prob.
Antar perlakuan	6	6,7765	1,1294	77,4915	0,0000*
Dalam perlakuan	35	0,5101	0,0146		
Total	41	7,2866			

Keterangan : \* berbeda signifikan

Dari hasil analisis Tabel 5.16, nilai rata-rata antara perlakuan dinyatakan ada beda signifikan dengan F probabilitas = 0,0000 ( $P < 0,05$ ). Artinya filtrat yang ditambahkan pada medium secara signifikan mampu mereduksi ukuran diameter koloni kuman *E. coli*. Untuk mengetahui beda antar perlakuan diuji dengan LSD.

Tabel 5.17 Beda signifikan antara perlakuan pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter kuman *E. coli*

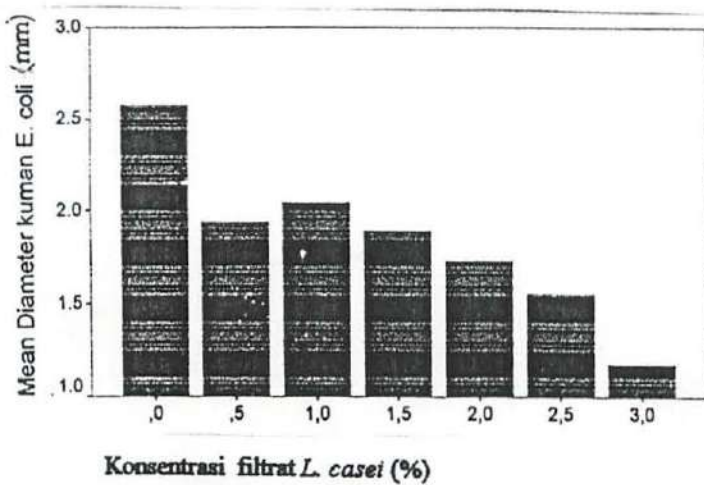
Kelompok	Kontrol	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%
Rata-rata Diameter Koloni kuman (mm)	2,5750	1,9383	2,0467	1,8911	1,7300	1,5533	1,1767	0

Keterangan : Angka 0,5%, 1,0%, 1,5%, ...3,5% adalah persentase filtrat  
Nilai-nilai yang dihubungkan dengan garis tidak beda signifikan

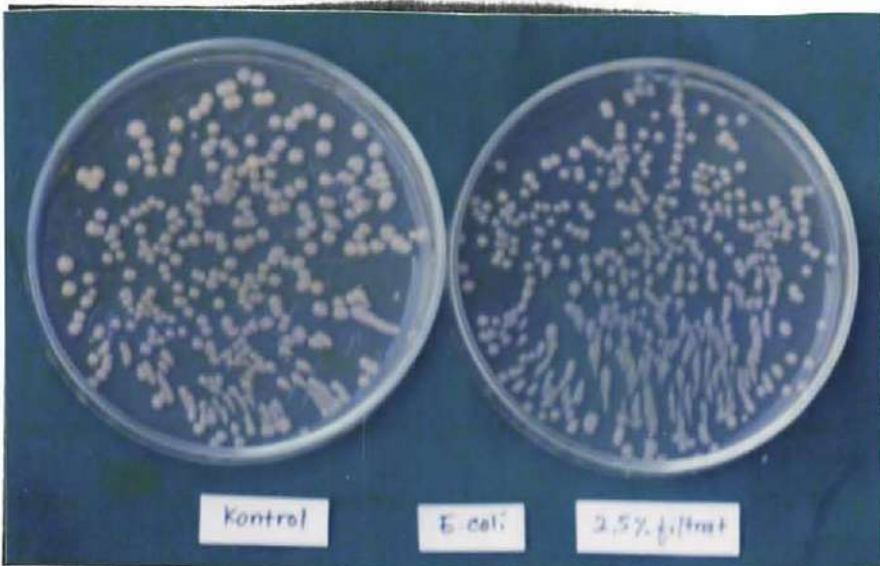
Secara umum pada Tabel 5.17 menunjukkan bahwa filtrat yang ditambahkan pada medium berpengaruh signifikan terhadap pengkerdilan koloni *E. coli*. Hal ini terlihat pada kontrol (penambahan 0% filtrat) berbeda signifikan dengan nilai rata-rata diameter kuman koloni yang tumbuh pada medium yang ditambah dengan 3,0% filtrat. Adapun kuman yang ditumbuhkan pada medium yang ditambah dengan 3,5% filtrat *E. coli* tidak tumbuh.

Dalam diagram batang (Gambar 5.13) terlihat bahwa semakin banyak filtrat yang ditambahkan maka semakin sempit ukuran diameter koloni kuman *E. coli*. Nampak bahwa

nilai rata-rata ukuran koloni pada kontrol yaitu 2,5750 mm adalah berbeda signifikan dengan ukuran koloni yang tumbuh pada medium yang ditambah dengan 2%, 1%, 3%, 4%, 5% dan 6% filtrat (vol/vol) yang memiliki nilai rata-rata diameter berturut-turut 2,0467 mm, 1,9383 mm, 1,8911 mm, 1,7300 mm dan 1,1767 mm. Penampilan secara visual (Gambar 5.14) bahwa ukuran diameter koloni *E. coli* pada medium kontrol lebih besar dari pada koloni yang tumbuh pada medium yang ditambah 2,5% filtrat(vol/vol)



Gambar 5.13 Pengaruh filtrat terhadap ukuran koloni kuman *E. coli*



Gambar 5.14 Pengaruh filtrat terhadap koloni kuman *E. coli* : perbandingan antara kontrol (0% filtrat) vs 2,5% filtrat

Berikut ini analisis regresi yang menggambarkan hubungan pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *E. coli*.

Tabel 5.18a Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 11).

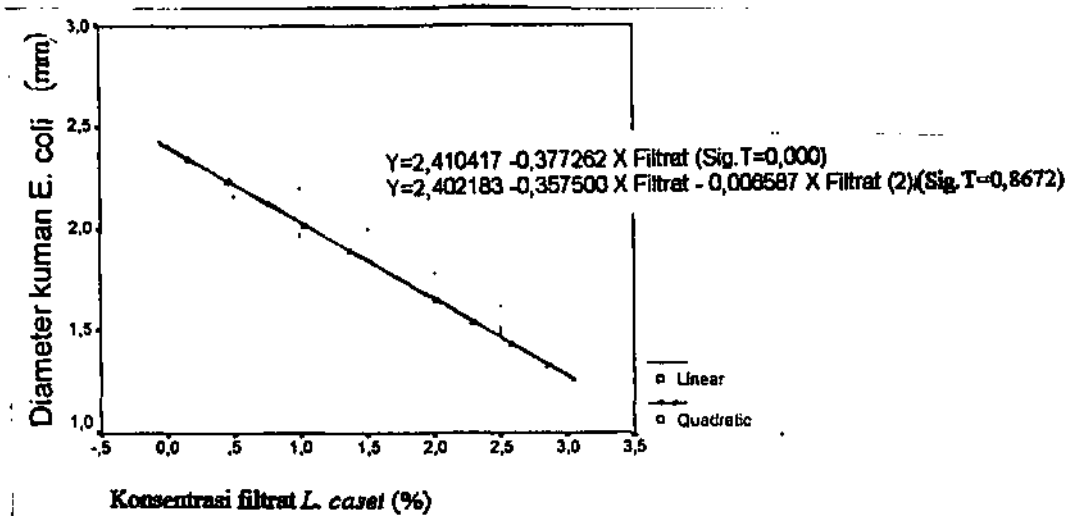
Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	1	54978,037	4978,0372	11,85760	0,0000*
Residu	40	16792,731	419,8183		

Keterangan : \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.18b Analisis varian regresi linier pengaruh filtrat terhadap ukuran diameter koloni kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 11).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	2	5158,399	2579,1994	6,05505	0,0000*
Residu	39	166612,369	425,9582		

Keterangan : \* Ada hubungan signifikan



Gambar 5.15 Hubungan regresi ukuran diameter koloni kuman *E. coli* pada filtrat

Dari Tabel 5.18a,b yang diperlihatkan pada Gambar 5.15 ada hubungan signifikan antara jumlah filtrat yang ditambahkan pada medium dengan diameter koloni kuman (Signif F < 0,05). Semakin tinggi persentase filtrat yang ditambahkan pada medium, maka semakin

kecil ukuran koloni yang tumbuh atau dengan kata lain filtrat mampu mengkerdikan koloni kuman *E. coli*.

## 5.2 Pengaruh Biakan Hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* Terhadap Kuman

Ada tiga macam hasil analisis data tentang pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman yaitu pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman *E. coli*.

### 5.2.1 Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman *S. typhimurium*

Untuk mengetahui pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman *S. typhimurium* diperoleh dua macam hasil analisis data yaitu pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* dan pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap diameter koloni kuman *S. typhimurium*.

(1) Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*

Tabel 5.19 Analisis varian pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 13).

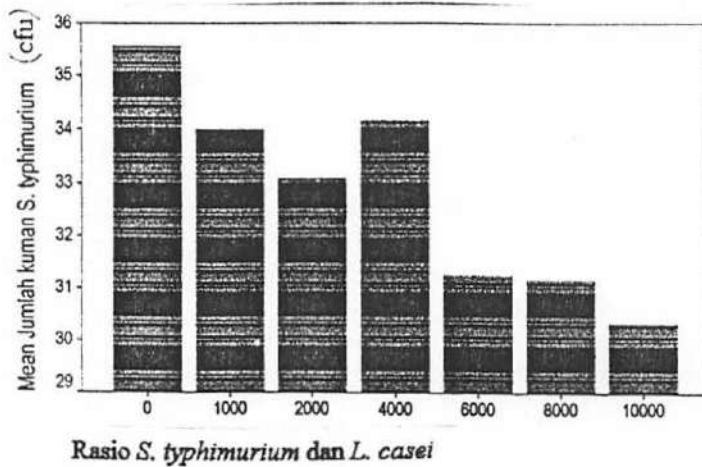
Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F. Prob.
Antar perlakuan	6	133,7381	22,2897	0,9373	0,4809*
Dalam perlakuan	35	832,2917	23,7798		
Total	41	966,0298			

Keterangan : \* tidak signifikan

Dari Tabel 5. 19, nilai rata-rata antar perlakuan tidak signifikan dengan F probabilitas = 0,4809 ( $P > 0,05$ ). Artinya biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium mulai dari 1.000 hingga 10.000 kali jumlah kuman tidak signifikan mereduksi

jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* yang ditumbuhkan secara bersama-sama secara *in vitro*.

Gambar 5.16 menunjukkan bahwa kontrol dengan rata-rata jumlah lempeng total kuman 35,5833 cfu tidak signifikan dengan nilai rata-rata jumlah lempeng total kuman yang ditumbuhkan bersama-sama pada medium yang dicampur dengan biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* hingga 10.000 kali jumlah kuman, mempunyai nilai rata-rata 30,3333 cfu.



Gambar 5.16 Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* hidup terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*

Analisis regresi berikut ini menunjukkan hubungan pengaruh penambahan biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*.

Tabel 5.20a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 13).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	1	87,0239	87,02390	0,6794	0,4147*
Residu	40	5123,2440	28,0811		

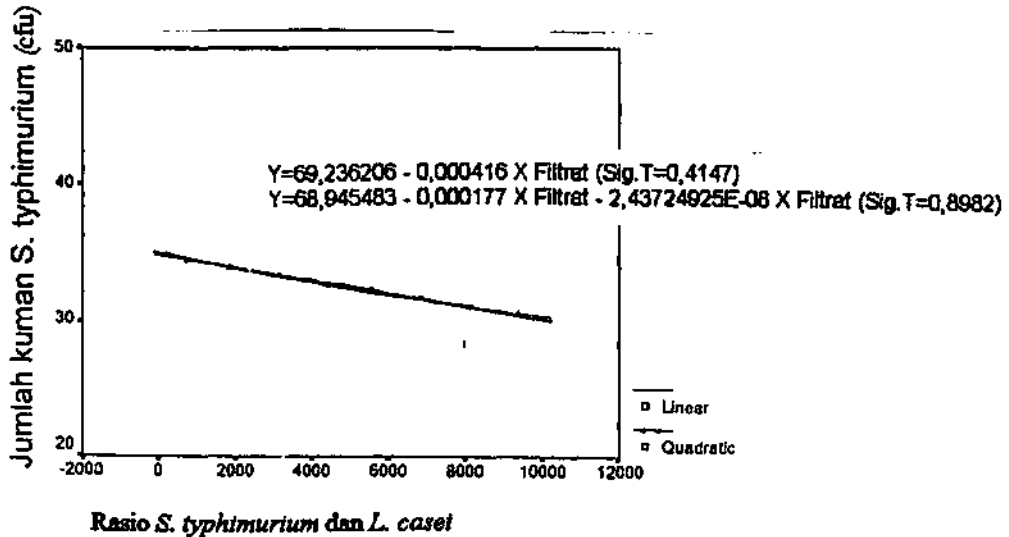
Keterangan : \* Tidak ada hubungan signifikan



Tabel 5.20b Analisis varian kuadratik ..... pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 13).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	1	89,2008	44,60042	0,33966	0,7141*
Residu	39	5121,0670	31,30941		

Keterangan : \* Tidak ada hubungan signifikan



Gambar 5.17 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* pada rasio biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota*

Dari analisis regresi linier dan kuadratik (Tabel 5.20a,b) yang diperlihatkan pada Gambar 5.17, adanya hubungan tidak signifikan antara *L. casei* Subsp. *Shirota* dicampurkan pada medium dengan jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium* yang ditumbuhkan secara bersama-sama (linier Signif F= 0,7374 dan Signif F=0,8690) ( $P < 0,05$ ).

(2) Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* hidup terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium*

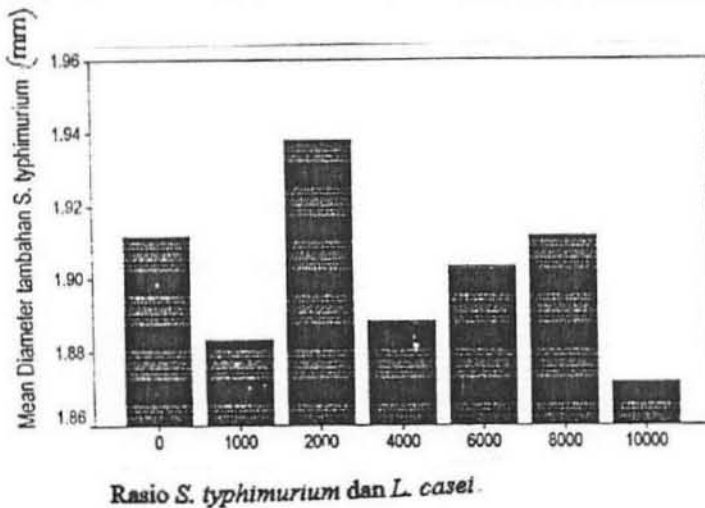
Tabel 5.21 Analisis varian pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 15)

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F. Prob.
Antar perlakuan	6	0,0178	0,0030	0,1118	0,9945*
Dalam perlakuan	35	0,9269	0,0265		
Total	41	0,9446			

Keterangan : \* tidak signifikan

Dari Tabel 5.21, nilai rata-rata antar perlakuan tidak signifikan dengan F probabilitas = 0,9945 ( $P > 0,05$ ). Artinya biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium sebanyak 1.000 kali hingga 10.000 kali jumlah kuman tidak signifikan dalam mereduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* yang ditumbuhkan secara bersama-sama secara *in vitro*.

Gambar 5.18 menunjukkan bahwa tambahan ukuran diameter koloni (antara jam ke 12 hingga 18 jam berikutnya) antara kontrol yaitu 1,9117 mm tidak signifikan dengan tambahan ukuran koloni *S. typhimurium* yang ditumbuhkan pada medium yang dicampur dengan 10.000 kali jumlah kuman dengan rata-rata 1,8717 mm. Dengan ini maka biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang ditambahkan pada medium tidak signifikan dalam mereduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* secara *in vitro*



Gambar 5.18 Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap diameter koloni kuman *S. typhimurium*.

Berikut ini analisis varian regresi linier dan kuadratik pengaruh biakan hidup

*L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium*.

Tabel 5.22a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 15).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	1	0,00268556	0,00268556	0,11404	0,7374*
Residu	40	0,94195492	0,02354887		

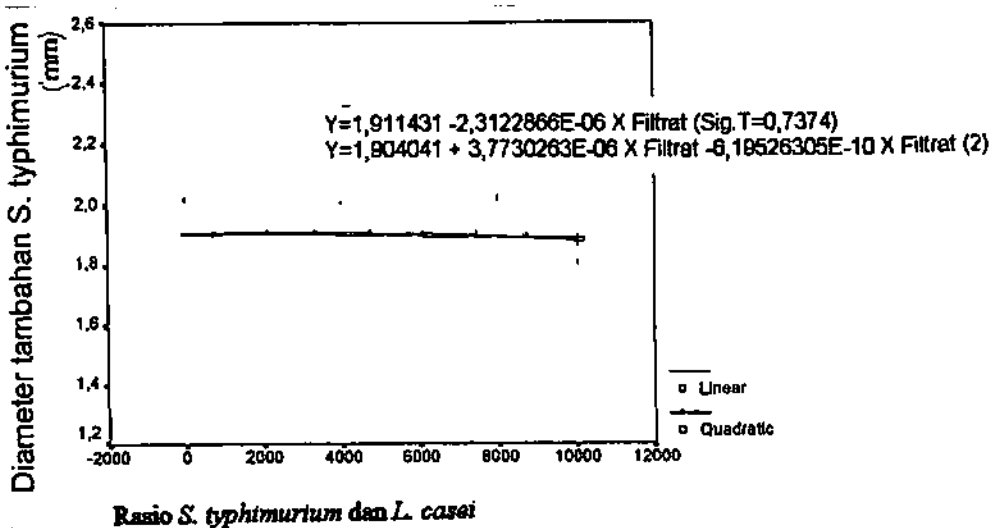
Keterangan : \* Tidak ada hubungan signifikan

Tabel 5.22b Analisis varian kuadratik pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap ukuran diameter kuman *S. typhimurium* (Lihat data lampiran 15).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	2	0,00409213	0,00204607	0,08484	0,9188*
Residu	39	0,94054834	0,02411662		

Keterangan : \* Tidak ada hubungan signifikan

Dari Tabel 5.22a,b yang dapat dilihat pada Gambar 5.19 tidak ada hubungan yang signifikan antara biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan 1.000 hingga 10.000 kali jumlah kuman, dengan reduksi ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* yang ditumbuhkan secara bersama-sama secara *in vitro* (Signif F > 0,05).



Gambar 5.19 Hubungan regresi tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* pada rasio biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota*

### 5.2.2 Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman *S. flexneri*

Untuk mengetahui pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman *S. flexneri* diperoleh dua macam hasil analisis yaitu pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* dan pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*.

#### (1) Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*

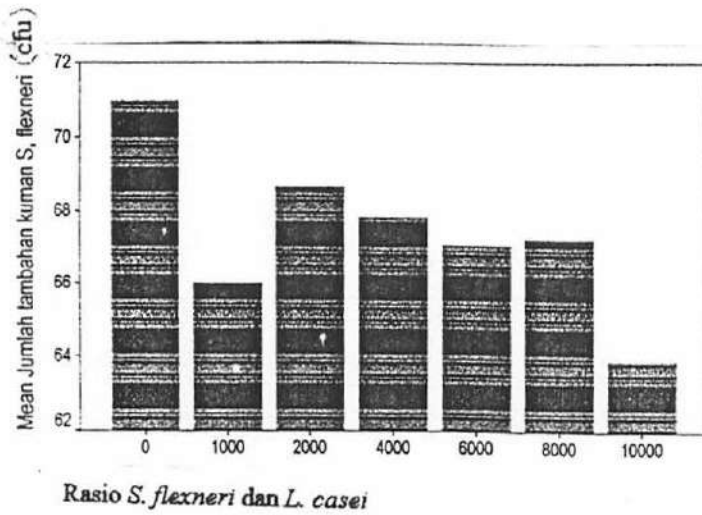
Tabel 5.23 Analisis varian pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 17).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F. Prob.
Antar perlakuan	6	173,8095	28,9683	0,2013	0,9741*
Dalam perlakuan	35	5036,483	143,8988		
Total	41	5210,2679			

Keterangan : \* tidak signifikan

Dari Tabel 5.23, nilai rata-rata antar perlakuan tidak signifikan dengan F probabilitas = 0,9741 ( $P > 0,05$ ). Artinya biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium sebanyak 1.000 hingga 10.000 kali jumlah kuman tidak signifikan mereduksi jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*.

Gambar 5.20 menunjukkan bahwa antara kontrol yang memiliki jumlah lempeng total kuman dengan rata-rata 71,0000 cfu tidak signifikan dengan rata-rata jumlah kuman yang ditumbuhkan pada medium yang dicampur dengan biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* hingga 10.000 kali jumlah kuman yaitu 63,9167 cfu. Sehingga dapat dikatakan bahwa secara *in vitro* biakan hidup yang ditambahkan pada medium pertumbuhan kuman *S. flexneri*, tidak berpengaruh terhadap reduksi jumlah lempeng total kuman tersebut.



Gambar 5.21 Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*

Analisis regresi berikut ini menunjukkan hubungan pengaruh penambahan *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*.

Tabel 5.24a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 17).

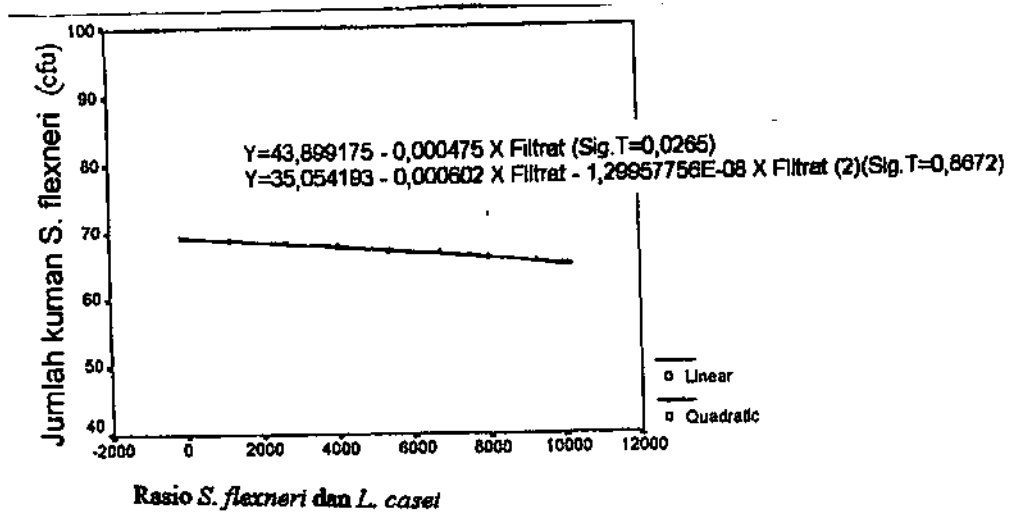
Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	1	0,5801178	0,58011783	2,85852	0,4147*
Residu	40	8,1177322	0,20294330		

Keterangan : \* Tidak ada hubungan signifikan

Tabel 5.24b Analisis varian kuadratik pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 17).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	2	0,6346793	0,31733964	1,53491	0,7141*
Residu	39	8,0631707	0,20674977		

Keterangan : \*Tida ada hubungan signifikan



Gambar 5.21 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* pada rasio biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota*

Tabel 5.24a,b yang diperlihatkan pada Gambar 5.21 tidak ada hubungan signifikan antara jumlah biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium 1.000 hingga 10.000 kali jumlah kuman dengan reduksi jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*.

(2) Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*.

Tabel 5.25 Analisis varian pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 19).

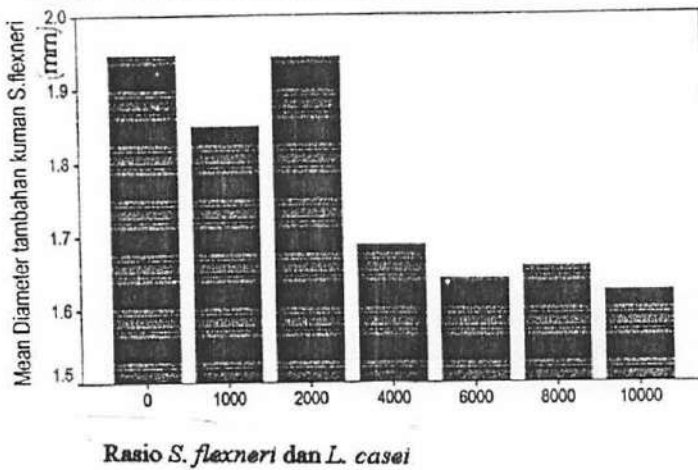
Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F. Prob.
Antar perlakuan	6	133,7381	22,2897	0,9373	0,9741*
Dalam perlakuan	35	832,2917	23,7798		
Total	41	9666,0298			

Keterangan : \* tidak signifikan

Dari Tabel 5.25, nilai rata-rata antar perlakuan dinyatakan tidak signifikan dengan F probabilitas = 0,9741 ( $P > 0,05$ ). Artinya biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang

ditambahkan sebanyak 1.000 hingga 10.000 kali jumlah kuman pada medium tidak signifikan mereduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*.

Gambar 5.22 menunjukkan bahwa tambahan ukuran diameter koloni antara kontrol dengan jumlah rata-rata 1,9117 mm tidak signifikan dengan perlakuan penambahan *L. casei* Subsp *Shirota* hidup 1.000 hingga 10.000 kali jumlah kuman dengan rata-rata 1,8718 mm. Dengan ini dinyatakan bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang ditambahkan tidak berpengaruh mereduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*.



Gambar 5.22 Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*

Berikut ini analisis varian regresi linier dan kuadratik pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* dengan diameter koloni *S. flexneri*.

Tabel 5.26a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 19).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	1	0,00268556	0,00268556	0,11404	0,0987*
Residu	40	0,94195492	0,02354887		

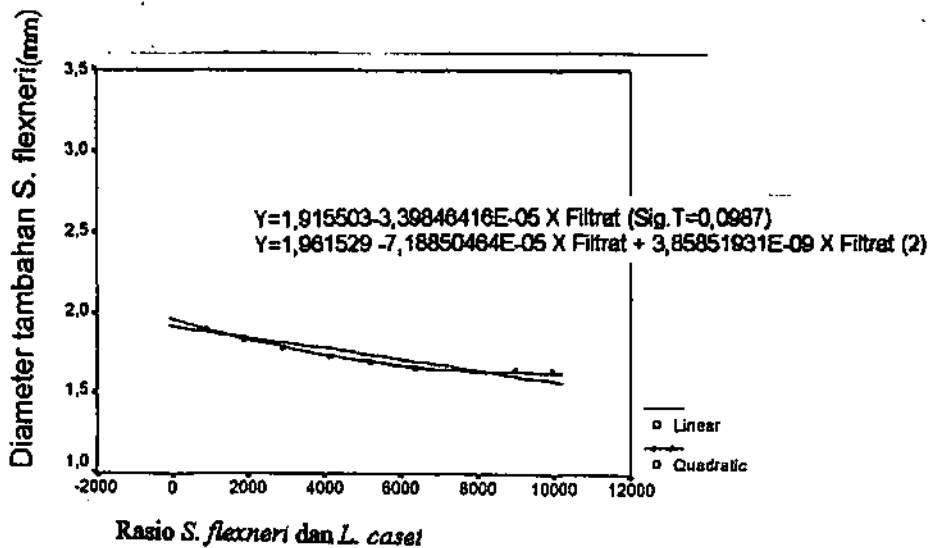
Keterangan : \* Tidak ada hubungan signifikan

Tabel 5.26b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh biakan hidup terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri* (Lihat data lampiran 19).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	2	0,00409213	0,00204607	0,08484	0,2282*
Residu	39	0,94054834	0,02411662		

Keterangan : \* Tidak ada hubungan signifikan

Dari Tabel 5.26a,b yang ditunjukkan pada Gambar 5.23 bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium tidak signifikan dalam mereduksi tambahan ukuran besar koloni kuman *S. flexneri*.



Gambar 5.23 Hubungan regresi antara tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri* pada rasio biakan *L. casei* Subsp. *Shirota*

### 5.2.3 Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman *E. coli*

Diperoleh dua macam hasil analisis data yaitu pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli* dan pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap ukuran diameter koloni kuman *E. coli*.



(1) Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli*

Tabel 5.27 Analisis varian pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 21).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F. Prob.
Antar perlakuan	6	182,6667	30,4444	3,3565	0,0102*
Dalam perlakuan	35	317,4583	9,0702		
Total	41	500,1250			

Keterangan : \* berbeda signifikan

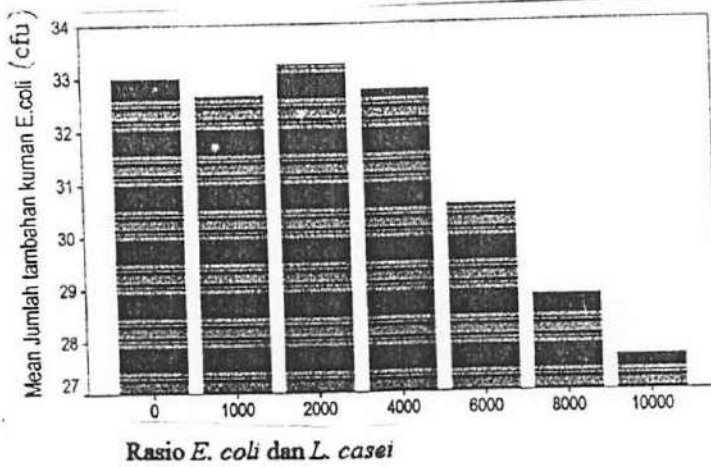
Dari Tabel 5.27, nilai rata-rata antar perlakuan berbeda signifikan dengan nilai F probabilitas = 0,0102 ( $P < 0,05$ ). Artinya biakan hidup yang ditambahkan pada medium sebanyak 1.000 hingga 10.000 kali jumlah kuman secara signifikan mereduksi jumlah lempeng total kuman *E. coli*. Hal ini berarti biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* berpengaruh terhadap pertumbuhan kuman *E. coli* secara *in vitro*.

Tabel 5.28 Beda signifikan antar perlakuan *L. casei* Subsp. *Shirota* hidup terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli*

Kelompok	Kontrol	1.000X	2.000X	4.000X	6.000X	8.000X	10.000X
Rata-rata Jumlah Lempeng Total (cfu)	33,0000	32,6667	33,2500	32,7500	30,5833	28,8333	27,6667

Keterangan : Angka 1.000 X, 2.000X, 4.000X.....10.000X adalah jumlah *L. casei* hidup X jumlah kuman  
 Nilai-nilai yang dihubungkan dengan garis tidak beda signifikan

Diagram batang (Gambar 5.24) menunjukkan bahwa antara kontrol yang memiliki jumlah lempeng total kuman dengan rata-rata 33,0000 cfu berbeda signifikan dengan kuman yang ditumbuhkan pada medium yang dicampur dengan *L. casei* hidup 1.000 hingga 10.000 kali jumlah kuman yaitu rata-rata 27,6667 cfu.



Gambar 5.24 Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli*

Analisis regresi berikut ini menunjukkan bahwa hubungan pengaruh penambahan biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli*.

Tabel 5.29a Analisis varian regresi linier pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 21).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif. F
Regresi	1	163,41745	163,41745	19,41358	0,0001*
Residu	40	336,70755	8,41769		

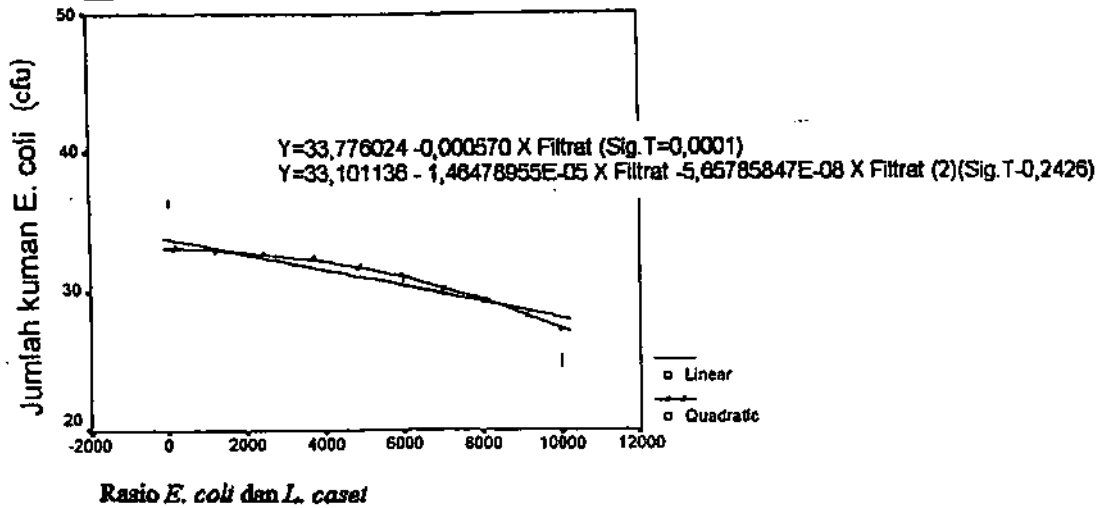
Keterangan : \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.29b Analisis varian regresi kuadratik pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 21).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif. F
Regresi	2	175,14882	87,574408	10,50970	0,0002*
Residu	39	324,9718	8,332723		

Keterangan : \* Ada hubungan signifikan

Tabel 5.29a,b yang diperlihatkan pada Gambar 5.25 menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara jumlah *L. casei* Subsp. *Shirota* dengan reduksi kuman *E. coli* yang ditumbuhkan secara bersama-sama *in vitro* (Signif. F. < 0,05).



Gambar 5.25 Hubungan regresi jumlah lempeng total kuman *E. coli* pada rasio *L. casei* Subsp. *Shirota* hidup

(1) Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap ukuran tambahan diameter koloni kuman *E. coli*

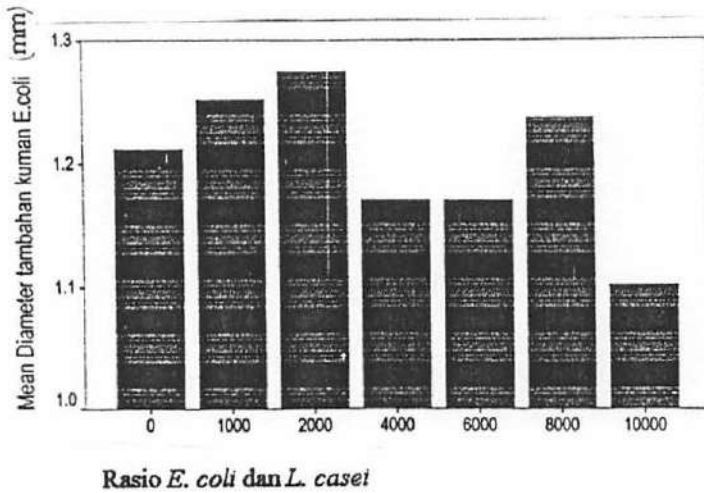
Tabel 5.30 Analisis varian pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap tambahan ukuran diameter kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 23).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F. Prob.
Antar perlakuan	6	0,1272	0,0212	0,6386	0,6985*
Dalam perlakuan	35	1,1621	0,0332		
Total	41	1,2894			

Keterangan : \* tidak signifikan

Dari Tabel 5.30, nilai rata-rata antar perlakuan tidak signifikan dengan nilai F probabilitas = 0,6985 (P>0,05). Artinya biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium secara tidak signifikan mereduksi ukuran tambahan diameter koloni kuman *E. coli*.

Gambar 5.26 menunjukkan bahwa tambahan ukuran diameter koloni (antara jam ke 12 hingga 18 jam berikutnya) antara kontrol 1,2117 mm tidak signifikan dengan perlakuan penambahan *L. casei* 10.000 kali jumlah kuman yaitu rata-rata 1,1017 mm.



Gambar 5.26 Pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman *E. coli*

Tabel 5.31a Analisis varian linier pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap tambahan ukuran koloni kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 23).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	1	0,00268556	0,00268556	0,11404	0,1967*
Residu	40	0,94195492	0,02354887		

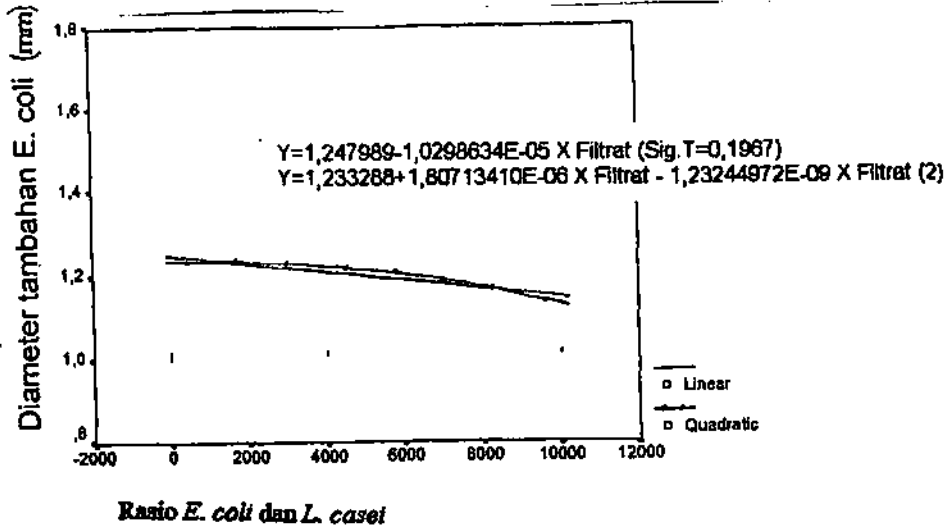
Keterangan : \* Tidak ada hubungan signifikan

Tabel 5.31b Analisis varian kuadratik pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap tambahan ukuran koloni kuman *E. coli* (Lihat data lampiran 23).

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	Signif F
Regresi	2	0,00409213	0,00204607	0,08484	0,4022*
Residu	39	0,94054834	0,02411662		

Keterangan : \* Tidak ada hubungan signifikan

Dari Tabel 5.31a,b yang ditunjukkan pada Gambar 5.27 bahwa *L. casei* yang dicampurkan pada medium 1.000 hingga 10.000 kali jumlah lempeng total tidak adanya hubungan signifikan menghambat pertumbuhan kuman *E. coli* (Signif F > 0,05).



Gambar 5.27 Hubungan regresi tambahan ukuran diameter koloni kuman *E. coli* pada rasio biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shtrota*

Tabel 5.32 Nilai-nilai perbandingan antar kuman uji terhadap filtrat

Jenis Kuman	Ketahanan	Reduksi jumlah lempeng total**	Reduksi diameter koloni
<i>S. typhimurium</i>	2,3 X E.c*	39,00 % (Kontrol Vs 7%)	55,38% (Kontrol Vs 7%)
<i>S. flexneri</i>	1,6 X E.c	57,27 % (Kontrol Vs 5%)	57,14% (Kontrol Vs 5%)
<i>E. coli</i>	1,0 X E.c	14,22 % (Kontrol Vs 3%)	54,30% (Kontrol Vs 3%)

Keterangan : \* E.c = *Escherichia coli*

\*\* Persentase reduksi jumlah lempeng total dan reduksi ukuran diameter koloni kuman dihitung dari perbandingan jumlah persentase tertinggi terhadap kontrol

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pengaruh Filtrat Hasil Pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* Terhadap Kuman

##### 6.1.1 *S. typhimurium*

Untuk mengetahui pengaruh filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman *S. typhimurium* dengan cara mencampurkan filtrat pada medium pertumbuhan (vol/vol). Filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* untuk selanjutnya disebut filtrat. Adapun data diperoleh dari hasil penghitungan koloni kuman yang muncul pada lempeng agar (*viable count*), serta mengukur diameter koloni kuman yang muncul.

Dari hasil uji statistik dengan analisis varian terhadap data penghitungan jumlah lempeng total menunjukkan bahwa filtrat yang ditambahkan pada medium pertumbuhan berpengaruh signifikan mereduksi jumlah lempeng total ( $P < 0,05$ ). Hasil uji dengan LSD menunjukkan bahwa *S. typhimurium* terhambat pertumbuhannya pada medium yang ditambah dengan 6% filtrat dan 7% filtrat (vol/vol). Adapun dengan penambahan 8% filtrat (vol/vol) pada medium, kuman *S. typhimurium* tidak dapat tumbuh. Nilai jumlah lempeng total pada kontrol sebesar 241,8333 cfu tereduksi menjadi 145,333 cfu pada medium yang ditambah dengan 7% filtrat. Ini jelas bahwa adanya reduksi jumlah lempeng total kuman tersebut adalah akibat dari penambahan filtrat ke dalam medium pertumbuhannya. Filtrat mampu menghambat pertumbuhan kuman karena mengandung berbagai senyawa hasil metabolisme primer maupun sekunder yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat *L. casei* Subsp. *Shirota* yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa-senyawa itu

antara lain asam laktat, diasetil, hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) ataupun bakteriosin. Senyawa-senyawa ini secara bersama-sama ataupun parsial mampu menghambat pertumbuhan kuman *S. typhimurium in vitro*. Sependapat dengan Rahayu *et al.* (1995) bahwa pertumbuhan *S. typhimurium* terhambat pertumbuhannya oleh metabolit ekstraseluler *L. casei* Subsp. *rhamnosus* TGR-2 yaitu dari nilai absorbansi  $>0,24$  (kontrol) menjadi  $<0,15$  (perlakuan dengan metabolit ekstraseluler *L.c* TGR-2) dan memperpanjang fase lag dari 2 jam menjadi 6 jam. Begitupun juga dikatakan Vescovo *et al.* (1996) secara parsial, bakteriosin yang dihasilkan oleh *L. casei* IMPC LC 34 sangat efektif untuk mereduksi kuman *S. typhimurium* yang terdapat pada sayur-sayuran siap santap (*ready-to-use vegetables*). Selain itu peneliti lain mengatakan bahwa penambahan campuran isolat *L. acidophilus* dan *L. casei* pada minuman fermentasi skim kelapa meningkatkan aktivitas pengambatan terhadap pertumbuhan kuman *Salmonella* sp secara total selama 24 jam inkubasi, dibandingkan kontrol Fardiaz *et al.* (1994). Selain itu dikatakan bahwa fermentasi yang menggunakan *L. casei* Subsp. *rhamnosus* maupun *L. casei* Subsp. *Shirota* mampu menekan pertumbuhan kuman *Salmonella* sp, *E. coli* maupun *Shigella dysentrie* hingga 99,9% pada akhir fermentasi (Jenie, *et al.* 1993). Dengan data-data ini jelas bahwa senyawa-senyawa hasil metabolisme yang terdapat dalam filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* baik secara parsial maupun bersama-sama mampu menghambat pertumbuhan *S. typhimurium*. Dari hasil penelitian ini nampak pada diagram batang (Gambar 5.1) bahwa ada kecenderungan nilai yang menurun pada perlakuan penambahan sebanyak 1% filtrat (vol/vol), 2% hingga penambahan filtrat sebanyak 7%(vol/vol), sehingga dengan analisis regresi linier maupun regresi kuadratik menunjukkan bahwa ada kecenderungan hubungan yang signifikan antara jumlah filtrat yang ditambahkan dengan reduksi jumlah lempeng total

kuman *S. typhimurium* ( $P < 0,05$ ). Pada Gambar 5.2, dijelaskan bahwa semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium maka semakin berkurang jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak filtrat yang ditambahkan akan semakin tinggi konsentrasi kadar bahan aktif penghambat, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan kuman juga semakin besar.

Jika dilihat senyawa-senyawa penghambat pertumbuhan yang terdapat dalam filtrat nampaknya masing-masing jenis senyawa hasil metabolisme, asam laktat merupakan hasil yang paling dominan/banyak jumlahnya. Hal ini ditunjukkan juga bahwa derajat keasaman filtrat asli memiliki nilai pH 3,8, selanjutnya mengingat pada fermentasi yang menggunakan *L. casei* termasuk dalam jenis fermentasi homofermentatif (Moat, 1979). Menurut Wibowo (1989) bahwa fermentasi homofermentatif dapat menghasilkan produk utamanya kurang lebih 85% berupa asam laktat. Oleh karena itu peranan asam laktat dalam menghambat pertumbuhan kuman *S. typhimurium* cukup besar. Asam mempunyai aktivitas sebagai penghambat karena memberi suasana asam pada medium, sehingga tidak cocok untuk pertumbuhan bakteri lain. Asam organik yang tinggi menjadikan sel mikroba terganggu atau rusak karenanya, mengkoagulasi protein membran sel ataupun enzim-enzim di dalam sel kemudian mengendapkannya sehingga aktifitas sel terganggu atau mati. Walaupun dalam penelitian ini derajat keasaman filtrat telah dinetralkan menjadi pH 7,0, namun nampaknya pengaruh daya hambat asam laktat tersebut masih aktif dalam menghambat pertumbuhan *S. typhimurium*. Hal serupa juga dikatakan oleh Rahayu *et al.* (1995) bahwa walaupun pH metabolit ekstraseluler dinaikkan menjadi 6,5, namun aktivitas daya hambat terhadap *S. typhimurium* tidak berkurang.



Senyawa-senyawa lain yang dimungkinkan bersifat sebagai penghambat antara lain yaitu bakteriosin,  $H_2O_2$  ataupun diasetil. Bakteriosin bekerja menghambat terhadap pertumbuhan bakteri lain, karena senyawa polipeptida tersebut mampu mengganggu aktivitas sel. Oleh Gonzales *et al.*(1996) disebutkan bahwa ada beberapa kemungkinan terjadinya penghambatan oleh bakteriosin, di antaranya adalah mampu merubah permeabilitas membran sel pada sel yang sensitif, sehingga menjadikan membran sel kurang selektif lagi terhadap lalu lintas molekul-molekul yang melintasinya. Oleh Gao *et al.*(1991) dan Garcera *et al.*(1993) dalam Gonzales *et al* (1996) disebutkan bahwa secara *in vitro* bakteriosin (*nistin A*) dapat mengganggu aktivitas *liposoma* maupun *proteoliposoma*, sehingga mengganggu struktur polarisasi membran *liposoma* maupun *proteoliposoma*, sehingga otomatis mengganggu aktivitasnya. Selain itu dikatakan oleh Abee *et al.*(1994) dalam Gonzales *et al.*(1996) disebutkan bahwa bakteriosin (*nistin Z*) mampu mempercepat kehilangan ion  $K^+$ , mengganggu depolarisasi membran sitoplasma, mengganggu aktivitas respirasi serta mengganggu hidrolisis maupun aliran ATP sel. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa masing-masing jenis bakteriosin mempunyai aktivitas dan sensitifitas terhadap sel yang berbeda-beda, tergantung jenis, berat molekul, ketahanan jenis terhadap panas maupun tergantung jenis sel sensitif.

Sedangkan daya hambat pertumbuhan oleh  $H_2O_2$  tergantung ada tidaknya enzim katalase kuman. Jika kuman terpapar memiliki enzim katalase (katalase positif) maka  $H_2O_2$  akan diuraikan menjadi air dan oksigen sehingga tidak bersifat toksis lagi. Mengingat ketiga jenis kuman uji (*S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli*) bersifat katalase positif maka adanya hidrogen peroksida pada filtrat tidak berarti dalam proses penghambatan pertumbuhan kuman.

Daya hambat filtrat juga dilihat dari reduksi ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium*. Pada Tabel 5.4 dikatakan bahwa filtrat berpengaruh signifikan mereduksi ukuran diameter koloni ( $P < 0,05$ ). Dengan uji LSD (Tabel 5.5) nampak bahwa antara kontrol dengan perlakuan 1 % filtrat hingga 7% filtrat menunjukkan beda yang signifikan. Begitu juga pada kenampakan visual Gambar 5.4, memperlihatkan perbandingan yang mencolok tentang ukuran diameter koloni kuman antara perlakuan 7% filtrat dengan ukuran rata-rata 1,4433 mm, sedangkan ukuran koloni yang tumbuh pada kontrol (0% filtrat) menunjukkan 3,2350 mm. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa filtrat mampu mengkerdikan koloni kuman *S. typhimurium* pada lempeng agar (*in vitro*). Adanya efek pengkerdilan koloni pada dasarnya merupakan penghambatan terhadap pertumbuhan kuman. Kerdil berarti pula penghambatan aktivitas metabolisme sel. Jika metabolisme sel terhambat maka peristiwa perbanyakan sel akan terhambat pula, akibatnya koloni akan nampak kerdil. Hal ini jelas bahwa pengekerdilan tersebut akibat dari aktivitas daya hambat filtrat. Dengan demikian maka senyawa-senyawa hasil metabolisme *L. casei* Subsp. *Shirota* mampu mengkerdikan koloni kuman *S. typhimurium*.

#### 6.1.2 *S. flexneri*

Tak ubahnya seperti *S. typhimurium*, *S. flexneri* yang merupakan kuman dalam satu familia Enterobacteriaceae juga terhambat pertumbuhannya oleh karena filtrat. Dari hasil uji statistik dengan analisis varian terhadap data perhitungan jumlah lempeng total, menunjukkan bahwa filtrat yang ditambahkan pada medium berpengaruh signifikan mereduksi jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* ( $P < 0,05$ ) (Tabel 5.10). Dengan analisis LSD (Tabel 5.11) menunjukkan bahwa pertumbuhan kuman *S. flexneri* terhambat secara

signifikan pada medium yang ditambahkan 5% filtrat (vol/vol). Jumlah rata-rata koloni yang tumbuh pada kontrol (0% filtrat) 153,6667 cfu dan untuk medium yang ditambah dengan 5% filtrat dengan nilai rata-rata 65,6667 cfu. Dengan data ini dapat dikatakan bahwa, kuman *S. flexneri* jauh lebih peka terhadap filtrat dari pada *S. typhimurium*. Sebab kuman ini tidak mampu tumbuh pada medium yang ditambah dengan filtrat sebanyak 6% (vol/vol). Dengan demikian secara umum dikatakan bahwa kuman *S. flexneri* terhambat pertumbuhannya karena senyawa-senyawa asam laktat, diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin yang terkandung dalam filtrat. Menurut Joklik *et al* (1992) *S. flexneri* lebih peka terhadap asam organik. Jumlah asam yang tinggi pada lingkungannya (substratnya), merupakan senyawa yang dapat merusak/mengganggu (*detrimental*) aktivitas sel. Dengan demikian di antara senyawa-senyawa penghambat yang terdapat pada filtrat, asam laktat mungkin merupakan senyawa yang paling menentukan sebagai penghambat pertumbuhan kuman *S. flexneri*. Penelitian lain, Fardiaz *et al.* (1994) mengatakan bahwa kuman *S. flexneri* terhambat pertumbuhannya oleh filtrat hasil fermentasi menggunakan campuran bakteri asam laktat *L. acidophilus* dan *L. casei* secara total selama inkubasi 24 jam. Dengan diagram batang pengaruh filtrat terlihat jelas bahwa semakin banyak filtrat ditambahkan pada medium ada kecenderungan semakin tereduksi jumlah lempeng total. Selanjutnya dengan analisis regresi linier maupun kuadratik (Tabel 5.12a,b) menunjukkan bahwa adanya hubungan yang signifikan antara filtrat yang ditambahkan pada medium dengan reduksi jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* ( $P < 0,05$ ). Semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium semakin tereduksi jumlah lempeng total kuman tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan persentase filtrat akan meningkatkan kadar bahan penghambat, sehingga kemampuan menghambat juga semakin kuat (Gambar 5.10).

Penghambatan pertumbuhan juga terlihat pada reduksi ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*. Pada Tabel 5.10 diperoleh hasil bahwa filtrat berpengaruh signifikan dalam mereduksi ukuran koloni kuman *S. flexneri* ( $P < 0,05$ ). Dengan uji LSD (Tabel 5.11) nampak bahwa antara kontrol dengan perlakuan penambahan filtrat sebanyak 1%, 2% hingga 5% (vol/vol) berbeda signifikan. Nilai rata-rata ukuran diameter koloni *S. flexneri* yang tumbuh pada medium kontrol adalah 1,9950 mm, 1% filtrat 1,6817 mm, 2% filtrat 1,5967 mm, 3% filtrat yaitu 1,3117 mm, 4% filtrat 1,1600 mm dan 5% filtrat 0,8550 mm.

Demikian juga pada Gambar 5.9 menunjukkan bahwa adanya fenomena bahwa semakin banyak jumlah filtrat yang ditambahkan pada medium maka semakin kecil ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*. Secara visual juga dapat dilihat bahwa koloni kuman *S. flexneri* pada kontrol (0% filtrat) nampak jauh lebih besar (dengan ukuran rata-rata 1,9950 mm) dibandingkan dengan ukuran koloni kuman perlakuan (penambahan 5% filtrat, dengan ukuran rata-rata 0,8550 mm) (Gambar 5.10). Hal ini jelas bahwa filtrat berpengaruh terhadap pengkerdilan koloni kuman *S. flexneri*, atau dengan kata lain filtrat berpengaruh menghambat pertumbuhan kuman *S. flexneri* secara *in vitro*.

### 6.1.3 *E. coli*

*E. coli* merupakan jasad yang pioner dan mempunyai sifat variatif yaitu mulai kuman yang bersifat komensal, oportunistis, patogen hingga sekarang dikenal bersifat patogen yang hemoragik. Dalam penelitian ini, *E. coli* terhambat pertumbuhannya secara *in vitro* oleh karena filtrat. Dengan analisis statistik *E. coli* terhambat pertumbuhannya secara signifikan ( $P < 0,05$ ), yaitu pada medium yang ditambah dengan 2,5% filtrat (vol/vol)

maupun pada 3,0% filtrat (vol/vol) (Tabel 5.14). Dengan demikian *E. coli* lebih peka dibandingkan dengan *S. typhimurium* maupun *S. flexneri*. Hal ini sependapat dengan hasil penelitian Gonzales (1993) bahwa pada kultur fermentasi cair menggunakan bakteri asam laktat, *E. coli* terhambat pertumbuhannya lebih awal dibandingkan dengan kuman lainnya yaitu 9 jam setelah kultur berjalan. Hal serupa dikatakan oleh Rahayu *et al.*(1995) bahwa metabolit ekstraseluler *L. casei* Subsp. *rhamnosus* TGR-2, *E. coli* mempunyai angka absorbansi <0,10 pada inkubasi 9 jam, sedangkan *S. typhimurium* sudah mendekati nilai absorbansi 0,15 pada jam inkubasi yang sama. Hal ini mungkin menandakan bahwa *E. coli* lebih peka terhadap filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* yang mengandung antara lain asam laktat, diasetil, hidrogen peroksida maupun bakteriosin. Demikian juga dikatakan oleh Fardiaz *et al.*(1994) bahwa minuman fermentasi skim kelapa yang menggunakan campuran *S. bulgaricus*, *L. casei* dan *L. acidophilus* mempunyai efek menghambat hingga 100% terhadap kuman *E. coli* dibandingkan dengan hanya menggunakan *S. bulgaricus*. Dengan analisis regresi linier maupun kuadratik menunjukkan bahwa ada hubungan yang signifikan ( $P<0,05$ ) antara jumlah filtrat yang ditambahkan dengan reduksi jumlah koloni kuman *E. coli*. Semakin banyak filtrat yang ditambahkan pada medium maka semakin kuat reduksi jumlah lempeng total koloni kuman *E. coli* (Gambar 5.12).

Penghambatan pertumbuhan terhadap kuman *E. coli* terlihat pada reduksi ukuran diameter koloni kuman yang muncul. Pada Tabel 5.16 diperoleh hasil bahwa filtrat berpengaruh signifikan dalam mereduksi ukuran koloni kuman *E. coli* ( $P<0,05$ ). Dengan uji LSD (Tabel 5.17) nampak bahwa antara kontrol dengan perlakuan filtrat sebanyak 1,5% (vol/vol), 2,0%, 2,5%, 3% berbeda signifikan.

Demikian juga pada Gambar 5.13 menunjukkan bahwa adanya petunjuk bahwa semakin banyak jumlah filtrat yang ditambahkan maka semakin kecil ukuran diameter koloni kuman *E. coli*. Selanjutnya secara visual (Gambar 5.14) dapat dilihat bahwa koloni kuman *E. coli* pada kontrol (0% filtrat, dengan ukuran koloni rata-rata 2,5750 mm) nampak jauh lebih besar dibandingkan dengan koloni kuman yang ditumbuhkan pada medium yang ditambah dengan 2,5% filtrat (vol/vol), dengan ukuran koloni rata-rata 1,1767 mm. Hal ini jelas bahwa filtrat berpengaruh terhadap pengkerdilan koloni kuman *E. coli* secara *in vitro*. Seperti diketahui bahwa hal ini disebabkan oleh adanya senyawa-senyawa yang bersifat penghambat yang terdapat pada filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota*.

Dari Tabel 5.32, diketahui bahwa ketahanan terhadap filtrat pada masing-masing jenis kuman berbeda-beda. Menurut hitungan *E. coli* merupakan kuman yang paling rendah di antara *S. typhimurium* maupun *S. flexneri*, karena tidak tumbuh lagi pada media yang ditambah dengan 3,5% filtrat. Untuk *S. typhimurium* memiliki ketahanan terhadap filtrat sebesar 2,3 X ketahanan *E. coli*, sedangkan *S. flexneri* sebesar 1,6 X ketahanan *E. coli*. Namun demikian reduksi jumlah lempeng total perbandingan kontrol dengan reduksi pada persentase tertinggi maka *E. coli* memiliki reduksi jumlah lempeng total yang paling rendah yaitu 14,22%, sedangkan untuk *S. typhimurium* 39,00% dan yang tereduksi paling tinggi adalah *S. flexneri* yaitu 57,27%. Kenyataan ini mengandung arti bahwa walaupun *E. coli* sensitif terhadap filtrat, tetapi ternyata reduksinya (kontrol Vs 3,0% filtrat) rendah, sehingga secara keseluruhan lebih tahan dari kedua kuman yang lainnya, sehingga kuman ini tidak mudah tereliminasi oleh adanya filtrat. Sebaliknya persentase reduksi untuk *S. flexneri* tertinggi di antara *S. typhimurium* dan *E. coli*. Hal ini mengandung arti bahwa kuman ini lebih sensitif dan mudah tereliminasi dengan adanya filtrat.

## 6.2 Pengaruh Biakan Hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* Terhadap Kuman

Untuk mengetahui pengaruh biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap kuman maka dilakukan penanaman bersama dalam satu lempeng agar. Antara kedua jenis mikroba tersebut dibuat perbandingan jumlah yang tertentu. Adapun data diperoleh dari hasil penghitungan jumlah total koloni kuman yang muncul, serta mengukur diameter koloni pada 12 jam dan dilanjutkan mengukur diameter kembali pada koloni yang sama pada 18 jam berikutnya. Selisih angka ukuran diameter koloni tersebut disebut tambahan ukuran diameter koloni.

### 6.2.1 *S. typhimurium*

Dari hasil uji statistik dengan analisis varian data penghitungan jumlah lempeng total menunjukkan bahwa biakan hidup yang dicampurkan pada medium pertumbuhan (TSA) tidak signifikan mereduksi jumlah lempeng total ( $P=0,9945$ ) (Tabel 5.19). Dengan diagram batang (Gambar 5.16) menunjukkan kecenderungan bahwa semakin banyak rasio *L. casei* Subsp. *Shirota* hidup yang ditambahkan semakin sedikit jumlah lempeng total, namun demikian analisis variannya menunjukkan tidak signifikan. Dengan analisis regresi linier dan kuadratik (Tabel 5.20a,b) menunjukkan bahwa hubungan antara jumlah biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* dengan jumlah lempeng total tidak signifikan (linier  $P=0,7374$  dan kuadratik  $P=0,8690$ ) (Gambar 5.17). Dengan ini jelaslah bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan dalam medium tidak berpengaruh menurunkan jumlah lempeng total kuman *S. typhimurium*. Nilai rata-rata jumlah lempeng total kontrol 35,5833 cfu dan pada media yang dicampur *L. casei* Subsp. *Shirota* sebanyak 10.000 kali lebih banyak dari jumlah kuman menunjukkan nilai rata-rata 30,3333 cfu.

Demikian juga biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium tidak signifikan mereduksi tambahan ukuran besar diameter kuman *S. typhimurium* ( $P=0,7374$ )(Tabel 5.21). Selain itu dengan analisis regresi linier maupun kuadratik menunjukkan tidak ada hubungan yang signifikan antara rasio jumlah biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang ditambahkan pada medium dengan reduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman (linier  $P=0,7374$  dan kuadratik  $P=0,9188$ )(Tabel 5.22a,b). Hal ini terlihat pada grafik yang berbentuk datar (Gambar 5.19). Dengan ini jelaslah bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* tidak berpengaruh mereduksi jumlah lempeng total maupun mereduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium*. Hal ini berlaku sebaliknya dengan perlakuan filtrat terhadap kuman *S. typhimurium*.

Ada beberapa alasan yang mungkin terjadi yaitu antara lain 1) *L. casei* Subsp. *Shirota* tidak dapat tumbuh optimal pada medium TSA, sehingga sintesis berbagai senyawa-senyawa penghambat pertumbuhan oleh *L. casei* tidak optimal pula; 2) Sintesis senyawa-senyawa penghambat mungkin terjadi, namun hasil-hasil metabolisme tersebut tidak dapat terdistribusi dengan baik pada medium padat, sehingga tidak mencapai koloni kuman, akibatnya tidak menghambat pertumbuhan kuman yang ditumbuhkan secara bersama-sama. Tidak optimalnya pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* menunjukkan bahwa bakteri asam laktat tersebut tidak optimal tumbuh pada medium TSA, dimana komposisi medium tersebut kurang kompleks dan tidak sesuai dengan kebutuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* dalam menghasilkan senyawa-senyawa yang bersifat menghambat. Menurut Sudarmadji *et al.* (1989) secara umum bakteri asam laktat sulit ditumbuhkan dalam medium sintetik. Selain itu untuk pertumbuhannya diperlukan medium yang kompleks antara lain vitamin, purin, pirimidin dan beberapa asam lemak. Asam lemak yang sangat penting adalah Tween 80



atau *Tween* 85. Sedangkan Oh *et al.*(1995) serta Vignolo *et al.* (1995) untuk memperoleh bakteriosin secara optimal harus ditumbuhkan pada medium kompleks seperti Peptone yeast extract glucose (PGY medium). Selanjutnya Vignolo *et al.*(1995) untuk memproduksi *lactocin* dilakukan penambahan *Tween* 80 sebanyak 0,5%-2,0% dan suasana medium pada pH 5,0-6,0. Untuk itu jelaslah bahwa pada medium TSA yang digunakan untuk menumbuhkan secara bersama-sama dengan kuman uji, *L. casei* Subsp. *Shirota* tumbuh tidak optimal, sehingga tidak menghasilkan senyawa-senyawa penghambat yang tidak optimal pula, akibatnya tidak menghambat pertumbuhan kuman.

Selain dihitung jumlah lempeng total juga diukur tambahan ukuran diameter koloni. Dengan uji statistik analisis varian terhadap tambahan ukuran diameter koloni kuman, berpengaruh tidak signifikan mereduksi jumlah lempeng total ( $P=0,7374$ ). Demikian juga dengan analisis regresi linier maupun kuadratik menunjukkan hubungan yang tidak signifikan antara jumlah biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* dengan reduksi ukuran koloni kuman *S. typhimurium* (Tabel 5.22a,b)(Gambar 5.19). Hal ini seperti juga pengaruh pada jumlah lempeng total, ternyata pencampuran biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* hingga mencapai jumlah rasio 10.000 kali lebih banyak dari jumlah kuman tidak berpengaruh pada reduksi ukuran koloni kuman *S. typhimurium*. Rata-rata tambahan ukuran besar diameter koloni *S. typhimurium* kontrol 1,9117 mm dan pada medium yang dicampur dengan *L. casei* Subsp. *Shirota* sebanyak 10.000 kali jumlah kuman adalah 1,8717 mm.

### 6.2.2 *S. flexneri*

Hasil uji statistik dengan analisis varian terhadap data penghitungan jumlah lempeng total menunjukkan bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan

sebanyak 1.000 hingga 10.000 kali lebih banyak dari jumlah kuman pada medium pertumbuhan (TSA), tidak signifikan mereduksi jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* ( $P=0,9741$ )(Tabel 5.23). Walaupun dengan diagram batang (Gambar 5.21) menunjukkan adanya kecenderungan bahwa semakin banyak rasio *L. casei* Subsp. *Shirota* hidup yang ditambahkan semakin sedikit jumlah lempeng total, namun demikian dengan analisis varian menunjukkan tidak signifikan. Demikian juga dengan analisis regresi linier dan kuadratik (Tabel 5.24a,b) menunjukkan bahwa hubungan antara jumlah biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang ditambahkan pada medium dengan jumlah lempeng total tidak signifikan (linier  $P=0,4147$  dan kuadratik  $P=0,7147$ ) (Gambar 5.21). Dengan ini jelaslah bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan dalam medium tidak berpengaruh menurunkan jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*. Rata-rata jumlah lempeng total koloni kuman *S. flexneri* pada kontrol 71,0000 cfu dan pada medium yang dicampur dengan *L. casei* Subsp. *Shirota* sebanyak 10.000 kali lebih banyak dari jumlah kuman menunjukkan rata-rata 63,9167 cfu. Demikian juga biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium tidak signifikan dalam mereduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri* ( $P=0,9741$ )(Tabel 5.25). Rata-rata tambahan ukuran diameter koloni *S. flexneri* kontrol 1,9467 mm dan pada medium yang dicampur dengan *L. casei* Subsp. *Shirota* sebanyak 10.000 kali lebih banyak dari jumlah kuman adalah 1,6250 mm.

Selain itu dengan analisis regresi linier maupun kuadratik menunjukkan tidak ada hubungan yang signifikan antara rasio jumlah biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang ditambahkan pada medium dengan reduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman (linier  $P=0,0987$  dan kuadratik  $P=0,2282$ )(Tabel 5.26a,b). Hal ini terlihat pada grafik yang berbentuk datar (Gambar 5.23). Dengan ini jelaslah bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp.

*Shirota* tidak berpengaruh mereduksi jumlah lempeng total maupun mereduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman *S. flexneri*. Dengan hasil ini maka berlaku sebaliknya dengan perlakuan filtrat terhadap kuman *S. flexneri*.

Tidak adanya signifikan dalam penelitian ini ada beberapa alasan antara lain

- 1) *L. casei* Subsp. *Shirota* tidak dapat tumbuh optimal pada medium TSA, sehingga sintesis berbagai senyawa-senyawa penghambat tidak optimal pula;
- 2) Sintesis senyawa-senyawa penghambat mungkin terjadi, namun hasil-hasil metabolisme tersebut tidak dapat terdistribusi dengan baik (tidak homogen) pada medium padat, sehingga tidak mencapai koloni kuman, akibatnya tidak memberi pengaruh pada pertumbuhan kuman. Tidak optimalnya pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* menunjukkan bahwa bakteri asam laktat tersebut karena komposisi medium kurang kompleks dan tidak sesuai dengan kebutuhan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* dalam upaya menghasilkan senyawa-senyawa yang bersifat menghambat. Untuk itu jelaslah bahwa pada medium TSA yang digunakan untuk menumbuhkan secara bersama-sama antara *L. casei* dengan kuman uji, *L. casei* Subsp. *Shirota* tumbuh tidak optimal, sehingga menghasilkan senyawa penghambat yang tidak optimal pula, akibatnya tidak berpengaruh terhadap jumlah lempeng total kuman *S. flexneri*. Menurut Apella *et al.* (1992) daya hambat metabolit ekstraseluler *Lactobacilli* terhadap kuman patogen sangat tergantung media untuk percobaan. Selanjutnya dikatakan bahwa pada medium cair merupakan medium yang baik untuk mengetahui pengaruh metabolit ekstraselul terhadap kuman patogen, karena pada medium cair senyawa-senyawa penghambat dapat berdifusi secara baik (homogen). Pada medium cair, strain-strain kuman *Shigella* terhambat pertumbuhannya pada medium yang dicampur dengan *Lactobacillus casei* sebanyak 10(3) kali jumlah kuman. Hal ini jelaslah bahwa medium yang digunakan

untuk test daya hambat *L. casei* hidup terhadap kuman amat penting. Pada medium cair mempunyai hasil yang lebih baik dari pada medium padat, karena selain *Lactobacillus* cocok tumbuh pada medium cair, juga hasil-hasil metabolit *Lactobacillus* mudah berdifusi ke seluruh medium, sehingga berpengaruh lebih kuat terhadap sel kuman lain. Dengan demikian secara otomatis pada medium padat pengaruh itu menjadi lebih ringan/kecil dibandingkan dengan percobaan yang dilakukan dengan medium cair.

### 6.2.3 *E. coli*

Hasil uji statistik dengan analisis varian menunjukkan bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium pertumbuhan (TSA), secara signifikan mereduksi jumlah lempeng total kuman *E. coli* ( $P < 0,05$ ) (Tabel 5.27). Sehingga dengan uji LSD diketahui bahwa nilai rata-rata jumlah lempeng total dari kontrol berbeda signifikan dengan nilai rata-rata dari perlakuan medium yang dicampur dengan 8.000 hingga 10.000 kali lebih banyak dari jumlah kuman. Pada diagram batang (Gambar 5.24) menunjukkan adanya fenomena yang mengatakan bahwa semakin banyak rasio *L. casei* Subsp. *Shirota* hidup yang ditambahkan semakin sedikit jumlah lempeng total, sehingga dengan uji statistik menunjukkan signifikan. Harga rata-rata jumlah lempeng total kuman *E. coli* yang ditumbuhkan pada medium kontrol 33,0000 cfu sedangkan pada medium yang dicampur dengan *L. casei* Subsp. *Shirota* sebanyak 8.000 dan 10.000 kali lebih banyak menunjukkan rata-rata berturut-turut 28,8333 cfu dan 27,6667 cfu. Demikian juga dengan analisis regresi linier dan kuadratik (Tabel 5.29a,b) menunjukkan bahwa hubungan antara jumlah biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang ditambahkan pada medium dengan jumlah lempeng total menunjukkan signifikan (linier dan kuadratik  $P < 0,05$ ) (Gambar 5.25).

Dengan ini jelaslah bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan dalam medium berpengaruh menurunkan jumlah lempeng total kuman *E. coli*. Hal ini mungkin dikarenakan bahwa kuman *E. coli* adalah cukup peka terhadap senyawa-senyawa penghambat yang dihasilkan oleh *L. casei* Subsp. *Shirota* walaupun tumbuh dengan tidak optimum pada TSA, sehingga ada sebagian sel yang tidak mampu tumbuh dan akibatnya menunjukkan beda yang signifikan terhadap *viable count*. Hal ini berbeda dengan kedua jenis kuman sebelumnya (*S. typhimurium*, *S. flexneri*), dimana kuman ini relatif tahan terhadap senyawa penghambat yang dihasilkan oleh *L. casei*, dibandingkan dengan *E. coli*. Selanjutnya biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang dicampurkan pada medium tidak signifikan dalam mereduksi tambahan ukuran besar diameter kuman *E. coli* ( $P=0,0,6985$ )(Tabel 5.30). Rata-rata tambahan ukuran besar diameter koloni *E. coli* pada kontrol 1,2117 mm dan pada medium yang dicampur dengan *L. casei* Subsp. *Shirota* sebanyak 10.000 kali lebih banyak dari jumlah kuman adalah 1,1017 mm.

Begitu juga dengan analisis regresi linier maupun kuadratik menunjukkan tidak ada hubungan yang signifikan antara rasio jumlah biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* yang ditambahkan pada medium dengan reduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman (linier  $P=0,1967$  dan kuadratik  $P=0,4022$ )(Tabel 5.31a,b). Hal ini terlihat pada grafik yang berbentuk datar (Gambar 5.27). Dengan ini jelaslah bahwa biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* tidak berpengaruh mereduksi tambahan ukuran diameter koloni kuman *E. coli*. Adanya ketidak signifikan dalam penelitian ini beralasan yang dikaitkan dengan tereduksinya secara signifikan kuman *E. coli*, yaitu mungkin kuman *E. coli* yang telah berkemampuan tumbuh akhirnya mampu pula beradaptasi dengan lingkungannya, sehingga menunjukkan tidak signifikan. Sifat adaptif *E. coli* juga tercermin dari hasil perhitungan

reduksi jumlah lempeng total kontrol terhadap 3,0% filtrat mempunyai nilai yang paling rendah yaitu 14,22% dibandingkan dengan kuman *S. typhimurium* dan *S. flexneri*, sedangkan sensitif terhadap filtrat rendah (Tabel 5.32). Dari sini dapat dimengerti bahwa walaupun *E. coli* sensitif terhadap filtrat, namun jumlah reduksinya kecil, sehingga fenomena ini mungkin berlaku juga secara *in vivo*. Untuk itu diperlukan penelitian lebih rinci tentang sensitifitas *E. coli* patogen dan non patogen terhadap filtrat.

## BAB 7

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tentang daya kerja filtrat hasil biakan dan biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap *S. typhimurium*, *S. flexneri* dan *E. coli* secara *in vitro* dapat disimpulkan seperti berikut :

7.1.1 Secara *in vitro* filtrat hasil pertumbuhan bakteri asam laktat *L. casei* Subsp. *Shirota* berpengaruh menghambat pertumbuhan kuman *S. typhimurium* pada medium yang ditambah 6% filtrat (vol/vol), *S. flexneri* pada medium yang ditambah dengan 5% filtrat (vol/vol) dan *E. coli* pada medium yang ditambah dengan 3% filtrat (vol/vol).

7.1.2 Secara *in vitro* biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* mampu menghambat pertumbuhan kuman *E. coli* pada perbandingan 8.000 dan 10.000 kali jumlah kuman, namun tidak menunjukkan penghambatan pada kuman *S. typhimurium* maupun kuman *S. flexneri*.

#### 7.2 Saran-saran

7.2.1 Terbukti bahwa filtrat hasil pertumbuhan *L. casei* Subsp. *Shirota* mampu menghambat aktivitas pertumbuhan kuman patogen, namun nampaknya perlu diteliti lebih lanjut bahwa komponen-komponen apakah yang paling aktif berperan menghambat terhadap berbagai kuman patogen jenis lainnya.

- 7.2.2 Mengingat masing-masing jenis bakteri asam laktat mempunyai jenis bakteriosin yang berbeda-beda, maka kiranya perlu diteliti jenis bakteriosin apakah yang dipunyai oleh *L. casei* Subsp. *Shirota*.
- 7.2.3 Secara *in vitro* filtrat mampu menghambat pertumbuhan kuman patogen, namun nampaknya perlu diteliti lebih lanjut daya hambat filtrat maupun *L. casei* Subsp. *Shirota* hidup terhadap bakteri normal flora maupun kuman patogen secara *in vitro* maupun *in vivo*.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1989. Microbes in the intestine. Our lifelong partners. Yakult Honsha Co. Ltd. Japan. 47p.
- Anonim, 1994. Cancer prevention linked to diary bacteria. World food chemical news I(27):8
- Apella, M.C., S.N. Gonzales, M.E. Nader-de-Macias, N. Romero, G. Qliiver. 1992. In vitro studies on the growth of *Shigella sonnei* by *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. J. Appl. Bacteriol. 73(6):480-3
- Astuti, M. 1995. Makanan tradisional tempe dan potensinya sebagai "Radical scavenger" dalam proses penuaan. Prosiding : Seminar dalam widyakarya nasional khasiat makanan tradisional, 12p.
- Crueger W. and A. Crueger. 1984. Biotechnology : A Texbook of Industrial Microbiology. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA 01375. 306p.
- Dickson, J.S, G.R. Siragusa. 1994. Survival of *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes* during storage on beet sanitized with organic acids. J. food saf. 14(4):313-27
- Fang, W., M. Shi, L. Huang, J. Chen, Y. Wang. 1996. Antagonism of lactic acid bacteria toward *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* on agar plates and in milk. Vet. Res. 27(1):3-12
- Fardiaz, S., E. Suprianti, H.D. Kusumaningrum. 1994. Aktivitas antibakteria minuman skim kelapa hasil fermentasi dengan biakan campuran bakteri asam laktat. Prosiding PIT: Peranan mikrobiologi dalam industri pangan. Permi. Indonesia. Bogor. p:28-35
- Ganjar, L, I.R. Koentjoro, W. Manguwardoyo dan L. Soebagya. 1992. Pedoman praktikum mikrobiologi dasar. Jurusan Biologi Fakultas MIPA UI. Jakarta. 87p.
- Glasby, J.S. 1978. Encyclopedia of antibiotic. 2nd.Ed. John Willey & Sons. Chichester NY. Brisbane. Toronto. p:272-73



- Gonzales, S.N, M.C. Apella, N.C. Romero, M.E. Nader de Marcias, G. Oliver. 1993. Inhibition of enteropathogenes by lactobacilli strain used in fermented milk. J. food prot. 56(9):773-76
- Gonzales, C.B, E. Huot and H. Petitedemange. 1996. Mode of action of a bacteriocin (J46) produced by *Lactobacillus lactis subsp. cremoris* J46. J. of food protection. 59(9):955-62
- Hanafiah, KA. 1991. Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi. Rajawali Press. Jakarta
- Huttunen, E., K. Noro, Z. Yang. 1995. Purification and identification of antimicrobial substances produced by *Lactobacillus casei* strains. Int. Dairy J. 5(5):503-13
- Hwang, C.A., L.R. Beuchat. 1995. Efficacy of a lactic acid/sodium benzoate wash solution in reducing bacterial contamination of raw chicken. International J. food microbiol. 27(1):91-98
- Ho, K.L., A.L. Pometto, P.N. Hinz. 1997. Optimization of L(+) lactic acid production by ring and disc plastic composite support through repeated-batch biofilm fermentation. Appl Environ. Microbiol. 63(7):2533-42
- Ho, K.L., A.L. Pometto, P.N. Hinz, J.S. Dicson, A. Demirci. 1997. Ingredient selection for plastic composite support for L(+) lactic acid biofilm fermentation by *Lactobacillus casei* Subsp. *rhamnosus*. Appl. Environ. Microbiol. 63(7): 2516-23
- Jenie, B.S.L., Candarsari. E.Y., L. Nurai. 1993. Aktivitas antimikroba dari susu kedele yang difermentasi oleh *Lactobacillus casei*. Kongres Nasional ke VI PMI dan Second Asean Meeting on Microbiology. 9p.
- Joklik WK, HP. Willet, DB. Amos, CM. Wilfert. 1992. Zinsser Microbiology. 20th Ed., California : Appleton & Lange. pp=153-194
- Kabuki T., T. Saito, Y. Kawai, J. Uemura and T. Itoh. 1996. Production, purification and characterization of reuterin 6, a bacteriocin with lytic activity produced by *Lactobacillus reuteri* LA6. Int. J. of Food Microbiol. 34(1997):145-56
- Moat, A.G. 1979. Microbial physiology. A Willey Interscience Publ. John Willey & Sons, New York. Chichester. Brisbane Toronto. p:133-186
- Motlagh, G.L. A. Chesson. 1992. The effect of *Pedococcus* spp. and *Lactobacillus* sp on *Listeria monocytogenes*. J. of Appl. Bacteriol. 45:234-38

- Muller, E., F. Rader. 1993. Caseicin, a bacteriocin from *Lactobacillus casei*. *Folia Microbiol. Praha* 38(6): 441-46
- Midolo, P.O., J.R. Lambert, R. Hull, F. Luo, M.L. Grason. 1995. In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 79(4):475-79
- Oh, D.H., D.L. Marshall. 1993. Antimicrobial activity of ethanol, glycerol monolaurate or lactic acid against *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food microbiol.* 20(4):223-46
- Oh, S., S. Rhen, J., Sim, Y. Baek. 1995. Optimizing condition for the growth of *Lactobacillus casei* YTT 9018 in tryptone yeast extract glucose medium by using response surface methodology. *Appl. Environment Microbiol.* 61(11):3809-14
- Rahayu, E.S., Margino S. 1997. Materi Workshop : Bakteri asam laktat, Isolasi dan identifikasi. PAU Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Rahayu, E.S., S. Sudarmadji, D. Wibowo, T.F. Djaafar. 1995. Isolasi bakteri asam laktat dan karakterisasi agensia yang berpotensi sebagai biosafety makanan Indonesia. PAU Pangan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 26p.
- Russell, S.M., D.L. Fletcher, O.C. Pancorbo, W.C. Merka. 1993. Effect to lactic acid fermentation on bacterial pathogens and indicator organism in broiler processing waste. *Poultry science association.* 72(8):1573-76
- Steinkraus, K.H., 1983. Hand book of indigenous fermented foods. Marcel Dekker Inc., New York.
- Sudarmadji, S. R. Kasmidjo, Sardjono, D. Wibowo. S. Margino, E.S. Rahayu. 1998. Mikrobiologi Pangan. PAU Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. 191p.
- Vaughan, E.E., E. Caplice, R. Looney, N. O'Rourke, H. Coveney, C. Daly, G.F. Fitzgerald. 1994. Isolation from food sources of lactic acid bacteria that produced antimicrobials. *J. Appl. Bacteriol* 76(2):118-23
- Vescovo, M., S. Torriani, C. Orsi, F. Macchiarolo, G. Scolari. 1996. Application of antimicrobial production lactic acid bacteria (lab) to control pathogen in ready-to use vegetables. *J. Appl. Bacteriol.* 81(2):113-19

- Vignolo, G.M., F. Suriani, A. Pesce-de-Ruiz, A. Holgado, G. Oliver. 1993. Antibacterial activity of *Lactobacillus* strains isolated from dry fermented sausages. *J. Appl. Bacteriol.* 75(4):344-49
- Vignolo, G.M., M.N. de Kairuz, A.A.P. de Ruiz-Holgado, G. Oliver. 1995. Influence of growth condition on the production of lactocin 705, a bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* CRL 705. *J. Appl. Bacteriol.* 78(1):5-10
- Vignolo, G.M., S. Fadda, M.N. de Kairuz, A.A.P. de Ruiz Holgado. 1996. Control of *Listeria monocytogenes* in ground beer by *Lactocin* 705, a bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* CRL 705. *Int. J. Food Microbiol.* 29(273):397-402
- Wibowo, D. 1989. Prosiding Kursus Singkat Fermentasi Pangan : Bakteri asam laktat. PAU Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 18p.
- Wibowo, D. 1993. Occurance of lactic acid bacteria in Indonesian indigenous fermented food. Conference Bingen. Germany. 31 Aug to September 3, 1993. 14p.
- Winarno, F.G. 1994. Mikrobiologi dan keamanan pangan dalam PIT : Peranan mikrobiologi dalam industri pangan. Permi Cabang Bogor, Indonesia. p:1-9
- Wood, B.J.B. 1985. *Microbiology of fermented foods*. 1st. Vol 3. Appl. Science Publ. London. p:124-156
- Zheng, H.Y., T.M. Alcorn, M.S. Cohen. 1994. Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producing lactobacilli on *Neisseria gonorrhoeae* growth and catalase activity. *J. Infect. Dis.* 170(5):1209-15

**Lampiran 1. Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total *S. typhimurium***

No.	Jumlah lempeng total (cfu) pada medium NA + % Filtrat (vol/vol)																	
	Kontrol (0%)		1%		2%		3%		4%		5%		6%		7%		8%	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1. 249	208	207	217	248	217	240	262	249	218	207	195	211	179	143	94			
2. 195	291	179	261	192	240	229	147	287	391	216	214	232	214	171	167			
3. 222	247	281	221	261	213	342	268	226	314	208	226	197	147	142	109			
4. 203	214	256	224	243	241	204	215	202	214	254	218	186	194	181	96			
5. 233	256	273	260	279	307	272	215	208	129	236	381	179	176	184	164			
6. 237	347	213	194	227	249	272	219	217	248	191	241	214	164	103	190			
<b>x =</b>	<b>241,3333</b>	<b>232,2500</b>	<b>243,0833</b>	<b>238,8333</b>	<b>242,0000</b>	<b>234,5000</b>	<b>191,0833</b>	<b>145,3333</b>										

Keterangan : NA = Nutrient Agar  
 Cfu = Colony forming units  
 Filtrat = Filtrat yang berasal dari hasil fermentasi medium Tryptone Glucose Yeast Extract cair dengan *L. casei* Subsp. *Shirota*

**Lampiran 2. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total *S. typhimurium***

Source	D. F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	7	51659,3281	7379,9040	6,6735	,0000
Within Groups	40	44233,7917	1105,8448		
Total	47	95893,1198			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int	for Mean
Grp 0	6	241,8333	27,8131	11,3546	212,6458	TO 271,0209
Grp 1	6	232,2500	24,5189	10,0098	206,5194	TO 257,9806
Grp 2	6	243,0833	26,0814	10,6477	215,7130	TO 270,4537
Grp 3	6	238,8333	33,6521	13,7384	203,5181	TO 274,1486
Grp 4	6	242,0000	58,1034	23,7206	181,0252	TO 302,9748
Grp 5	6	234,5000	38,1707	15,5831	194,4429	TO 274,5571
Grp 6	6	191,0833	17,8225	7,2760	172,3800	TO 209,7866
Grp 7	6	145,3333	22,5536	9,2075	121,6651	TO 169,0016

**Levene Test for Homogeneity of Variances**

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
1,1877	7	40	,332

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 23,5143 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,86

(\*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

		G G G G G G G G
		r r r r r r r r
		p p p p p p p p
		7 6 1 5 3 0 4 2
Mean	FIL	
145,3333	Grp 7	
191,0833	Grp 6	*
232,2500	Grp 1	* *
234,5000	Grp 5	* *
238,8333	Grp 3	* *
241,8333	Grp 0	* *
242,0000	Grp 4	* *
243,0833	Grp 2	* *

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 7
Mean	145,3333
-----	

Subset 2

Group	Grp 6
Mean	191,0833
-----	

Subset 3

Group	Grp 1	Grp 5	Grp 3	Grp 0	Grp 4
Mean	232,2500	234,5000	238,8333	241,8333	242,0000
Group	Grp 2				
Mean	243,0833				
-----					

Lampiran 3. Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *S. typhimurium*

No.	Rata-rata Ukuran Diameter Koloni Kuman (mm) yang Tumbuh Pada NA + % Filtrat								
	0%(Kontrol)	1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%
1.	3,88	2,76	2,47	1,99	2,70	2,32	2,23	1,56	
2.	3,89	2,85	2,65	2,47	2,52	2,27	1,88	1,35	
3.	3,14	2,94	2,44	2,45	2,39	2,20	1,73	1,33	
4.	2,75	2,88	2,59	2,31	2,58	2,21	1,85	1,44	
5.	2,81	3,05	2,60	2,52	1,96	2,25	1,88	1,52	
6.	2,94	3,06	2,58	2,45	2,07	1,84	1,67	1,46	
$\bar{x}$	3,2350	2,9233	2,5550	2,3700	2,3650	2,1817	1,8983	1,4433	

Keterangan : NA = Nutrient Agar

Filtrat = Filtrat yang berasal dari hasil fermentasi medium Tryptone Glucose Yeast Extract cair dengan *L. casei* Subsp. *Shirota*

Lampiran 4. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *S. typhimurium*

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	7	13,2317	1,8902	29,1628	,0000
Within Groups	40	2,5927	,0648		
Total	47	15,8244			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int for Mean		
Grp 0	6	3,2350	,5210	,2127	2,6883	TO	3,7817
Grp 1	6	2,9233	,1174	,0479	2,8001	TO	3,0466
Grp 2	6	2,5550	,0817	,0333	2,4693	TO	2,6407
Grp 3	6	2,3650	,1965	,0802	2,1587	TO	2,5713
Grp 4	6	2,3700	,2946	,1203	2,0608	TO	2,6792
Grp 5	6	2,1817	,1729	,0706	2,0002	TO	2,3631
Grp 6	6	1,8983	,2512	,1025	1,6347	TO	2,1619
Grp 7	6	1,4433	,0909	,0371	1,3479	TO	1,5387

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
5,3587	7	40	,000

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq ,1800 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,86

(\*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

		G G G G G G G G
		r r r r r r r r
		p p p p p p p p
		7 6 5 3 4 2 1 0
Mean	FIL	
1,4433	Grp 7	
1,8983	Grp 6	*
2,1817	Grp 5	*
2,3650	Grp 3	* *
2,3700	Grp 4	* *
2,5550	Grp 2	* * *
2,9233	Grp 1	* * * * * *
3,2350	Grp 0	* * * * * * *

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 7
Mean	1,4433
-----	

Subset 2

Group	Grp 6	Grp 5
Mean	1,8983	2,1817
-----		

Subset 3

Group	Grp 5	Grp 3	Grp 4
Mean	2,1817	2,3650	2,3700
-----			

Subset 4

Group	Grp 3	Grp 4	Grp 2
Mean	2,3650	2,3700	2,5550
-----			



Subset 5  
 Group Grp 1  
 Mean 2,9233  
 -----  
 Subset 6  
 Group Grp 0  
 Mean 3,2350  
 -----

**Lampiran 5. Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total *S. flexneri***

No.	Jumlah lempeng total (cfu) pada medium NA + % Filtrat (vol/vol)													
	Kontrol		1%		2%		3%		4%		5%		6%	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1.	173	180	148	161	143	181	161	122	174	123	72	42		
2.	142	157	170	182	126	146	148	141	104	117	77	78		
3.	197	184	139	171	147	176	117	174	177	142	83	41		
4.	131	73	104	187	144	120	174	167	153	150	62	93		
5.	47	147	72	48	191	128	152	142	122	154	81	46		
6.	119	197	177	127	127	142	79	144	107	171	53	60		
<b>x =</b>	<b>153,67</b>		<b>147,67</b>		<b>143,41</b>		<b>141,25</b>		<b>140,50</b>		<b>65,67</b>			

Keterangan : NA = Nutrient Agar  
 Cfu = Colony forming units  
 Filtrat = Filtrat yang berasal dari hasil fermentasi medium Tryptone Glucose Yeast Extract Cair dengan *L. casei* Subsp. *Shirota*

**Lampiran 6. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total *S. flexneri***

Analysis of Variance					
Source	D. F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	5	32418,8889	6483,7778	10,9782	,0000
Within Groups	30	17718,0833	590,6028		
Total	35	50136,9722			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int for Mean		
Grp 0	6	153,6667	30,3886	12,4061	121,7763	TO	185,5571
Grp 1	6	140,5000	40,7529	16,6373	97,7331	TO	183,2669
Grp 2	6	147,6667	14,8717	6,0713	132,0600	TO	163,2733
Grp 3	6	143,4167	18,8372	7,6903	123,6485	TO	163,1848
Grp 4	6	141,2500	17,0843	6,9747	123,3213	TO	159,1787
Grp 5	6	65,6667	9,5638	3,9044	55,6302	TO	75,7031

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
1,1626	5	30	,350

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if

$$MEAN(J) - MEAN(I) \geq 17,1843 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))$$

with the following value(s) for RANGE: 2,89

(\*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

Mean	FIL	
65,6667	Grp 5	
140,5000	Grp 1	*
141,2500	Grp 4	*
143,4167	Grp 3	*
147,6667	Grp 2	*
153,6667	Grp 0	*

G G G G G G  
 r r r r r r  
 p p p p p p  
 5 1 4 3 2 0

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 5
Mean	65,6667

Subset 2

Group	Grp 1	Grp 4	Grp 3	Grp 2	Grp 0
Mean	140,5000	141,2500	143,4167	147,6667	153,6667

Lampiran 7. Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *S. flexneri*

No.	Rata-rata Ukuran Diameter Koloni Kuman (mm) yang Tumbuh Pada NA + % Filtrat						
	Kontrol (0%)	1%	2%	3%	4%	5%	6%
1.	2,89	1,48	1,55	1,17	1,12	0,73	
2.	2,08	1,52	1,44	1,20	1,31	0,80	
3.	1,78	1,61	1,81	1,39	0,98	0,81	
4.	1,57	1,79	1,65	1,31	1,25	0,85	
5.	1,86	2,07	1,59	1,38	1,27	0,97	
6.	1,79	1,62	1,54	1,42	1,03	0,91	
$\bar{x}$	1,9950	1,6817	1,5967	1,3117	1,1600	0,8550	

Lampiran 8. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *S. flexneri*

Analysis of Variance							
Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.		
Between Groups	5	4,9668	,9934	18,5351	,0000		
Within Groups	30	1,6078	,0536				
Total	35	6,5746					

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int	for Mean
Grp 0	6	1,9950	,4680	,1911	1,5038 TO	2,4862
Grp 1	6	1,6817	,2183	,0891	1,4526 TO	1,9108
Grp 2	6	1,5967	,1252	,0511	1,4653 TO	1,7280
Grp 3	6	1,3117	,1050	,0428	1,2015 TO	1,4218
Grp 4	6	1,1600	,1368	,0559	1,0164 TO	1,3036
Grp 5	6	,8550	,0971	,0396	,7531 TO	,9569

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
2,7588	5	30	,036

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq ,1637 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,89

(\*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

		G G G G G G
		r r r r r r
		p p p p p p
		5 4 3 2 1 0
Mean	FIL	
,8550	Grp 5	
1,1600	Grp 4	*
1,3117	Grp 3	*
1,5967	Grp 2	* * *
1,6817	Grp 1	* * *
1,9950	Grp 0	* * * * *

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 5
Mean	,8550
-----	

Subset 2

Group	Grp 4	Grp 3
Mean	1,1600	1,3117
-----		

Subset 3

Group	Grp 2	Grp 1
Mean	1,5967	1,6817
-----		

Subset 4

Group	Grp 0
Mean	1,9950
-----	

**Lampiran 9. Pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total *E. coli***

No.	Jumlah lempeng total (cfu) pada medium NA + % Filtrat (vol/vol)															
	Kontrol (0%)		0,5%		1,0%		1,5%		2,0%		2,5%		3,0%		3,5%	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1.	221	241	244	177	189	210	218	192	182	217	189	177	184	215		
2.	180	189	197	214	171	198	176	168	214	190	233	204	196	182		
3.	197	211	260	218	268	171	237	245	197	142	191	213	190	196		
4.	204	232	214	185	174	242	241	270	219	210	147	114	206	148		
5.	219	265	198	190	245	205	187	241	194	182	210	186	171	184		
6.	246	182	203	197	191	219	192	206	165	197	164	191	169	179		
x =	215,5833		208,000		214,4167		206,9167		192,4167		185,2500		184,9167			

Keterangan :NA = Nutrient Agar  
 Cfu = Colony forming units  
 Filtrat= Filtrat yang berasal dari hasil fermentasi medium Tryptone Glucose Yeast Extract cair  
 Dengan *L. casei* Subsp. *Shirota*

**Lampiran 10. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap jumlah lempeng total *E. coli***

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	6	6386,2262	1064,3710	2,4215	,0461
Within Groups	35	15384,5417	439,5583		
Total	41	21770,7679			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int	for Mean
Grp 0	6	215,8333	20,2056	8,2489	194,6292	TO 237,0375
Grp 1	6	208,0000	16,2142	6,6194	190,9845	TO 225,0155
Grp 2	6	206,9167	14,4756	5,9096	191,7257	TO 222,1076
Grp 3	6	214,4167	30,0673	12,2749	182,8635	TO 245,9699
Grp 4	6	192,4167	16,1537	6,5947	175,4647	TO 209,3687
Grp 5	6	184,9167	30,3668	12,3972	153,0492	TO 216,7842
Grp 6	6	185,2500	10,4439	4,2637	174,2900	TO 196,2100

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
1,0845	6	35	,391

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 14,9250 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,87

(\*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

		G G G G G G G
		r r r r r r r
		p p p p p p p
		5 6 4 2 1 3 0
Mean	FILTEC	
184,9167	Grp 5	
185,2500	Grp 6	
192,4167	Grp 4	
206,9167	Grp 2	
208,0000	Grp 1	
214,4167	Grp 3	* *
215,8333	Grp 0	* *

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 5	Grp 6	Grp 4	Grp 2	Grp 1
Mean	184,9167	185,2500	192,4167	206,9167	208,0000
-----					

Subset 2

Group	Grp 4	Grp 2	Grp 1	Grp 3	Grp 0
Mean	192,4167	206,9167	208,0000	214,4167	215,8333
-----					

Lampiran 11. Pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *E. coli*

No.	Rata-rata Ukuran Diameter Koloni Kuman (mm) yang Tumbuh Pada NA + % Filtrat							
	0%(Kontrol)	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	2,5%	3,0%	3,5%
1.	2,57	2,15	1,97	2,01	1,79	1,61	1,17	
2.	2,49	1,97	1,98	2,00	1,70	1,62	1,27	
3.	2,73	1,66	1,96	1,99	1,73	1,59	1,17	
4.	2,55	2,02	1,98	1,65	1,61	1,51	1,11	
5.	2,55	2,16	2,19	1,86	1,77	1,47	1,21	
6.	2,60	1,67	2,20	1,84	1,52	1,13	1,13	
<b>x =</b>	<b>2,5750</b>	<b>1,9383</b>	<b>2,0467</b>	<b>1,8917</b>	<b>1,7300</b>	<b>1,5533</b>	<b>1,1767</b>	

Lampiran 12. Analisis Varian dan dilanjutkan dengan uji LSD, pengaruh filtrat terhadap diameter koloni kuman *E. coli*

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	6	6,7765	1,1294	77,4915	,0000
Within Groups	35	,5101	,0146		
Total	41	7,2866			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int for Mean		
0	6	2,5750	,0857	,0350	2,4850	TO	2,6650
1	6	1,9383	,2241	,0915	1,7032	TO	2,1735
2	6	2,0467	,1152	,0470	1,9258	TO	2,1675
3	6	1,8917	,1396	,0570	1,7451	TO	2,0382
4	6	1,7300	,0678	,0277	1,6588	TO	1,8012
5	6	1,5533	,0615	,0251	1,4888	TO	1,6179
6	6	1,1767	,0575	,0235	1,1163	TO	1,2370

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
4,4325	6	35	,002

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

A difference between two means is significant if

$$|MEAN(J) - MEAN(I)| \geq ,0854 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$$

with the following value(s) for RANGE: 2,87

(\*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

		G G G G G G G
		r r r r r r r
		p p p p p p p
		6 5 4 3 1 2 0
Mean	FILTEC	
1,1767	Grp 6	
1,5533	Grp 5	*
1,7300	Grp 4	* *
1,8917	Grp 3	* * *
1,9383	Grp 1	* * *
2,0467	Grp 2	* * * *
2,5750	Grp 0	* * * * * *

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 6
Mean	1,1767
-----	

Subset 2

Group	Grp 5
Mean	1,5533
-----	

Subset 3

Group	Grp 4
Mean	1,7300
-----	

Subset 4

Group	Grp 3	Grp 1
Mean	1,8917	1,9383
-----		

Subset 5

Group	Grp 1	Grp 2
Mean	1,9383	2,0467
-----		

Subset 6

Group	Grp 0
Mean	2,5750
-----	



Lampiran 13. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total *S. typhimurium*

No.	Jumlah lempeng total (cfu) koloni kuman pada rasio <i>L. casei</i>													
	Kontrol		1.000		2.000		4.000		6.000		8.000		10.000	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1.	35	42	42	37	31	38	32	39	41	31	24	32	25	23
2.	49	46	26	31	33	27	37	26	28	40	32	25	31	13
3.	24	17	32	32	42	42	32	43	32	26	41	35	21	40
4.	31	37	37	31	37	33	43	31	27	29	31	21	34	30
5.	37	26	24	52	32	26	42	29	42	21	37	32	31	27
6.	42	41	21	43	37	82	36	39	30	8	28	36	35	16
x = 35,5833		34,0000		33,0833		34,1667		31,2500		31,1667		30,3333		

Keterangan : cfu = Colony forming units

Kontrol = perbandingan jumlah kuman *S. typhimurium* : *L. casei* hidup = 1:1

1.000= perbandingan jumlah kuman *S. typhimurium* : *L. casei* hidup = 1 : 1.000

2.000= perbandingan jumlah kuman *S. typhimurium* : *L. casei* hidup = 1 : 2.000 dan seterusnya

Lampiran 14. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup terhadap jumlahjumlah lempeng total *S. typhimurium*

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	6	133,7381	22,2897	,9373	,4809
Within Groups	35	832,2917	23,7798		
Total	41	966,0298			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int	for Mean
Grp 0	6	35,5833	9,2974	3,7956	25,8265	TO 45,3402
Grp 1	6	34,0000	4,1110	1,6783	29,6859	TO 38,3141
Grp 2	6	33,0833	3,5555	1,4515	29,3521	TO 36,8146
Grp 3	6	34,1667	2,3381	,9545	31,7130	TO 36,6203
Grp 4	6	31,2500	3,1898	1,3022	27,9025	TO 34,5975
Grp 5	6	31,1667	4,5240	1,8469	26,4191	TO 35,9143
Grp 6	6	30,3333	3,7903	1,5474	26,3557	TO 34,3110

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
2,2046	6	35	,066

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 3,4482 * RANGE * SQRT(1/N(I) + 1/N(J))$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,87

- No two groups are significantly different at the ,050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 6	Grp 5	Grp 4	Grp 2	Grp 1
Mean	30,3333	31,1667	31,2500	33,0833	34,0000
Group	Grp 3	Grp 0			
Mean	34,1667	35,5833			

Lampiran 15. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap diameter tambahan koloni kuman *S. typhimurium*

No.	Rata-rata diameter tambahan koloni kuman pada rasio <i>L. casei</i>													
	Kontrol		1.000		2.000		4.000		6.000		8.000		10.000	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1.	1,89		1,89		1,87		1,87		1,74		1,88		1,86	
2.	1,74		2,40		2,17		2,00		1,89		1,77		1,82	
3.	2,01		1,78		1,76		1,64		2,02		1,87		1,84	
4.	1,90		1,86		1,90		1,91		1,87		2,01		1,90	
5.	1,90		1,37		1,90		1,90		2,00		1,91		2,01	
6.	2,03		2,00		2,03		2,01		1,90		2,03		1,80	
<b>x =</b>	<b>1,9117</b>		<b>1,8833</b>		<b>1,9383</b>		<b>1,8883</b>		<b>1,9033</b>		<b>1,9117</b>		<b>1,8717</b>	

Keterangan : cfu = Colony forming units

Kontrol = perbandingan jumlah kuman *S. typhimurium* : *L. casei* hidup = 1:1

1.000 = perbandingan jumlah kuman *S. typhimurium* : *L. casei* hidup = 1 : 1.000

2.000 = perbandingan jumlah kuman *S. typhimurium* : *L. casei* hidup = 1 : 2.000 dan seterusnya

**Lampiran 16. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup Terhadap diameter tambahan koloni kuman *S. typhimurium***

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	6	,0178	,0030	,1118	,9945
Within Groups	35	,9269	,0265		
Total	41	,9446			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int	for Mean
Grp 0	6	1,9117	,1038	,0424	1,8027 TO	2,0206
Grp 1	6	1,8833	,3333	,1361	1,5336 TO	2,2331
Grp 2	6	1,9383	,1425	,0582	1,7888 TO	2,0878
Grp 3	6	1,8883	,1341	,0547	1,7476 TO	2,0290
Grp 4	6	1,9033	,1009	,0412	1,7974 TO	2,0093
Grp 5	6	1,9117	,0964	,0394	1,8105 TO	2,0129
Grp 6	6	1,8717	,0760	,0310	1,7919 TO	1,9514

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
1,4263	6	35	,232

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq ,1151 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,87

- No two groups are significantly different at the ,050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 6	Grp 1	Grp 3	Grp 4	Grp 0
Mean	1,8717	1,8833	1,8883	1,9033	1,9117
Group	Grp 5	Grp 2			
Mean	1,9117	1,9383			

Lampiran 17. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total *S. flexneri*

No.	Total plate count (cfu) koloni kuman pada rasio <i>L. casei</i>													
	Kontrol		1.000		2.000		4.000		6.000		8.000		10.000	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1.	80	62	61	82	78	63	82	71	87	69	63	52	37	55
2.	57	97	39	48	56	95	42	86	56	83	75	69	72	73
3.	31	94	70	71	34	69	37	68	38	62	79	66	84	72
4.	47	73	86	64	51	72	57	90	73	70	77	41	88	62
5.	91	94	72	49	88	93	57	55	67	51	71	69	80	52
6.	42	84	78	72	51	74	87	82	88	61	74	71	44	48
<b>x =</b>	<b>71,0000</b>		<b>66,0000</b>		<b>68,6667</b>		<b>67,8333</b>		<b>67,0833</b>		<b>67,2500</b>		<b>63,9167</b>	

Keterangan : cfu = Colony forming units

Kontrol = perbandingan jumlah kuman *S. flexneri* : *L. casei* hidup = 1:1  
 1.000 = perbandingan jumlah kuman : *S. flexneri* : *L. casei* hidup = 1 : 1.000  
 2.000 = perbandingan jumlah kuman *S. flexneri* : *L. casei* hidup = 1 : 2.000  
 dan seterusnya

Lampiran 18. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup terhadap jumlah lempeng total *S. flexneri*

Analysis of Variance							
Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.		
Between Groups	6	173,8095	28,9683	,2013	,9741		
Within Groups	35	5036,4583	143,8988				
Total	41	5210,2679					

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int for Mean		
Grp 0	6	71,0000	12,2923	5,0183	58,1002 TO	83,8998	
Grp 1	6	66,0000	12,2393	4,9967	53,1559 TO	78,8441	
Grp 2	6	68,6667	13,4969	5,5101	54,5027 TO	82,8306	
Grp 3	6	67,8333	12,4486	5,0821	54,7696 TO	80,8971	
Grp 4	6	67,0833	10,5519	4,3078	56,0100 TO	78,1567	
Grp 5	6	67,2500	7,0480	2,8774	59,8536 TO	74,6464	
Grp 6	6	63,9167	14,4306	5,8913	48,7729 TO	79,0604	

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
,5731	6	35	,749

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 8,4823 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,87

- No two groups are significantly different at the ,050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 6	Grp 1	Grp 4	Grp 5	Grp 3
Mean	63,9167	66,0000	67,0833	67,2500	67,8333
Group	Grp 2	Grp 0			
Mean	68,6667	71,0000			

**Lampiran 19. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap diameter tambahan koloni kuman *S. flexneri***

No.	Rata-rata diameter tambahan koloni kuman pada rasio <i>L. casei</i>						
	Kontrol	1.000	2.000	4.000	6.000	8.000	10.000
1.	1,20	1,34	1,30	1,27	1,34	1,97	2,07
2.	3,01	3,00	2,97	2,06	2,01	2,04	1,18
3.	1,84	1,91	1,76	1,88	1,90	2,00	1,94
4.	1,67	1,76	1,77	1,74	1,44	1,14	1,72
5.	1,89	1,67	1,84	1,14	1,99	1,46	1,45
6.	2,07	1,42	2,00	2,04	1,35	1,37	1,47
x =	1,9467	11,8500	1,9433	1,6883	1,6417	1,6600	1,6250

Keterangan : Kontrol = perbandingan jumlah kuman *S. flexneri* : *L. casei* hidup = 1:1  
 1.000 = perbandingan jumlah kuman *S. flexneri* : *L. casei* hidup = 1 : 1.000  
 2.000 = perbandingan jumlah kuman *S. flexneri* : *L. casei* hidup = 1 : 2.000  
 dan seterusnya

**Lampiran 20. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup Terhadap diameter tambahan koloni kuman *S. flexneri***

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	6	,7425	,1237	,5444	,7708
Within Groups	35	7,9554	,2273		
Total	41	8,6979			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int	for Mean
Grp 0	6	1,9467	,5991	,2446	1,3180 TO	2,5754
Grp 1	6	1,8500	,6019	,2457	1,2183 TO	2,4817
Grp 2	6	1,9433	,5547	,2265	1,3612 TO	2,5255
Grp 3	6	1,6883	,3942	,1609	1,2747 TO	2,1020
Grp 4	6	1,6417	,3682	,1503	1,2553 TO	2,0281
Grp 5	6	1,6600	,3905	,1594	1,2502 TO	2,0698
Grp 6	6	1,6250	,3445	,1406	1,2635 TO	1,9865

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
,1332	6	35	,991

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq ,3371 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,87

- No two groups are significantly different at the ,050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 6	Grp 4	Grp 5	Grp 3	Grp 1
Mean	1,6250	1,6417	1,6600	1,6883	1,8500
Group	Grp 2	Grp 0			
Mean	1,9433	1,9467			

Lampiran 21. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap jumlah lempeng total *E. coli*

No.	Total plate count (cfu) koloni kuman pada rasio <i>L. casei</i>													
	Kontrol		1.000		2.000		4.000		6.000		8.000		10.000	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1.	35	37	32	38	39	24	41	39	30	31	29	33	32	30
2.	21	35	27	35	30	44	28	32	38	24	24	38	27	24
3.	29	32	37	32	20	37	27	37	36	31	32	34	27	30
4.	39	31	26	30	34	37	36	34	32	34	21	27	31	24
5.	38	26	34	38	24	40	32	40	24	31	30	24	28	30
6.	35	38	39	24	33	30	31	34	27	29	27	27	25	24
<b>x=</b>	<b>33,0000</b>		<b>32,6667</b>		<b>33,2500</b>		<b>32,7500</b>		<b>30,5833</b>		<b>28,8333</b>		<b>27,6667</b>	

Keterangan : cfu = Colony forming units

Kontrol = perbandingan jumlah kuman *E. coli* : *L. casei* hidup = 1:1

1.000 = perbandingan jumlah kuman : *E. coli* : *L. casei* hidup = 1 : 1.000

2.000 = perbandingan jumlah kuman *E. coli* : *L. casei* hidup = 1 : 2.000

dan seterusnya

Lampiran 22. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup Terhadap jumlahjumlah lempeng total *E. coli*

Analysis of Variance

Source	D. F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	6	182,6667	30,4444	3,3565	,0102
Within Groups	35	317,4583	9,0702		
Total	41	500,1250			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int	for Mean
Grp 0	6	33,0000	3,3912	1,3844	29,4412	TO 36,5588
Grp 1	6	32,6667	2,7508	1,1230	29,7800	TO 35,5534
Grp 2	6	33,2500	3,9843	1,6266	29,0688	TO 37,4312
Grp 3	6	32,7500	2,3184	,9465	30,3170	TO 35,1830
Grp 4	6	30,5833	2,4782	1,0117	27,9826	TO 33,1840
Grp 5	6	28,8333	3,3714	1,3764	25,2953	TO 32,3714
Grp 6	6	27,6667	2,3805	,9718	25,1685	TO 30,1648

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
,7813	6	35	,590

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 2,1296 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,87

(\*) Indicates significant differences which are shown in the lower triangle

		G G G G G G G
		r r r r r r r
		p p p p p p p
		6 5 4 1 3 0 2
Mean	RASIO	
27,6667	Grp 6	
28,8333	Grp 5	
30,5833	Grp 4	
32,6667	Grp 1	* *
32,7500	Grp 3	* *
33,0000	Grp 0	* *
33,2500	Grp 2	* *

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 6	Grp 5	Grp 4
Mean	27,6667	28,8333	30,5833

Subset 2

Group	Grp 4	Grp 1	Grp 3	Grp 0	Grp 2
Mean	30,5833	32,6667	32,7500	33,0000	33,2500



**Lampiran 23. Pengaruh *L. casei* Subsp. *Shirota* terhadap diameter tambahan koloni kuman *E. coli***

No.	Rata-rata diameter tambahan koloni kuman pada rasio <i>L. casei</i>						
	Kontrol	1.000	2.000	4.000	6.000	8.000	10.000
1.	1,02	1,01	1,42	1,02	1,07	1,04	1,24
2.	1,24	1,24	1,04	1,02	1,02	1,15	1,11
3.	1,00	1,11	1,17	1,42	1,40	1,20	1,21
4.	1,51	1,42	1,41	1,31	1,15	1,17	1,02
5.	1,43	1,56	1,39	1,01	1,17	1,14	1,01
6.	1,07	1,17	1,22	1,24	1,21	1,72	1,02
<b>x =</b>	<b>1,2117</b>	<b>1,2517</b>	<b>1,2750</b>	<b>1,1700</b>	<b>1,1700</b>	<b>1,2367</b>	<b>1,1017</b>

Keterangan : Kontrol = perbandingan jumlah kuman *E. coli* : *L. casei* hidup = 1:1  
 1.000= perbandingan jumlah kuman *E. coli* : *L. casei* hidup = 1 : 1.000  
 2.000= perbandingan jumlah kuman *E. coli* : *L. casei* hidup = 1 : 2.000  
 dan seterusnya

**Lampiran 24. Analisis varian dan dilanjutkan uji LSD pengaruh *L. casei* hidup Terhadap diameter tambahan koloni kuman *E. coli***

Variable DITAMEC Diameter tambahan *E. coli*  
 By Variable RASIO Rasio kuman dan *L. casei*

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	6	,1272	,0212	,6386	,6985
Within Groups	35	1,1621	,0332		
Total	41	1,2894			

Group	Count	Mean	Standard Deviation	Standard Error	95 Pct Conf Int	for Mean
Grp 0	6	1,2117	,2187	,0893	,9822	TO 1,4411
Grp 1	6	1,2517	,2043	,0834	1,0373	TO 1,4661
Grp 2	6	1,2750	,1560	,0637	1,1112	TO 1,4388
Grp 3	6	1,1700	,1775	,0725	,9837	TO 1,3563
Grp 4	6	1,1700	,1322	,0540	1,0313	TO 1,3087
Grp 5	6	1,2367	,2429	,0992	,9818	TO 1,4915
Grp 6	6	1,1017	,1026	,0419	,9939	TO 1,2094

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
,9041	6	35	,503

Multiple Range Tests: LSD test with significance level ,05

The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J)-MEAN(I) \geq ,1288 * RANGE * \sqrt{1/N(I) + 1/N(J)}$   
 with the following value(s) for RANGE: 2,87

- No two groups are significantly different at the ,050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 6	Grp 3	Grp 4	Grp 0	Grp 5
Mean	1,1017	1,1700	1,1700	1,2117	1,2367
Group	Grp 1	Grp 2			
Mean	1,2517	1,2750			

---

Lampiran 25. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total *S. typhimurium* pada filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 1)

Dependent variable.. JUMST Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,55164  
 R Square ,30431  
 Adjusted R Square ,28918  
 Standard Error 38,08235

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	29180,905	29180,905
Residuals	46	66712,215	1450,266

F = 20,12108 Signif/ F = ,0000

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FIL	-10,760913	2,398963	-,551640	-4,486	,0000
(Constant)	258,777778	10,035581		25,786	,0000

Dependent variable.. JUMST Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,69899  
 R Square ,48859  
 Adjusted R Square ,46586  
 Standard Error 33,01211

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	46852,155	23426,078
Residuals	45	49040,965	1089,799

F = 21,49577 Signif F = ,0000

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FIL	18,548115	7,569739	,950838	2,450	,0182
FIL**2	-4,187004	1,039784	-1,562600	-4,027	,0002
(Constant)	229,468750	11,342700		20,231	,0000

**Lampiran 26. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* pada filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 3)**

Dependent variable.. DIAMST Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,89226  
 R Square ,79613  
 Adjusted R Square ,79170  
 Standard Error ,26483

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	12,598250	12,598250
Residuals	46	3,226148	,070134
F =	179,63204	Signif F =	,0000

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FIL	-,223591	,016683	-,892260	-13,403	,0000
(Constant)	3,154028	,069788		45,194	,0000

Dependent variable.. DIAMST Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,89239  
 R Square ,79635  
 Adjusted R Square ,78730  
 Standard Error ,26761

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	12,601794	6,3008969
Residuals	45	3,222604	,0716134
F =	87,98486	Signif F =	,0000

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FIL	-,210466	,061363	-,839884	-3,430	,0013
FIL**2	-,001875	,008429	-,054472	-,222	,8250 ✓
(Constant)	3,140903	,091948		34,160	,0000

**Lampiran 27. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total kuman *S. flexneri* pada filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 5)**

Dependent variable.. JUMSF Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,57792  
 R Square ,33399  
 Adjusted R Square ,31441  
 Standard Error 31,33852

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	16745,486	16745,486
Residuals	34	33391,487	982,103

F = 17,05065 Signif F = ,0002

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FIL	-12,628571	3,058326	-,577923	-4,129	,0002
(Constant)	163,599206	9,259542		17,668	,0000

Dependent variable.. JUMSF Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,71270  
 R Square ,50794  
 Adjusted R Square ,47811  
 Standard Error 27,34218

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	25466,343	12733,172
Residuals	33	24670,629	747,595

F = 17,03218 Signif F = ,0000

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FIL	18,569345	9,516137	,849791	1,951	,0595
FIL**2	-6,239583	1,826876	-1,487383	-3,415	,0017
(Constant)	142,800595	10,116783		14,115	,0000



Lampiran 29. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total *E. coli* pada filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 9)

Dependent variable.. JUMEC Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,47818  
 R Square ,22866  
 Adjusted R Square ,20937  
 Standard Error 20,48947

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	4978,037	4978,0372
Residuals	40	16792,731	419,8183

F = 11,85760 Signif F = ,0014

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FILT	-10,886905	3,161593	-,478181	-3,443	,0014
(Constant)	217,437500	5,699644		38,149	,0000

Dependent variable.. JUMEC Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,48677  
 R Square ,23694  
 Adjusted R Square ,19781  
 Standard Error 20,63875

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	5158,399	2579,1994
Residuals	39	16612,369	425,9582

F = 6,05505 Signif F = ,0051

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FILT	-3,708333	11,482343	-,162880	-,323	,7485
FILT**2	-2,392857	3,677293	-,328176	-,651	,5190
(Constant)	214,446429	7,354585		29,158	,0000

Lampiran 30. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni kuman *E. coli* pada filtrat *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 11)

Dependent variable.. DIAMEC Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,90574  
 R Square ,82037  
 Adjusted R Square ,81588  
 Standard Error ,18090

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	5,9777149	5,9777149
Residuals	40	1,3089256	,0327231

F = 182,67547 Signif F = ,0000

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FILT	-,377262	,027913	-,905741	-13,516	,0000
(Constant)	2,410417	,050320		47,901	,0000

Dependent variable.. DIAMEC Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,90584  
 R Square ,82055  
 Adjusted R Square ,81135  
 Standard Error ,18310

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	5,9790817	2,9895409
Residuals	39	1,3075587	,0335271

F = 89,16777 Signif F = ,0000

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
FILT	-,357500	,101870	-,858296	-3,509	,0011
FILT**2	-,006587	,032624	-,049382	-,202	,8410
(Constant)	2,402183	,065249		36,816	,0000



Lampiran 31. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total *S. typhimurium* pada biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 13)

Dependent variable.. JUMSF Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,12924  
 R Square ,01670  
 Adjusted R Square -,00788  
 Standard Error 11,31729

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	87,0239	87,02390
Residuals	40	5123,2440	128,08110

F = ,67944 Signif F = ,4147

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-,000416	,000505	-,129238	-,824	,4147
(Constant)	69,236206	2,837359		24,402	,0000

Dependent variable.. JUMSF Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,13084  
 R Square ,01712  
 Adjusted R Square -,03328  
 Standard Error 11,45903

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	89,2008	44,60042
Residuals	39	5121,0670	131,30941

F = ,33966 Signif F = ,7141

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-,000177	,001928	-,054907	-,092	,9274
RAS**2	-2,43724925E-08	1,8929E-07	-,077090	-,129	,8982
(Constant)	68,945483	3,653990		18,869	,0000



Lampiran 32. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni kuman *S. typhimurium* pada biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 15)

Dependent variable.. DITAMST Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,05332  
 R Square ,00284  
 Adjusted R Square -,02209  
 Standard Error ,15346

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	,00268556	,00268556
Residuals	40	,94195492	,02354887

F = ,11404 Signif F = ,7374

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-2,31228669E-06	6,8471E-06	-,053319	-,338	,7374
(Constant)	1,911431	,038473		49,682	,0000

Dependent variable.. DITAMST Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,06582  
 R Square ,00433  
 Adjusted R Square -,04673  
 Standard Error ,15530

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	,00409213	,00204607
Residuals	39	,94054834	,02411662

F = ,08484 Signif F = ,9188

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	3,77302630E-06	2,6133E-05	,087003	,144	,8859
RAS**2	-6,19526305E-10	2,5653E-09	-,145531	,	,
(Constant)	1,904041	,049520		38,450	,0000

Lampiran 33. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan jumlah lempeng total *S. flexneri* pada biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 17)

Dependent variable.. JUMST Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,34218  
 R Square ,11709  
 Adjusted R Square ,09502  
 Standard Error 4,61768

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	113,11118	113,11118
Residuals	40	852,91859	21,32296

F = 5,30466 Signif F = ,0265

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-,000475	,000206	-,342182	-2,303	,0265
(Constant)	34,899175	1,157699		30,145	,0000

Dependent variable.. JUMST Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,34312  
 R Square ,11773  
 Adjusted R Square ,07248  
 Standard Error 4,67481

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	113,73012	56,865058
Residuals	39	852,29965	21,853837

F = 2,60206 Signif F = ,0869

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-,000602	,000787	-,434228	-,765	,4486
RAS**2	1,29957756E-08	7,7222E-08	,095463	,168	,8672
(Constant)	35,054193	1,490676		23,516	,0000

Lampiran 34. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni *S. flexneri* pada biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 19)

Dependent variable.. DITAMSF Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,25826  
 R Square ,06670  
 Adjusted R Square ,04336  
 Standard Error ,45049

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	,5801178	,58011783
Residuals	40	8,1177322	,20294330

F = 2,85852 Signif F = ,0987

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-3,39846416E-05	2,0101E-05	-,258257	-1,691	,0987
(Constant)	1,915503	,112943		16,960	,0000

Dependent variable.. DITAMSF Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,27013  
 R Square ,07297  
 Adjusted R Square ,02543  
 Standard Error ,45470

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	,6346793	,31733964
Residuals	39	8,0631707	,20674797

F = 1,53491 Signif F = ,2282

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-7,18850464E-05	7,6516E-05	-,546271	-,939	,3533
RAS**2	3,85851931E-09	7,5110E-09	,298705		
(Constant)	1,961529	,144991		13,529	,0000

**Lampiran 35. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan lempeng total *E. coli* pada biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 21)**

Dependent variable.. JUMEC Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,57162  
 R Square ,32675  
 Adjusted R Square ,30992  
 Standard Error 2,90133

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	163,41745	163,41745
Residuals	40	336,70755	8,41769

F = 19,41358 Signif F = ,0001

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-,000570	,000129	-,571623	-4,406	,0001
(Constant)	33,776024	,727391		46,434	,0000

Dependent variable.. JUMEC Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,59179  
 R Square ,35021  
 Adjusted R Square ,31689  
 Standard Error 2,88665

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	175,14882	87,574408
Residuals	39	324,97618	8,332723

F = 10,50970 Signif F = ,0002

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-1,46478955E-05	,000486	-,014680	-,030	,9761
RAS**2	-5,65785847E-08	4,7684E-08	-,577619	-1,187	,2426
(Constant)	33,101136	,920477		35,961	,0000

Lampiran 36. Analisis regresi linier dan kuadratik hubungan ukuran diameter koloni kuman *E. coli* pada biakan hidup *L. casei* Subsp. *Shirota* (lihat data lampiran 23)

Dependent variable.. DITAMEC Method.. LINEAR

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,20327  
 R Square ,04132  
 Adjusted R Square ,01735  
 Standard Error ,17579

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	1	,0532734	,05327337
Residuals	40	1,2360885	,03090221

F = 1,72393 Signif F = ,1967

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	-1,02986348E-05	7,8437E-06	-,203267	-1,313	,1967
(Constant)	1,247989	,044072		28,317	,0000

Dependent variable.. DITAMEC Method.. QUADRATI

Listwise Deletion of Missing Data

Multiple R ,21362  
 R Square ,04563  
 Adjusted R Square -,00331  
 Standard Error ,17763

Analysis of Variance:

	DF	Sum of Squares	Mean Square
Regression	2	,0588399	,02941994
Residuals	39	1,2305220	,03155185

F = ,93243 Signif F = ,4022

----- Variables in the Equation -----

Variable	B	SE B	Beta	T	Sig T
RAS	1,80713410E-06	2,9891E-05	,035668	,060	,9521
RAS**2	-1,23244972E-09	2,9342E-09	-,247805	,	,
(Constant)	1,233288	,056641		21,774	,0000

