

**PENGARUH VIRGIN COCONUT OIL (VCO) TERHADAP
AKTIVITAS BAKTERI PROBIOTIK *Lactobacillus delbrueckii*
*subsp. bulgaricus***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm) di bidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA**



Oleh:

**ULFI
08061181722021**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul Makalah Hasil : PENGARUH VIRGIN COCONUT OIL (VCO)
TERHADAP AKTIVITAS BAKTERI PROBOTIK
Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus

Nama Mahasiswa : ULFI
NIM : 08061181722021
Jurusan : FARMASI

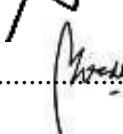
Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematikan dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 16 April 2021 serta telah diperbaiki, diperiksa dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 20 Mei 2021

Pembimbing:

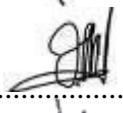
1. Dr. Miksusanti, M.Si
NIP. 196807231994032003
2. Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt
NIP. 195810261987032002

(.....)

(.....)


Pembahas:

1. Herlina, M. Kes., Apt.
NIP. 197107031998022001
2. Elsa Fitria Apriani, M.Farm., Apt
NIP. 199204142019032031
3. Dr. Nirwan Syarif, M.Si
NIP. 197010011999031003

(.....)

(.....)

(.....)


Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi Fakultas

MIPA, UNSRI



Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah Hasil : PENGARUH VIRGIN COCONUT OIL (VCO) TERHADAP AKTIVITAS BAKTERI PROBIOTIK *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*
Nama Mahasiswa : ULFI
NIM : 08061181722021
Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ssidang Ujian Skripsi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 28 Mei 2021 serta telah diperbaiki, diperiksa dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 31 Mei 2021

Ketua:

1. Dr. Miksusanti, M.Si (.....) 
NIP. 196807231994032003

Anggota:

1. Dr. Budi Untari, M.Si, Apt. (.....) 
NIP.195810261987032002

2. Herlina, M. Kes., Apt. (.....) 
NIP. 197107031998022001

3. Elsa Fitria Apriani, M.Farm., Apt (.....) 
NIP. 199204142019032031

4. Dr. Nirwan Syarif, M.Si (.....) 
NIP. 197010011999031003

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi Fakultas
MIPA, UNSRI



Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Ulfii

NIM : 08061181722005

Fakultas / Jurusan : MIPA / Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang atau tidak diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sempurna menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 28 Mei 2021

Penulis,



ULFI
NIM. 08061181722021

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Ulfii
NIM : 08061181722005
Fakultas / Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam / Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada Universitas Sriwijaya ‘hak mandi non-ekslusif: (non-eksklusif royalty-free) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Pengaruh Virgin Coconut Oil (VCO) terhadap Aktivitas Bakteri Probiotik *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas mandi non-eksklusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, ditempatkan dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hal cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 28 Mei 2021

Penulis,

Ulfii
NIM. 08061181722021

HALAMAN PERSEMPAHAN DAN MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang)

SKRIPSI INI SAYA PERSEMPAHAN KEPADA ORANG TUA (MAK DAN BAK), KAKAK-KAKAK, KELUARGA BESAR DAN ORANG-ORANG DISEKITAR SAYA YANG SELALU MEMBERIKAN SEMANGAT, MOTIVASI SERTA DOA

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرٌ إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

"Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnyasesudah kesulitan itu ada kemudahan." (QS. Al-Insyirah: 5-6)

"Bicara itu seperti obat. Jika pas (sesuai dosis) akan bermanfaat. Jika kebanyakan bisa mematikan." —Amr bin Al Ash.

Motto:

*When life give you a hundred reason to cry,
show life that you have a thousand reason to
smile.*

Let go and let god .

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahuwa Ta“ala karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis akhirnya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Virgin Coconut Oil (VCO) terhadap Aktivitas Bakteri *Probiotik Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*”. Shalawat seiring salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad Shallallahu“alaihi Wassalam. Skripsi ini disusun sebagai upaya penulis dalam memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Penulis menyadari bahwa dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW atas berkat, rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan studi ini dengan baik.
2. Kedua orang tua, bak (Aziz) dan mak (Saibah) tersayang. Terimakasih telah memberi nasihat, memotivasi, mendidik ulfi sampai jadi ulfi yang sekarang. Terimakasih atas cinta dan kasih sayang yang mak dan bak berikan kepada ulfi dari kecil sampai dengan sekarang ulfi tidak kekurangan suatu apapun, terimakasih telah mendoakan dan memberikan restu untuk setiap langkah yang ulfi ambil hingga ulfi dapat menyelesaikan studi ini dengan baik.
3. Kakak-kakak (Harun Azmar, Hamzah Azmar, Jamaludin, Eka Prayitno) dan ayuk-ayuk (Balqis Nawawi, Enida Azmar, Nining wirdaningsih, Nia Kurnia, Sinta) yang turut memberikan dukungan secara finansial dan selalu memberikan semangat, saran dan doa kepada ulfi sehingga ulfi dapat melesaikan skripsi ini dengan lancar dan baik.
4. Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. selaku Ketua Jurusan Farmasi FMIPA Unsri atas sarana dan prasarana serta dukungan yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini berjalan dengan lancar.
5. Ibu Dr. Budi Untari, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing akademik atas semua dukungan dan nasihat dan waktu yang telah diberikan kepada penulis

- selama perkuliahan hingga penulisan skripsi selesai.
6. Ibu Dr. Miksusanti, M.Si. selaku dosen pembimbing pertama dan ibu Dr. Budi Untari, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan, bimbingan, semangat, doa, dan nasihat. Terimakasih untuk perhatian dengan keluh-kesah dan selalu memberi saran sehingga ulfi dapat menyelesaikan penelitian ini dengan baik mulai dari tahap penetapan judul sampai ke tahap sidang komprehensif.
 7. Ibu Herlina, M.Kes., Apt., Ibu Elsa Fitria Apriani, M.Farm., Apt. dan Bapak Dr. Nirwan Syarif, M.Si selaku dosen penguji dan pembahas selama sempro, semhas, dan sidang komprehensif atas masukan dan saran serta ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan lancar dan baik.
 8. Seluruh dosen Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, atas semua ilmu, saran dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis sejak awal perkuliahan dan selama penyusunan skripsi ini.
 9. Seluruh staf administrasi jurusan farmasi (Kak Ria dan Kak Erwin) yang sudah banyak membantu doa dan usaha terkhusus mengenai legalisasi surat-menyurat yang dibutuhkan selama proses penyelesaian skripsi ini. Kalimat motivasi yang selalu diucapkan yang dijadikan harapan oleh si penulis agar tetap semangat menyelesaikan skripsi.
 10. Staf analis laboratorium jurusan farmasi (Kak Tawan, Kak Isti dan Kak Fitri) yang sudah sangat membantu si penulis menyelesaikan penelitian. Dan dengan sabar mengajarkan dan memberitahu fungsi beberapa alat yang mungkin penulis belum mengerti.
 11. Rekan penelitian dan seperjuangan per-antibakterian dan per-probiotikan Ria Artha (Iyak) dan Sania Tullatifah (Santul) yang selalu membantu, membimbing, berfikir bersama si penulis ketika sedang kesusahan mengerjakan skripsi dari penentuan judul hingga sidang komprehensif. Terimakasih untuk tidak menyerah dan berjuang bersama.
 12. Sahabat seperjuangan BISKUAT (Ama, Iyak, Eyis, Santul, Tasya, Aul) yang telah menrima penulis apa adanya dan menemani penulis dari awal

perkuliahan sampai dengan mendapatkan gelar S. Farm dan semoga selamanya. Terimakasih atas segala canda tawa, waktu, pembelajaran hidup, ilmu yang sangat bermanfaat dan selalu memberikan motivasi kepada si penulis untuk menyelesaikan perkuliahan dan skripsi bersama-sama. terimakasih untuk selalu mendengar keluh-kesah tentang perkuliahan dan menjadi alasan penulis untuk tetap bersemangat kuliah. Terimakasih telah memberikan kenangan indah yang tidak terlupakan dan terimakasih telah hadir dihidup si penulis dan menjadi sahabat terbaik sehingga hari-hari selama kurang lebih 4 tahun di Farmasi terasa mudah dan menyenangkan. terimakasih untuk tidak pernah menyerah dan tetap berjuang bersama.

13. Sahabat SMA (Mayasari Yuliarni, Natasya Salsabila Putri, Goestyananda Pratama) yang selalu menemani penulis dari SMA hingga penulis dapat menyelesaikan studi di Farmasi. Terimakasih atas semua canda tawa, kenangan indah, motivasi dan cerita yang selalu didengarkan. Terimakasih karena tetap ada dan menerima apa adanya.
14. Keponakan (Dinda Clarisa, Qisha Putri, Shiffa Salsabila, Zidan Naufal, Justine Inayah, Dafka Hernanda) atas dukungan, motivasi dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
15. Teman-teman kelas retjeh (Farmasi 17A) yang tetap kompak dari awal perkuliahan (PK2) sampai dengan akhir perkuliahan ini. Terimakasih atas masa-masa indah dan canda tawa yang tidak pernah terlupakan. Terimakasih untuk selalu menjadi alasan si penulis untuk semangat berkuliah. Terimakasih untuk semua bantuan yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan lancar.
16. Kakak asuh (Rizka Kurnia) yang telah memberikan dukungan berupa peminjaman buku, laporan, catatan, dan berbagi pengalaman selama masa perkuliahan ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
17. Rekan-rekan HKMF (Himpunan Keluarga Mahasiswa Farmasi) terutama staf dan anggota pendidikan dan profesi atas dukungan, doa, semangat, motivasi, serta berbagi pengalaman sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dengan baik.
18. Kakak-kakak Farmasi 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016 yang telah

memberikan arahan dan dukungan selama masa perkuliahan dan penelitian. Adik-adik Farmasi 2018, 2019 dan 2020 yang juga mendo'akan dan membantu.

19. Aplikasi twitter, tiktok, netflix yang telah membantu si penulis dalam menghilangkan stres selama penggerjaan skripsi.
20. Semua pihak yang telah memberikan bantuan baik langsung maupun tidak langsung yang namanya tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT memberkahi dan memberikan balasan yang berlipat-lipat ganda kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan. Penulis sangat berharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca untuk perbaikan selanjutnya. Penulis sangat berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan seluruh yang membacanya.

Indralaya, Mei 2021
Penulis,



Ulfia
NIM. 08061181722021

**The Effect of Virgin Coconut Oil (VCO) On The Activity of The Probiotic
Bacteria *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus***

**Ulfie
NIM: 08061181722021**

ABSTRACT

VCO is a functional food that is often consumed as an alternative in improving health. In the body there are probiotic bacteria which are normal microflora of the intestine, an example of probiotic bacteria is *L. bulgaricus*. This research was conducted to see the effect of VCO on the activity of *L. bulgaricus* probiotic bacteria in the body. The growth (viability) test of *L. bulgaricus* was carried out by counting the colonies used a total plate count method. Diffusion method was used to determine the antibacterial activity of *L. bulgaricus* metabolites. MIC determination used the dilution method (microdilution). VCO was made using the fishing method and has met the standards for specific gravity (0.9149), refractive index (1.4546) and water content (0%). The fatty acid component was tested using GCMS with the highest concentration, namely lauric acid (17.92%). The VCO concentration used in the bacterial growth (viability) test was 1%, 5%, 10%, 15%. The best concentration of bacteria was at concentration of 1% with $p < 0.05$. There was a significant difference in the number of probiotic bacteria in the concentration of 15% with negative and positive controls. The number of bacteria at the four concentrations were 150.8×10^{12} , 111.4×10^{12} , 109.25×10^{12} , 55.667×10^{12} , respectively. Antibacterial activity tested of *L. bulgaricus* metabolites with three concentrations (100%, 75%, 25 %) resulted in the resistance response obtained, namely weak-moderate. In the antibacterial activity test on *L. bulgaricus* metabolites that were not treated with VCO produced a significant difference where the $p < 0.05$. Testing the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) on *L. bulgaricus* metabolites that had been treated with VCO and not treated resulted in different MIC. The MIC on untreated metabolites was 4.69%, while the MIC on treated metabolites was 9.38%.

Keywords: VCO, gas chromatography-mass spectrometry, *Lactobacillus bulgaricus*, total plate count, antibacterial activity, Minimum Inhibitory Concentration.

**Pengaruh Virgin Coconut Oil (VCO) Terhadap Aktivitas Bakteri Probiotik
Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus***

**Ulfie
NIM: 08061181722021**

ABSTRAK

VCO merupakan pangan fungsional yang sering dikonsumsi untuk dijadikan sebagai alternatif dalam meningkatkan kesehatan. Didalam tubuh terdapat bakteri probiotik yang merupakan mikroflora normal usus, contoh bakteri probiotik itu ialah *L. bulgaricus*. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh VCO terhadap aktivitas bakteri probiotik *L. bulgaricus* yang ada didalam tubuh. Uji pertumbuhan (viabilitas) bakteri *L. bulgaricus* dilakukan dengan menghitung koloni menggunakan *total plate count*. Penentuan aktivitas antibakteri metabolit *L. bulgaricus* menggunakan metode difusi. Penentuan KHM menggunakan metode dilusii (*microdilution*). VCO dibuat menggunakan metode pancingan dan telah memenuhi standar bobot jenis (0,9149), indeks bias (1,4546) dan kadar air (0%). Komponen asam lemaknya diuji menggunakan GCMS dengan konsentrasi tertinggi yaitu asam laurat (17,92%). Konsentrasi VCO yang digunakan pada uji pertumbuhan bakteri (viabilitas) yaitu 1%, 5%, 10%, 15%. Konsentrasi yang paling bagus jumlah bakterinya berada pada konsentrasi 1%. Terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah bakteri probiotik konsentrasi 15% dengan kontrol negatif maupun positif ditandai dengan nilai $p < 0,05$. Jumlah bakteri pada keempat konsentrasi itu berturut-turut yaitu $150,8 \times 10^{12}$, $111,4 \times 10^{12}$, $109,25 \times 10^{12}$, $55,667 \times 10^{12}$. Pengujian aktivitas antibakteri metabolit *L. bulgaricus* dengan tiga konsentrasi (100%, 75%, 25%) menghasilkan respon hambatan yang didapat yaitu lemah-sedang. Pada uji aktivitas antibakteri pada metabolit *L. bulgaricus* yang tidak diberi perlakuan dengan VCO menghasilkan perbedaan yang signifikan dimana nilai $p < 0,05$. Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada metabolit *L. bulgaricus* yang telah diberi perlakuan dengan VCO dan tidak diberi perlakuan menghasilkan KHM yang berbeda. KHM pada metabolit yang tidak diberi perlakuan yaitu 4,69% sedangkan KHM pada metabolit yang diberi perlakuan yaitu 9,38%.

Kata kunci : VCO, Kromatografi gas-spektrometri massa, *Lactobacillus bulgaricus*, angka lempeng total, aktivitas antibakteri, Konsentrasi Hambat Minimum.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
HALAMAN PERSETUJUAN MAKALAH SEMINAR HASIL	ii
ABSTRACT	xi
ABSTRAK	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 VCO (Virgin Coconut Oil).....	6
2.1.1 Sifat Fisika dan Kimia VCO	7
2.1.2 Kandungan Asam Lemak.....	7
2.2 Metode Pembuatan VCO.....	11
2.2.1 Metode Pancingan.....	12
2.3 Analisis Komponen VCO dengan GCMS	12
2.3.1 Kromatografi Gas.....	12
2.3.2 Spektrofotometri Massa	13
2.4 Bakteri Uji	14
2.4.1 <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	14
2.4.1.1 Klasifikasi.....	14
2.4.1.2 Morfologi	15
2.4.2 <i>Escherichia coli</i>	16
2.4.2.1 Klasifikasi.....	16
2.4.2.2 Morfologi	16
2.5 Mekanisme Antibakteri	17
2.6 Mekanisme Antibakteri Metabolit Probiotik.....	18
2.7 Pengujian daya hidup (Viabilitas) Probiotik	20
2.7.1 Metode <i>Total Plate Count</i>	20
2.8 Penentuan Sifat Antibakteri.....	21
2.8.1 Metode difusi	21
2.8.1.1 Metode Difusi Sumur	21

2.8.1.2 Metode Difusi Kertas Cakram.....	22
2.8.2 Metode Dilusi.....	22
2.9 KHM.....	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	25
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.2 Alat dan Bahan	25
3.2.1 Alat.....	25
3.2.2 Bahan	25
3.3 Prosedur Kerja	26
3.3.1 Preparasi Sampel.....	26
3.3.2 Pemeriksaan Sifat Fisik VCO	26
3.3.2.1 Organoleptis	26
3.3.2.2 Bobot Jenis	26
3.3.2.3 Indeks Bias	27
3.3.2.4 Kadar Air.....	27
3.3.3 Analisa Kandungan Asam Lemak VCO dengan GC-MS	26
3.4 Uji Pertumbuhan <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	28
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	28
3.4.2 Pembuatan Larutan	29
3.4.2.1 Larutan DMSO 10%.....	29
3.4.2.2 Larutan NaCl 0,9%.....	29
3.4.3 Pembuatan Media MRSA dan MRSB	29
3.4.4 Peremajaan Bakteri <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	29
3.4.5 Pembuatan suspensi bakteri <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	30
3.4.6 Perlakuan Uji.....	30
3.4.7 Penentuan Jumlah Bakteri <i>L. bulgaricus</i> Metode TPC	30
3.5 Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit dan KHM <i>L. bulgaricus</i>	31
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	31
3.5.2 Pembuatan Larutan	31
3.5.2.1 <i>Mc Farland Standard</i>	31
3.5.2.2 Pembuatan Metabolit.....	32
3.5.3 Pembuatan Media Bakteri	32
3.5.3.1 NA dan NB	32
3.5.4 Peremajaan Bakteri <i>Escherichia coli</i>	32
3.5.5 Pembuatan Suspensi Bakteri <i>E.coli</i>	33
3.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri <i>L.bulgaricus</i>	33
3.5.7 Uji KHM	34
3.5.7.1 Pembuatan Larutan.....	34
3.5.7.2 Perlakuan Uji KHM	34
3.6 Analisis Data	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Pemeriksaan Sifat Fisik VCO.....	36
4.1.1 Pengamatan Organoleptik	36
4.1.2 Penetapan Indeks Bias	36
4.1.3 Penetapan Bobot Jenis	37
4.1.4 Penetapan Kadar Air	37
4.2 Analisa Kandungan Asam Lemak VCO dengan GC-MS	38
4.3 Uji Pertumbuhan <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	43

BAB V	4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit <i>L. bulgaricus</i>	47
	KESIMPULAN DAN SARAN.....	53
	5.1 Kesimpulan.....	53
	5.2 Saran	54
	DAFTAR PUSTAKA	55
	LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Sifat Fisik virgin coconut oil.....	7
Tabel 2.	Kandungan asam lemak Virgin coconut oil	9
Tabel 3.	MIC Asam Lemak pada Berbagai Spesies Lactobacillus	9
Tabel 4.	Kategori Diameter Zona Hambat	24
Tabel 5.	Kelompok Perlakuan Uji Pertumbuhan <i>L. bulgaricus</i>	30
Tabel 6.	Kelompok Perlakuan Aktivitas Antibakteri	33
Tabel 7.	Kelompok perlakuan uji KHM	34
Tabel 8.	Hasil Pemeriksaan Organoleptik VCO	36
Tabel 9.	Hasil Penetapan Bobot Jenis	37
Tabel 10.	Hasil Penetapan Kadar Air.....	37
Tabel 11.	Komponen asam lemak VCO berdasarkan GC-MS.....	38
Tabel 12.	Hasil uji viabilitas bakteri <i>L. bulgaricus</i>	44
Tabel 13.	Hasil Uji Antibakteri metabolit <i>L. bulgaricus</i>	48
Tabel 14.	KHM metabolit bakteri <i>L. bulgaricus</i>	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Struktur asam laurat.....	10
Gambar 2.	Struktur asam oleat	10
Gambar 3.	Skema kerja GC.....	12
Gambar 4.	Skema kerja spektrofotometri massa.....	14
Gambar 5.	<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	15
Gambar 6.	Bakteri <i>Escherichia coli</i> dalam SEM.....	16
Gambar 7.	Struktur asam laktat	19
Gambar 8.	Reaksi hidrolisis minyak menjadi asam lemak	38
Gambar 9.	Kromatogram VCO pada GC.....	38
Gambar 10.	Spektrum massa asam laurat	41
Gambar 11.	Pola fragmentasi asam laurat	41
Gambar 12.	Spektrum masa asam oleat	42
Gambar 13.	Pola fragmentasi asam oleat	43
Gambar 14.	Diagram perbedaan zona hambat metabolit <i>L. bulgaricus</i>	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Skema Kerja Umum.....	63
Lampiran 2.	Pemeriksaan fisik dan analisa kandungan VCO	64
Lampiran 3.	Uji Pertumbuhan Bakteri.....	64
Lampiran 4.	Uji Aktivitas Antibakteri.....	65
Lampiran 5.	Uji KHM	66
Lampiran 6.	Perhitungan Larutan	67
Lampiran 7.	Hasil Pemeriksaan Fisik VCO	69
Lampiran 8.	Sertifikat Uji Pemeriksaan Indeks Bias VCO	70
Lampiran 9.	Hasil Pemeriksaan Kadar Air	71
Lampiran 10.	Hasil Pemeriksaan Bobot Jenis	72
Lampiran 11.	Hasil Analisis Kandungan Asam Lemak dalam VCO dengan Kromatografi Gas (GC)	73
Lampiran 12.	Hasil Analisis Asam Lemak VCO dengan Spektrometri Massa (MS)	74
Lampiran 13.	Pola Fragmentasi Asam Lemak VCO Hasil Pengujian Dengan GC-MS	76
Lampiran 14.	Sertifikat Pengujian Kandungan Asam Lemak VCO Dengan GCMS	81
Lampiran 15.	Sertifikat Media (MRSA dan MRSB) Bakteri <i>L. bulgaricus</i>	82
Lampiran 16.	Sertifikat Media (NA dan NB) bakteri <i>E. coli</i>	84
Lampiran 17.	Sertifikat bakteri <i>E. coli</i>	87
Lampiran 18.	Surat bakteri <i>L. bulgaricus</i>	88
Lampiran 19.	Hasil Uji Viabilitas Bakteri <i>L. bulgaricus</i>	89
Lampiran 20.	Hasil Uji Statistika Uji Viabilitas Bakteri Probiotik <i>L. bulgaricus</i>	93
Lampiran 21.	Hasil Uji Antibakteri Metabolit Bakteri <i>L. bulgaricus</i> yang Ditambah dan Tidak Ditambahkan VCO Terhadap Bakteri <i>E. coli</i>	94
Lampiran 22.	Hasil Uji Statistika Uji Antibakteri Metabolit Bakteri <i>L. bulgaricus</i> yang Ditambah dan Tidak Ditambah VCO Terhadap Bakteri <i>E. coli</i>	95

Lampiran 22. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari Metabolit <i>L. bulgaricus</i>	98
Lampiran 23. KHM metabolit <i>L. bulgaricus</i>	99
Lampiran 24. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari Metabolit <i>L. bulgaricus</i>	99

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Di Indonesia, berkembang pesat berbagai jenis produk pangan yang diklaim dapat memiliki manfaat dalam mempertahankan dan juga meningkatkan kesehatan yang lazim dikenal sebagai pangan fungsional. Pangan fungsional merupakan pangan olahan yang mengandung satu atau lebih komponen fungsional yang berdasarkan kajian ilmiah mempunyai fungsi fisiologis tertentu dan terbukti tidak membahayakan dan bermanfaat bagi kesehatan (BPOM, 2005).

Virgin Coconut Oil (VCO) memiliki kandungan MCFA (*Medium Chain Fatty Acids*), Salah satunya asam laurat yang merupakan komponen terbesar dari VCO dan dapat dijadikan sebagai antibakteri, antivirus dan antijamur. Asam laurat yang terkandung didalam VCO dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus species*, *Escherichia coli* dan bakteri probiotik *Lactobacillus sp.* dengan zona hambat berturut turut 7.50 mm, 7.00 mm, 1.50 mm, 8.00 mm pada konsentrasi 30% (Abbas *et al.*, 2017).

Selain asam laurat, didalam VCO terdapat asam lemak tak jenuh yakni asam oleat yang merupakan komponen pangan fungsional (BPOM, 2005). Penelitian Partanen *et al* (2001), menyatakan bahwa media MRS yang dikombinasi dengan senyawa sintesis dari asam oleat dapat meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus delbrueckii lactis LKT*. Nilai OD (*Optical Density*) tertinggi yang dihasilkan adalah 0,8 dengan konsentrasi 0,1 mM. Sebaliknya, kombinasi asam laurat dan media MRS (deMann Rogosa Sharpe) menurunkan pertumbuhan *L. delbrueckii subsp. lactis LKT* yang ditandai dengan penurunan nilai OD (*Optical Density*). Beberapa minyak yang mengandung asam oleat seperti *olive oil*, *linseed oil*,

turnip rape oil juga dapat meningkatkan pertumbuhan dari *L. delbrueckii subsp. lactis LKT* dengan konsentrasi tertinggi 1%.

Probiotik merupakan salah satu komponen pangan fungsional (BPOM, 2005). Mikroorganisme yang dapat bertahan dan berkembang di saluran usus, dan secara langsung atau tidak langsung dapat mengambil manfaat dari inangnya dari hasil metabolitnya disebut sebagai probiotik. Probiotik dapat mengubah kondisi usus dan komponen yang terdapat didalam usus sehingga yang mengkonsumsinya menjadi sehat (Kompiang, 2009).

Menurut Trisna (2012), Contoh bakteri probiotik ialah Bakteri Asam Laktat (BAL). *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (*L. bulgaricus*) merupakan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang sering digunakan untuk makanan sehari-hari seperti yogurt dan fermentasi susu (Conway *et al.*, 1987).

Beberapa metabolit aktif yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yaitu asam laktat, etanol, hidroperoksida dan bakteriosin. Metabolit yang dihasilkan oleh bakteri tersebut merupakan agen yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Lawalata dkk., 2010). Metabolit *L. bulgaricus* dapat menghambat bakteri patogen seperti *E. coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat masing masing 2,4 cm dan 1.95 cm (Fang *et al.*, 1996).

Penelitian yang dilakukan oleh Syukur dkk. (2018), dari 11 koloni bakteri asam laktat yang diisolasi dari 7 jenis VCO di Padang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*). Sebanyak 11 koloni bakteri asam laktat tersebut merupakan bakteri genus *Lactobacillus* diantaranya *Lactobacillus plantarum* dan

Lactobacillus sakei. Hal ini menunjukkan bahwa beberapa spesies *Lactobacillus* masih dapat menghambat bakteri patogen meski hidup di lingkungan VCO.

Viabilitas *L. bulgaricus* pada VCO yang disimpan pada suhu ruang selama 24 hari terus mengalami penurunan. Jumlah sel tertinggi dicapai pada penyimpanan hari ke 0 dengan jumlah sel mencapai $1,65 \times 10^{12}$ dan jumlah sel terendah pada hari ke 24 dengan jumlah bakteri $5,33 \times 10^1$. Penurunan jumlah ini dikarenakan selama penyimpanan terjadi kematian pada bakteri *L. bulgaricus* (Sarkono dan Ulfa, 2010).

Virgin coconut oil bersifat antibakteri karena kandungan asam lemak didalamnya, minyak ini dapat menghambat bakteri probiotik *Lactobacillus sp.* Karena kandungan asam laurat didalamnya. selain asam laurat, VCO juga memiliki molekul senyawa asam oleat yang dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis LKT*. Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh VCO terhadap aktivitas pertumbuhan bakteri probiotik *L. bulgaricus* dengan menghitung koloni menggunakan *total plate count*. Selain itu, perlu juga dilakukan penelitian tentang KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) metabolit *L. bulgaricus* terhadap bakteri patogen (*E. coli*) menggunakan metode dilusi cair, serta pengujian kandungan asam lemak VCO menggunakan GCMS dan karakterisasi VCO.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana karakterisasi dari *virgin coconut oil*?
2. Bagaimana analisis komposisi asam lemak dari *virgin coconut oil*?

3. Bagaimana jumlah koloni *L. bulgaricus* sebelum dan sesudah ditambah dengan VCO (*virgin coconut oil*)?
4. Bagaimana aktivitas antibakteri dari metabolit *L. bulgaricus* sebelum dan sesudah ditambah VCO terhadap bakteri *E. coli*?
5. Berapa nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dari metabolit *L. bulgaricus* sebelum dan sesudah ditambah VCO terhadap bakteri *E. coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan karakterisasi dari *virgin coconut oil*.
2. Menentukan komposisi asam lemak dari *virgin coconut oil* menggunakan GCMS.
3. Menentukan jumlah *L. bulgaricus* sebelum dan sesudah ditambah dengan VCO (*virgin coconut oil*) menggunakan metode *total plate count*.
4. Menentukan aktivitas antibakteri dari metabolit *L. bulgaricus* sebelum dan sesudah ditambah dengan VCO (*virgin coconut oil*) terhadap bakteri *E. coli* dengan metode cakram kertas.
5. Menentukan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dari metabolit *L. bulgaricus* sebelum dan sesudah ditambah dengan VCO (*virgin coconut oil*) terhadap bakteri *E. coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh *virgin coconut oil* terhadap pertumbuhan *L. bulgaricus* dan sifat antibakteri *L. bulgaricus* terhadap *E. coli*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 VCO (*Virgin Coconut Oil*)

Minyak kelapa murni atau yang sering disebut dengan *virgin coconut oil* adalah minyak yang dihasilkan dari pengolahan daging buah kelapa tanpa melakukan pemanasan sehingga menghasilkan minyak yang jernih, tidak tengik, terbebas dari radikal bebas akibat pemanasan yang dilakukan pada pembuatan minyak kelapa biasa (Syah,2005).

VCO merupakan penyempurnaan proses produksi minyak kelapa, sehingga produk yang dihasilkan memiliki kadar air rendah, kadar asam lemak bebas rendah, warna bening, bau harum, dan umur simpan lebih dari 12 bulan. Keunggulan VCO dibandingkan dengan minyak kelapa biasa adalah biaya yang dibutuhkan tidak mahal karena bahan pembuat yang digunakan mudah didapat dan relatif murah, proses yang mudah, energy yang digunakan sedikit karena tidak memakai bahan bakar sehingga kandungan kimia dan nutrisinya tetap terjaga terutama asam lemak dalam minyak (Cristianti dan Adi, 2008).

Beberapa Bakteri Asam Laktat (BAL) yang pernah diisolasi dari VCO yakni *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus thermobacterium*. Penelitian ini mengisolasi bakteri dari fermentasi santan kelapa yang merupakan bagian atau bahan dari metode pembuatan VCO (*Virgin Coconut Oil*) (Suryani dkk., 2014). Selain itu, *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus sakei* juga pernah diisolasi dari VCO (Syukur dkk., 2018).

2.1.1 Sifat Fisika dan Kimia VCO

Asam lemak rantai sedang (MCFA) adalah asam lemak yang mengandung 6 sampai 12 karbon yang biasa ditemukan dalam minyak kelapa dan susu hewan (Schonfeld *et al.*, 2016). Macam-macam keuntungan dari asam lemak jenuh rantau sedang (MCFA) yakni Mudah dicerna langsung oleh hati dan diubah menjadi energi, mudah terbakar, tidak dapat mensintesis kolesterol, tidak disimpan dalam tubuh sebagai lemak dan tidak mengalami reaksi oksidasi, tahan terhadap cahaya, panas, oksigen dan proses degradasi, karena struktur kimianya tidak mengandung ikatan rangkap. (Alamsyah, 2005). Dalam pemanfaatannya, minyak kelapa murni diminum secara langsung ataupun dicampur dengan makanan (Gani, 2005).

Berikut merupakan sifat fisik dan kimia *virgin coconut oil* pada umumnya:

Tabel 1. Sifat Fisik *virgin coconut oil* (Darmoyuwono, 2006).

No.	Karakteristik	Keterangan
1	Aroma	Ada sedikit berbau asam ditambah bau caramel
2	Kelarutan	Tidak larut dalam air, tetapi larut dalam alcohol (1:1)
3	Berat jenis	0,883 pada suhu 20°C
4	pH	Tidak terukur, karena tidak larut dalam air. Namun karena termasuk dalam senyawa asam maka dipastikan memiliki ph di bawah 7.
5	Persentase penguapan	Tidak menguap pada suhu 21°C (0%)
6	Titik cair	20-25°C
7	Titik didih	225°C
8	Kerapatan udara (Udara = 1)	6,91
9	Tekanan uap (mmHg)	1 pada suhu 121°C
10	Kecepatan penguapan (Asam Butirat = 1)	Tidak diketahui
11	Indeks bias pada suhu 40°C	1,448-1,450

2.1.2 Kandungan asam lemak

Penyusun dari asam lemak yakni atom karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O). Susunan dari asam lemak ini berupa rantai karbon dengan gugus

karboksil (-COOH) pada salah satu ujung rantainya. Asam lemak dihasilkan dari hidrolisis lemak. Asam lemak ini dibagi menjadi tiga golongan yakni berdasarkan bentuk isomer geometrisnya, tingkat kejenuhan, panjang rantai asam lemak (Darmoyuwono, 2006).

Minyak sayur (kedelai, jagung, biji bunga matahari) memiliki kandungan asam lemak yang terdiri atas 18 atau lebih atom karbon dan sebagian besar adalah golongan asam lemak tidak jenuh. Berbeda dengan VCO yang 92%-nya adalah asam lemak golongan *Medium Chain Fatty Acids* (MCFA) yang terdiri atas 12 atom karbon rantai jenuh (tidak memiliki ikatan ganda) (Gani, 2005).

VCO sendiri sebagian besar terdiri atas asam lemak jenuh (92% dari kandungan total), 6% asam lemak tak jenuh tunggal, dan 2% asam lemak tak jenuh ganda. Dengan kandungan asam lemak tak jenuh 2% menjadikan minyak ini sudah jenuh, maka minyak ini sangat stabil dan tahan oksidasi sehingga sulit untuk tengik (*rancid*). Karena sudah jenuh, maka VCO ini tidak perlu dihidrogenasi. Dengan demikian, VCO tidak mengandung sama sekali *trans fatty acids* atau asam lemak trans dimana asam lemak ini berbahaya bagi tubuh. Selain itu diketahui pula bahwa minyak VCO tidak akan melepaskan radikal bebas (*free radicals*) yang dapat membahayakan tubuh karena minyak ini sulit untuk teroksidasi (Wibowo, 2005).

Secara umum, kandungan asam lemak yang terdapat pada virgin coconut oil ditunjukkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan asam lemak *Virgin coconut oil* (APCC, 2003) (Rukmini et al., 2011).

Nama umum	Komposisi	APCC standard untuk VCO (%)	Fresh VCO (%)
Caproic acid	C 6:0	0.4 - 0.6	
Caprylic acid	C 8:0	5.0 - 10.0	7.13
Capric acid	C 10:0	4.50 - 8.00	6.49
Lauric acid	C 12:0	43.00 - 53.00	50.49
Myristic acid	C 14:0	16.00 - 21.00	17.07
Palmitic acid	C 16:0	7.50 - 10.00	8.53
Palmitoleic acid	C 16:1	-	
Stearic acid	C 18:0	2.00 - 4.00	2.50
Oleic acid	C 18:1	5.00 - 10.00	6.27
Linoleic acid	C 18:2	1.00 - 2.50	1.50
Linolenic acid	C 18:3	<0.5	
	C 24:1	-	

*ND (Non-detecable) : Tidak dapat terdeteksi

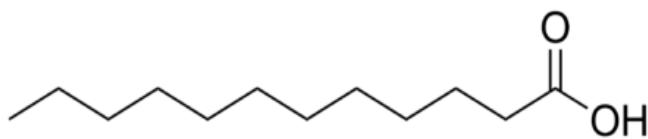
Berdasarkan data tabel 2 diatas, VCO mempunyai kandungan asam laurat (*Lauric acid*) 50,49%. Di dalam tubuh manusia, asam laurat ini diubah menjadi monolaurin. Asam lemak rantai sedang dan turunannya seperti asam laurat dan monolaurin memiliki kemampuan menghancurkan bakteri yang memiliki selubung lipid dengan mengdisintegrasikan membran lipidnya. Kandungan asam lemak pada VCO memberikan daya anti-bakterial, anti-viral, dan anti-fungal. *Virgin coconut oil* (VCO) juga aman dikonsumsi karena sifatnya yang natural, sehingga tidak memiliki efek samping yang signifikan (Bawalan dan Chapman, 2006). Masing-masing senyawa asam lemak memiliki MIC pada tiap bakteri probiotik seperti *L. curvatus*, *L. sake* dan *L. piscicola*. Hal ini dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. MIC Asam Lemak pada Berbagai Spesies *Lactobacillus* (Ouattara et al., 1997).

No	Nama Umum	MIC		
		<i>L. curvatus</i>	<i>L. sake</i>	<i>C. piscicola</i>
1	Asam Laurat	5%	5%	2,5%
2	Asam miristat	NI	NI	NI
3	Asam palmitat	NI	NI	NI
4	Asam palmitoleat	3,5%	4,5%	4,5%
5	Asam stearat	NI	NI	NI
6	Asam oleat	NI	NI	NI
7	Asam linoleate	6%	6,5%	6,5%
8	Asam linoleniat	5%	5%	6,5%

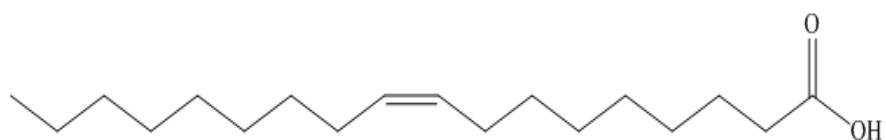
*NI = No inhibition. Tidak ada pertumbuhan bakteri pada konsentrasi diatas 25%

Asam laurat dirubah menjadi suatu bentuk senyawa monogliserida, yakni monolaurin didalam tubuh manusia. Monolaurin adalah senyawa yang bersifat antivirus, antijamur, dan antibakteri. Mekanisme monolaurin sendiri adalah dengan merusak membran lipid diantaranya virus HIV, influenza dan beberapa virus lainnya. Beberapa jenis bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *H. pylori* dilaporkan dapat dimatikan oleh senyawa monolaurin dari asam laurat ini (Rindengan, 2006).



Gambar 1. Struktur asam laurat

Asam oleat (asam cis-9-oktadekanoat) adalah asam lemak omega 9 yang memiliki rumus C₁₈H₃₄O₂ (CH₃(CH₂)₇CH=CH(CH₂)₇COOH) (Gambar 2). Asam oleat paling banyak didistribusikan dari semua asam lemak alami yang ada di hampir semua lipid. Asam ini paling banyak diperoleh dari sayuran. Senyawa ini dianggap sebagai salah satu sumber lemak sehat dalam makanan dan biasa digunakan sebagai pengganti sumber lemak hewani yang tinggi lemak jenuhnya (Choi *et al.*, 2010).



Gambar 2. Struktur asam oleat

Asam lemak tak jenuh rantai panjang atau *long-chain unsaturated fatty acid*, seperti asam linoleat, menunjukkan aktivitas antibakteri dan merupakan bahan utama aditif antimikroba dan beberapa tumbuhan antibakteri. Ditemukan bahwa asam linoleat menghambat reduktase protein pembawa enoyl-asil bakteri (FabI) yang merupakan komponen penting dari sintesis asam lemak bakteri. Asam

lemak tak jenuh lainnya seperti asam palmitoleat, asam oleat, asam linolenat, menunjukkan penghambatan terhadap FabI. Asam lemak tersebut menunjukkan bahwa aksi antibakteri asam lemak tak jenuh dimediasi oleh penghambatan sintesis asam lemak (Zheng *et al.*, 2005).

Asam lemak jenuh rantai pendek dan asam lemak tak jenuh ganda memiliki efek antimikroba melalui mekanisme yang berbeda. Asam lemak rantai pendek umumnya bersifat antibakteri dalam konsentrasi tinggi dengan cara bergantung pada pH dan memiliki efek merugikan pada metabolisme energi berbagai mikroorganisme. Di sisi lain, asam lemak tak jenuh ganda hanya memengaruhi jenis bakteri tertentu dan bersifat toksik pada konsentrasi yang jauh lebih rendah dengan cara yang lebih tidak bergantung pada pH (Knapp & Melly, 1986).

Asam lemak menghambat pertumbuhan dan konsumsi oksigen pada media nutrisi bakteri patogen *B. subtilis* dengan menghambat pengangkutan zat seperti asam amino dan asam keto melalui membran sel (Freese *et al*, 1973).

2.2 Metode pembuatan VCO

Proses pembuatan VCO menggunakan daging buah kelapa segar dan prosesnya dilakukan pada suhu yang relatif rendah. Beberapa cara yang banyak digunakan dalam metode pembuatan VCO adalah metode pemancingan minyak , metode pemanasan bertahap, dan metode fermentasi. Metode pemancingan minyak dilakukan dengan menambahkan minyak pancing (*virgin coconut oil*) ke dalam krim santan dengan perbandingan tertentu (Sutarmi dkk., 2005).

2.2.1 Metode Pemancingan

Metode pemancingan minyak dilakukan dengan menambahkan VCO ke dalam santan dengan perbandingan tertentu (Pontoh *et al.*, 2008). Teknologi pembuatan virgin coconut oil metode pemancingan memanfaatkan reaksi yang mudah. Bola-bola protein menyatukan minyak air dan minyak dengan mengelilingi molekul dari minyak. Dalam metode sederhana, jika santan dipanaskan maka ikatan bola protein yang melindungi molekul minyak akan terputus sehingga molekul air dan minyak akan terpisah (Alamsyah, 2005).

Dalam metode pemancingan, molekul minyak dalam santan ditarik oleh minyak pancing sampai akhirnya bersatu. Tarikan itu membuat air dan protein yang sebelumnya terikat dengan molekul santan menjadi putus. Teknik pemancingan adalah teknik mengubah bentuk emulsi air-minyak menjadi minyak-minyak (Alamsyah, 2005).

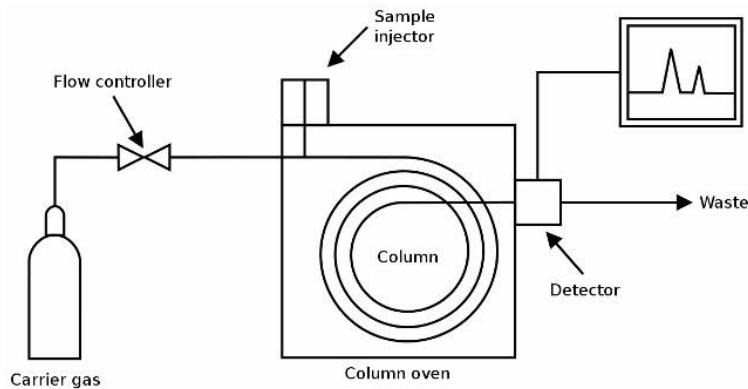
2.3 Analisis Komponen VCO dengan GCMS

2.3.1 Kromatografi Gas

Kromatografi gas adalah metode pemisahan yang digunakan untuk mendekripsi senyawa-senyawa volatile didalam sampel. Kegunaan umum dari kromatografi gas ini sendiri adalah untuk melakukan pemisahan yang dinamis dan mengidentifikasi semua jenis dari senyawa organic volatile dan dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa didalam suatu sampel (Handayani, 2006).

Mekanisme kerja dari kromatografi gas ialah gas didalam silinder baja bertekanan tinggi akan dialirkan melalui suatu kolom yang berisi fase diam, cuplikan berupa suatu campuran yang akan dipisahkan, biasanya dalam bentuk

larutan, disuntikkan kedalam aliran gas tersebut kemudian cuplikan dibawa oleh gas pembawa kedalam kolom dan di dalam kolom akan terjadi proses pemisahan. Komponen-komponen senyawa yang telah terpisahkan satu persatu meninggalkan kolom dan kemudian akan terdeteksi oleh detector (Handayani, 2006).



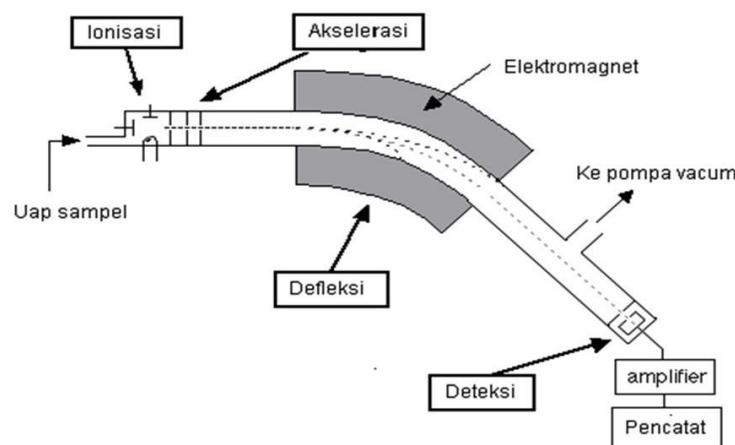
Gambar 3. Skema kerja GC

2.3.2 Spektrofotometri Massa

Spektrofotometri massa adalah suatu instrument yang dapat menyeleksi molekul-molekul gas bermuatan berdasarkan massa atau beratnya (Khopkar, 1990). Kegunaan umum dari spektrofotometri massa selain digunakan untuk penentuan struktur molekul, juga dapat dipakai untuk penentuan analisis kuantitatif. Senyawa-senyawa yang terpisah dari analisis GC (*gas chromatography*) akan keluar dari kolom dan mengalir kedalam MS (*mass spectrometry*) yang kemudian senyawa-senyawa tersebut akan teridentifikasi berdasarkan bobot melekulnya (Ayu dan Wahyu, 2018).

Prinsip kerja dari spektroskopi massa adalah pengionan senyawa-senyawa kimia untuk menghasilkan molekul yang bermuatan atau fragmen molekul dan mengukur rasio massa/muatan. Molekul yang ditembakkan elektron berenergi tinggi akan terionisasi dan akan menghasilkan ion dengan muatan positif, lalu ion positif tersebut diarahkan dengan kecepatan tinggi ke medan magnet. Medan

magnet atau medan listrik akan membelokkan ion tersebut agar dapat menentukan bobot molekulnya dan bobot molekul semua fragmen yang dihasilkan (David, 2005). Setelah itu, detektor akan menghitung muatan yang terinduksi atau arus yang dihasilkan ketika ion dilewatkan atau mengenai permukaan, scanning massa dan menghitung ion sebagai mass to charge ratio (m/z). Terdapat 4 (empat) proses dalam spektrometri massa yakni ionisasi, percepatan, pembelokan dan pendektsian.



Gambar 4. Skema kerja spektrofotometri massa.

2.4 Bakteri Uji

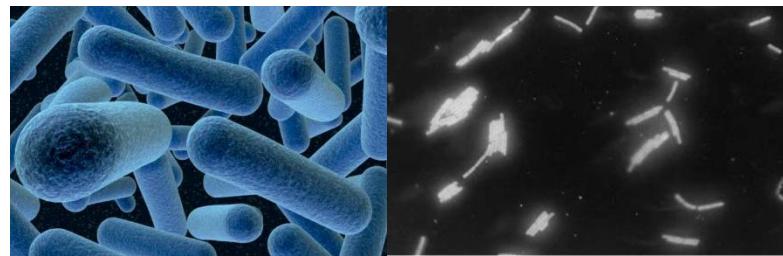
2.4.1 *Lactobacillus bulgaricus*

2.4.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi ilmiah *Lactobacillus bulgaricus* menurut (Garrity *et al.*, 2004) adalah:

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Lactobacillales
Family	: Lactobacillaceae

Genus : Lactobacillus
 Species : *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*



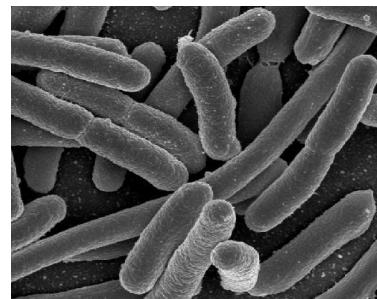
Gambar 5. (a)(b) *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*

2.4.1.2 Morfologi

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus adalah bakteri aerobic-anaerobic homofermentatif. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif, umumnya 0,5-0,8 inci, berbentuk tunggal atau membentuk rantai pendek. Mengandung granulasi internal yang dibuktikan dengan *metilen blue* dan termasuk kedalam non-motil, berkoloni dan tidak berpigmen, berdiameter 1-3 mm. Pertumbuhan terjadi pada 45°C dan sering terjadi pada 50-52°C dengan suhu optimal 40-44°C, tidak ada pertumbuhan pada suhu 15°C. Genus lactobacillus memproduksi asam D-laktat dari heksosa (Leichmann, 1896). *Lactobacillus bulgaricus* merupakan obligat homofermentatif yang mampu memfermentasi heksosa hampir secara eksklusif ke asam laktat dengan jalur Embden–Meyerhof sementara pentosa dan glukonat tidak difermentasi karena kekurangan phosphoketolase (Hammes *et al.*, 1995).

2.4.2 *Escherichia Coli*

2.4.2.1 Klasifikasi



Gambar 6. Bakteri *Escherichia coli* dalam SEM

Klasifikasi ilmiah *E. coli* menurut (Dwidjoseputro, 1978) adalah sebagai berikut:

- Kingdom : Bacteria
- Divisi : Protophyta
- Class : Schilomycetes
- Order : Eubacteriales
- Family : Enterobacteriaceae
- Genus : Escherichia
- Species : *Escherichia coli*

2.4.2.2 Morfologi

E. coli merupakan bakteri berbentuk batang (basil), ada yang individu (monobasil), saling berpasangan (diplobasil) atau berkoloni membentuk rantai pendek (streptobasil), tidak berspora, berdiameter $\pm 1,1 - 1,5 \times 2,0 - 6,0 \mu\text{m}$, dapat hidup dengan media sederhana dan memfermentasikan laktosa menjadi asam dan gas, kandungan G+C DNA pada bakteri ini 50 – 51 mol % (Pelczar and Chan, 1988). Pergerakan bakteri motil, tidak motil, dan memiliki flagella pada seluruh perukaan sel. *E. coli* bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif dan

merupakan mikroba normal usus yang seringkali menyebabkan infeksi (Dwidjoseputro, 1978).

2.5 Mekanisme Antibakteri

Antibakteri adalah zat atau juga obat yang digunakan untuk membasmi jasad renik yang diperoleh dari sintesis atau yang berasal dari senyawa non organik. antibakteri yang hanya dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme disebut dengan bakteriostatik sedangkan yang membunuh mikroorganisme seperti bakteri maupun jamur disebut dengan bakterisid. Beberapa macam mekanisme kerja antimikroba menurut Pelczar *et al* (1988) adalah, dapat menghambat sintesis dinding sel, mengganggu keutuhan membran sel mikroba, menghambat sintesis protein sel mikroba, mengganggu metabolisme sel mikroba, penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.

Menghambat sintesis dinding sel bakteri adalah dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah terbentuk sehingga dinding sel menjadi rusak. Salah satu contoh antibakteri yang dapat menghambat sintesis dinding sel adalah aminoglikosida. Merusak komponen membran sel mikroba, membran sitoplasma memiliki peran mempertahankan komponen lain. Kerusakan ini menyebabkan pertumbuhan mikroba menjadi terhambat dan berujung kematian. Contoh antibakteri yang dapat merusak komponen membran sel bakteri antara lain polimiksin dan golongan polien.

Menghambat sintesis protein sel mikroba, hidupnya suatu sel bergantung pada molekul protein dan asam nukleat. Mekanisme dari antibakteri ini yaitu mendenaturasikan protein dan asam nukleat sehingga sel menjadi rusak. Contoh

dari antibakteri golongan ini yakni kloramfenikol, golongan tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, dan pristinamisin.

Mengganggu metabolisme sel mikroba, enzim yang ada di dalam sel merupakan sasaran utama dalam mekanisme penghambatan. Penghambatan ini menyebabkan metabolism sel terganggu dan sel hancur. Contoh antibakteri pada golongan ini yakni sulfonamide, trimetroprim, dan asam p-aminosalisilat.

Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. DNA, RNA, dan protein merupakan komponen penting didalam sel. Peranan penting itulah yang dapat mengganggu pembentukan pada fungsi zat-zat tersebut. Terganggunya pembentukan tersebut dapat menghambat sintesis asam nukleat. Contoh antibakteri golongan ini yaitu rifampisin dan golongan kuinolon.

2.6 Mekanisme Antibakteri Metabolit Probiotik

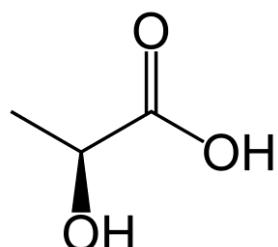
Ada banyak cara yang digunakan lactobacilli sebagai bakteri probiotik untuk menghasilkan efek probiotiknya. Yakni dengan cara, meningkatkan keasaman area di usus dengan memproduksi asam laktat, memproduksi berbagai zat antimikroba (bakteriosin, H_2O_2 , asam asetat), menempel pada lapisan usus, meningkatkan jumlah mucus dalam usus, bersaing dengan patogen untuk mendapatkan nutrisi, memodulasi/meningkatkan sistem kekebalan tubuh. (Fang *et al.*, 1996).

Salah satu yang berperan adalah zat antimikroba. Bakteri asam laktat memproduksi asam organik (kebanyakan asam laktat) yang dapat menurunkan pH media (Daeschel, 1989). Namun bakteri ini juga memproduksi beberapa zat antimikroba diantaranya hidrogen peroksida, CO_2 , *diacetyl*, *acetaldehyde*, reuterin and bakteriocin. (Klaenhammer, 1988, 1993; Stiles and Hastings, 1991; Piard and

Desmazeaud, 1991, 1992). *Lactobacillus bulgaricus* memproduksi produk utama berupa asam laktat dan *Secondary product* seperti *acetaldehyde*, *acetone*, *acetoin*, *diacetyl* dan bisa diproduksi dengan konsentrasi yang sangat rendah (Robinson, 2014). Selain itu menurut *Gunsalus and Umbreith* (1945) *Lactobacillus bulgaricus* juga memproduksi hidrogen peroksida.

Asam laktat adalah senyawa metabolit utama yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dan mekanisme kerjanya adalah menurunkan pH saluran usus menjadi asam sehingga bakteri *E. coli* tidak dapat tumbuh karena pH optimum pertumbuhan *E. coli* adalah 6-7. Sejumlah asam volatil seperti asam asetat, asam propionat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat menimbulkan efek antimikroba dalam kondisi redoks potensial yang rendah. Asam asetat dan asam propionat yang dihasilkan melalui fermentasi heterofermentatif juga akan berinteraksi dengan sel membran dan mengakibatkan turunnya kadar pH didalam sel dan denaturasi protein, sehingga sangat efektif sebagai antimikroba (Surono, 2004).

Sebagai zat antimikroba, asam laktat menurunkan kandungan protein yang dapat larut dalam sel mikroba dengan menembus dan mengganggu membran sel. Asam laktat bisa berpengaruh pada protein seluler mikroba baik dengan menghancurnya atau dengan menghambatnya. MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dari asam laktat terhadap *E. coli* yakni 0.5% (Wang *et al.*, 2015).



Gambar 7. Struktur asam laktat

Bakteriosin bekerja dengan cara destabilisasi permeabilitas membran sel yang sensitif. Beberapa penelitian dilakukan pada membran dan transpor aktif dan didasarkan pada topologi bakteriosin yang diprediksi dari urutan asam amino beberapa bakteriosin (Gallagher *et al.*, 1997; Hauge *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 1999), telah menunjukkan bahwa mekanisme utama kerja bakteriosin terdiri dari pembentukan kompleks porasi sementara atau saluran ionik di membran sitoplasma sel sensitif (Abee, 1995).

Hidrogen peroksida adalah zat pengoksidasi. Mekanisme kerjanya dalam menghambat bakteri patogen adalah dengan oksidasi berbagai makromolekul yang ada yang menyusun struktur dan fungsi mikroorganisme, seperti protein, lipid, karbohidrat dan asam nukleat (Mcdonnell *et al.*, 2007). Efek itu akan terakumulasi dan menyebabkan hilangnya struktur, fungsi, dan karena itu kelangsungan hidup mikroorganisme dan berbagai komponennya (seperti racun) akan rusak (Linley *et al.*, 2012). MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dari H_2O_2 dalam menghambat bakteri *E. coli* adalah 0.25% (Mazzola *et al.*, 2009).

2.7 Pengujian Daya Hidup (Viabilitas) Probiotik

2.7.1 Metode *Total Plate Count*

Total Plate Count (TPC) merupakan metode yang biasa digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme dalam bahan pangan. Metode hitung cawan merupakan metode yang sering digunakan dalam analisis, karena dapat dilihat langsung koloni bakterinya dengan mata tanpa mikroskop. Media agar digunakan pada metode ini (Feliatra, 1999). Perhitungan ini mencakup semua bakteri patogen dan nonpatogen dan sering digunakan untuk menentukan ke higienisan suatu makanan. *Total plate count* dapat dibuat dengan menggunakan *plate count*

agar. Media pertumbuhan mikrobiologis ini bukan medium selektif (Hanum *et al.*, 2018).

Metode hitung cawan memiliki beberapa kelebihan diantaranya yaitu kapasitas untuk menghitung jumlah bakteri jika terlalu banyak ataupun jika terlalu sedikit dapat menggunakan faktor pengenceran. Selain itu, metode hitung cawan ini hanya menghitung bakteri yang layak dihitung tidak termasuk bakteri mati ataupun puing-puing yang ada pada media pertumbuhan. Namun, metodi ini juga memiliki kekurangan yaitu perhitungan kumpulan sel bakteri dapat salah dihitung 16 sebagai koloni tunggal sehingga dilaporkan sebagai CFU/mL daripada sel/mL. Selain itu metode ini membutuhkan waktu yang lama karena hasil hitung cawan ini biasanya diperoleh setelah 1-3 hari (Hazan *et al.*, 2012)

2.8 Penentuan Sifat Antibakteri

2.8.1 Metode Difusi

2.8.1.1 Metode Difusi Sumur

Metode difusi sumur dilakukan dengan cara membuat lubang pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Lubang yang dibuat sesuai dengan tujuan penelitian, kemudian lubang dimasukkan larutan yang ingin dianalisa. Setelah itu dilakukan inkubasi, disekeliling lubang diamati ada atau tidaknya daerah hambatan. Kelebihan dari metode difusi sumur yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrient agar tetapi juga sampai ke bawah (Kusmayati dan Agustini, 2007).

2.8.1.2 Metode Difusi Kertas Cakram

Metode *disc diffusion (Test Kirby and Bauer)* digunakan untuk menentukan aktivitas agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditumbuhi mikroorganisme yang akan berdifusi. Bagian area jernih pada media menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan. Metode ini sangat mudah dilakukan karena tidak rumit dalam pengerjaannya dan efisien karena tidak membutuhkan alat dan bahan yang banyak sedangkan, kekurangannya tidak dapat diketahui secara tepat tingkat resistensi atau kepekaan bakteri terhadap antibakteri.

Kertas cakram 6 mm diresapi dengan senyawa antimikroba yang ditempatkan pada cawan petri berisi agar Mueller-Hinton (MH), air diserap dari agar ke cakram. Antimikroba mulai berdifusi kedalam agar. Laju difusi melalui agar tidak secepat laju ekstraksi antimikroba keluar dari cakram, oleh karena itu konsentrasi antimikroba paling tinggi adalah yang paling dekat ke cakram dan pengurangan konsentrasi logaritmik terjadi ketika jarak dari cakram meningkat (Jorgensen *et al.*, 2007). Laju difusi antimikroba melalui agar tergantung pada difusi dan sifat kelarutan obat dalam agar Mueller-Hinton dan berat senyawa yang terdapat dalam antimikroba. Molekul yang lebih besar akan berdifusi lebih lambat daripada senyawa dengan berat molekul lebih rendah (Bauer *et al.*, 1966).

2.8.2 Metode Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi dua, yakni dilusi padat dan dilusi cair. Pada dilusi padat, zat antimikroba dimasukkan pada media agar dengan variasi konsentrasi dan inoculum standar mikroorganisme uji ditambahkan pada ke permukaan media agar. Setelah diinkubasi selama beberapa waktu, pertumbuhan

bakteri dinilai dengan cara *bacteria colony counting* atau hitung koloni, dan didapat nilai MIC. Berbeda dengan dilusi padat, dilusi cair menggunakan media cair atau media broth. Variasi konsentrasi dimasukkan pada tiap media pertumbuhan yang di standarisasi oleh inokulum mikroorganisme uji. Metode ini bisa menggunakan *macrodilution* atau *microdilution* (menggunakan *microtitr plate* dengan cairan ≤ 50 ml) (Cotton *et al.*, 2018).

Cara mengevaluasi pertumbuhan bakteri pada metode dilusi cair ini dengan cara melihat peningkatan *optical density* (OD) dari cairan media, peningkatan OD akan sejalan dengan peningkatan kekeruhan pada suspensi, dan/atau menghitung colony forming units (diwakilkan dengan cfu mL⁻¹). MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dapat terlihat dengan melihat konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Cotton *et al.*, 2018).

2.9 KHM

Konsentrasi hambat minimum (KHM) merupakan ‘gold standard’ yang digunakan untuk menentukan kerentanan suatu organisme pada senyawa antimikroba dan karenanya digunakan untuk menilai kepekaan dari metode test kerentanan pada suatu organisme. Konsentrasi hambat minimum didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari obat yang masih bisa menghambat pertumbuhan organisme setelah semalaman diinkubasi (Andrew, 2001). Atau dengan kata lain, KHM adalah konsentrasi minimal senyawa antimikroba yang dapat membunuh bakteri sebesar 99% atau 99,99% pada media agar yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose setelah diinkubasi (Dzen *et al.*, 2003).

Menurut Davis & Stout (2009) kategori zona hambat dapat diketahui pada Tabel 3.

Tabel 4. Kategori Diameter Zona Hambat

Diameter	Kekuatan Daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat kuat

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium mikrobiologi farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Laboratorium Dasar Bersama Universitas Sriwijaya, Indralaya. Pengujian GC-MS dilakukan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia. Pengujian indeks bias di Laboratorium Terpadu Politeknik Sriwijaya. Waktu Penelitian dilaksanakan bulan Oktober 2020 sampai dengan bulan januari 2021.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah GC-MS (GCMS-QP2010 SE), kertas saring, *waterbath* (Memmert WNB14RING), tabung reaksi (Pyrex®), piknometer (Pyrex®), *refraktometter abbe* (2WAJ), botol timbangan (Pyrex®), oven (UNN Memmert Germany), magnetic stirrer (IKA® C-MAG HS 4), alat sentrifugasi (LC-45 Centrifuge), autoklaf (GEA®), jarum ose, pinset, lampu bunsen, kertas cakram, labu ukur (Pyrex®), *filter milipore 0,2 µm* (MERCK®), cawan petri (Pyrex®), batang pengaduk kaca, mikropipet (Dragonlab®), *microplate 12 well* (Biologix®).

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah *virgin coconut oil* (PT. CocoFarma), kapas, n-heksana (MERCK®), NaOH metanolik 0,5 M (MERCK®), CH₃COOH (MERCK®), aquadest (MyerWaterExpert), MRSB (MERCK®), MRSA (MERCK®), NA (MERCK®), NB (MERCK®), CaCO₃ (MERCK®), amoksisilin

(DANKOS), DMSO (MERCK®), H₂SO₄ (MERCK®), *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Escherichia coli*.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Preparasi Sampel

Sampel atau VCO (*Virgin Coconut Oil*) didapatkan dari PT. CocoFarma dengan metode pembuatan secara pemancingan.

3.3.2 Pemeriksaan Sifat Fisik VCO

3.3.2.1 Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan melihat warna dan mencium bau dari *virgin coconut oil*. Pemeriksaan warna dilakukan dengan cara diambil 2 mL *virgin coconut oil* lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Warna *virgin coconut oil* diamati secara langsung secara visual. Pemeriksaan bau dilakukan dengan meneteskan 5 tetes *virgin coconut oil* pada kertas saring. Pemeriksaan bau dilakukan dengan cara mencium bau *virgin coconut oil* diatas kertas saring. Pemeriksaan rasa dilakukan dengan mencicipi VCO.

3.3.2.2 Bobot Jenis

Virgin coconut oil disaring menggunakan kertas saring, didinginkan sampai 30°C, dan dimasukkan ke dalam piknometer hingga meluap dan usahakan agar tidak terbentuk udara pada piknometer dan tutup piknometer. Bersihkan minyak yang meluap dan menempel pada piknometer bagian luar. Selanjutnya rendam piknometer dalam *waterbath* yang bersuhu 30°C dan didiamkan selama 30 menit. Angkat piknometer dari *waterbath*, dibersihkan dan dikeringkan piknometer dengan hati-hati. Timbang piknometer beserta isinya. Bobot minyak merupakan selisih berat piknometer beserta isinya dikurangi berat piknometer

kosong. Bobot jenis minyak pada suhu 30°C dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Ketaren, 1986):

$$\text{Bobot jenis} = \frac{(berat piknometer+minyak)-berat pinmeter kosong}{volume minyak pada suhu 30^\circ\text{C}}. \dots \dots \dots (1)$$

3.3.2.3 Indeks Bias

Alat yang digunakan pada pengujian ini adalah *refraktometer abbe* yang dilengkapi dengan pengatur suhu. Bagian prisma atas dan bawah dibersihkan menggunakan alkohol sampai kering. VCO yang telah disiapkan diteteskan pada permukaan prisma bagian bawah lalu tutup kedua bagian prisma dan dikencangkan skrupnya. Pengujian dilakukan pada suhu 25°C untuk minyak. Pembacaan suhu dapat dilihat pada termometer. Alat refraktometer digerakkan maju mundur sampai terlihat bidang pandang yang terbagi atas dua bagian yaitu bidang gelap dan terang. Bidang batas yang terlihat biasanya tidak tajam dan tidak berwarna. Garis batas diatur dengan memutar alat pengatur sehingga tepat jatuh pada garis persilangan. Pada kedudukan ini dibaca indeks bias pada skala. Indeks bias pada suhu tertentu dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

3.3.2.4 Kadar Air

Sampel ditimbang ± 3 gram menggunakan botol timbangan. Sampel dipanaskan dengan oven pada suhu 105°C selama 3 jam. Didinginkan sampel didalam desikator selama 30 menit. Ditimbang botol timbang tersebut. Pemanasan dan penimbangan sampel diulangi sampai diperoleh berat konstan dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Wardani, 2011):

3.3.3 Analisa Kandungan Asam Lemak VCO dengan GC-MS

Sampel *Virgin coconut oil* sebanyak 50 mL, ditambah dengan NaOH metanolik 400 μ L divorteks dan panaskan pada suhu 50°C selama 10 menit. Setelah itu didinginkan, ditambahkan CH₃COOH 1 mL setelah itu ditambahkan 1 mL aquades lalu ditambahkan n-heksana sebanyak 1 mL kemudian divortex, didiamkan larutan selama beberapa menit dan akan terbentuk dua lapisan. Lapisan atas sebanyak 1 μ L yang akan digunakan untuk dianalisis pada alat kromatografi gas (Suryani *et al.*, 2020).

Analisis kandungan *virgin coconut oil* menggunakan GC-MS. GC-2010 dengan detektor ionisasi nyala (FID) pada kondisi operasi sebagai berikut: kolom Rtx-5MS dengan panjang 30 m, diameter 0.25 mm, ketebalan film 0.25 μ ; Suhu kolom dari 80°C sampai 300°C dengan jalannya suhu 5°C/menit; Suhu detektor 280°C; suhu injeksi 250°C; gas pembawa helium; laju aliran gas 3 mL/menit dan tekanan gas 12 kPa (Suryani *et al.*, 2020).

3.4 Uji Pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan digunakan untuk mencegah kontaminasi selama pengujian. Pada pengujian pertumbuhan dan aktivitas antibakteri probiotik ini alat dan bahan yang digunakan harus steril. Seluruh alat yang ingin digunakan dicuci dan dikeringkan. Peralatan gelas dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm, selama 15 menit. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar diatas api bunsen.

3.4.2 Pembuatan larutan

3.4.2.1 Larutan DMSO 10%

Pembuatan larutan DMSO 10% dilakukan dengan cara menambahkan 10 mL DMSO ditambah aquadest sampai volume 100 mL. Penggunaan DMSO karena DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa non polar-polar dan konsentrasi 10% digunakan karena pada konsentrasi ini tidak menghambat bakteri (Agustina dkk., 2015).

3.4.2.2 Larutan NaCl 0,9%

Pembuatan larutan NaCl 0,9% dilakukan dengan cara menambahkan 0,9 gram NaCl pada 100 mL Aquadest.

3.4.3 Pembuatan Media MRSA dan MRSB

MRSA (*deMann Rogosa Sharpe Agar*) dibuat dengan menimbang 52,2 gram MRSA dan ditambahkan aquadest hingga mencapai 1 L. Semua bahan dimasukan kedalam erlenmeyer dan dipanaskan diatas *hot plate* sambal diaduk hingga mendidih dan ditutup dengan kapas. Disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

MRSB (*deMann Rogosa Sharpe Broth*) dibuat dengan memimbang 62 gram MRSB dan ditambahkan 1 L aquadest. Dimasukan kedalam erlenmeyer dan dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih dan ditutup dengan kapas. Disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (lawalata dkk., 2020).

3.4.4 Peremajaan Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*

1 ose dimasukkan dalam 15 mL MRSB dan inkubasi 48 jam dengan suhu 37°C kemudian ditanam ke dalam media MRSA dengan metode *streak plate* yaitu

dengan cara digores pada medium MRSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Peremajaan bakteri dilakukan dengan teknik agar miring pada tabung. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* ditumbuhkan pada media MRSA. Larutan agar yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 5 mL. Tabung reaksi yang telah berisi media agar kemudian diletakkan pada kemiringan 30–45° serta dibiarkan menjadi dingin dan memadat menjadi agar (Fajrina dkk., 2017). Sebanyak satu mata jarum ose diambil dari biakan induk, kemudian masing-masing biakan bakteri uji diinokulasikan pada permukaan media agar miring yang telah memadat dengan cara menggores secara zig-zag dari bawah sampai atas lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C (Muhamni dkk., 2017).

3.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*

Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dibiakkan pada media MRS Broth. Suspensi bakteri dibuat menggunakan biakan bakteri yang telah diremajakan. Diambil sebanyak satu mata ose dan dibiakkan pada 10 mL MRS Broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

3.4.6 Perlakuan Uji

Tabel 5. Kelompok perlakuan uji pertumbuhan *L. bulgaricus*

No.	Perlakuan	Keterangan
1	Kontrol (+)	Probiotik
2	Kontrol (-)	Pelarut DMSO 1%
3	Larutan uji 1	VCO kons. 1 %
4	Larutan uji 2	VCO kons. 5 %
5	Larutan uji 3	VCO kons. 10 %
6	Larutan uji 4	VCO kons. 15 %

3.4.7 Penentuan Jumlah Bakteri *L. bulgaricus* Metode TPC

Pengujian aktivitas bakteri dilakukan dengan metode *total plate count* dengan media *MRS agar*. Pembuatan kelompok kontrol positif yaitu bakteri

probiotik *L. bulgaricus* dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan NaCl 0,9% ad 10 mL, pembuatan kontrol negatif dengan cara 1 mL probiotik ditambah dengan 1 mL DMSO 10% dan kemudian ad NaCl 10 mL, kelompok uji dibuat dengan cara 1 mL bakteri probiotik ditambah VCO berbagai konsentrasi yg telah dilarutkan pada DMSO dan ad NaCl 0,9% 10 mL. setelah itu, dilakukan pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-8} . Dilakukan plating pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-7} secara duplo pada cawan petri yang telah terisi MRSA. Sampel dan perlakuan kontrol diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dengan posisi terbalik. Perhitungan jumlah koloni bakteri probiotik diekpresikan dengan menggunakan satuan *colony forming units* (cfu) (Mokarram dkk., 2009).

3.5 Uji Aktivitas Antibakteri dan KHM Metabolit *L. bulgaricus*

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan digunakan untuk mencegah kontaminasi selama pengujian. Pada pengujian pertumbuhan dan aktivitas antibakteri probiotik ini alat dan bahan yang digunakan harus steril. Seluruh alat yang ingin digunakan dicuci dan dikeringkan. Peralatan gelas dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm, selama 15 menit. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar diatas api bunsen.

3.5.2 Pembuatan Larutan

3.5.2.1 *Mc Farland Standard*

Pembuatan McFarland 0,5 dilakukan dengan cara menambahkan 0,5 mL 1% b/v barium klorida dihidrat kedalam 99,5 mL 1% v/v asam sulfat.

3.5.2.2 Pembuatan Metabolit

Cawan petri bakteri yang memiliki jumlah paling baik pada ‘pengujian pertumbuhan probiotik’ dan kontrol positif (*L. bulgaricus* tanpa perlakuan) diinkubasi pada 10 mL *MRS broth* dengan suhu 37°C selama 24 jam kemudian disentrifuge 10.000 rpm selama 20 menit dan disaring dengan *filter milipore steril* hingga mendapatkan metabolit.

3.5.3 Pembuatan Media Bakteri

3.5.3.1 NA dan NB

Medium nutrient agar dibuat dengan cara sebanyak 23 gram NA dilarutkan dalam 1 liter aquadest kemudian dipanaskan sambal diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer sampai homogen. Media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan medium nutrient broth (NB) dilakukan dengan cara sebanyak 8 gram bubuk NB dilarutkan dalam 1 liter aquadest dalam Erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu medium disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit (Hudaya dkk., 2014).

3.5.4 Peremajaan Bakteri *Escherichia coli*

1 ose *Escherichia coli* diinkubasi di *Nutrient broth* selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian dipindahkan pada 5 mL *nutrient agar* dengan metode *streak plate* atau digores pada media agar miring pada cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.5.5 Pembuatan Suspensi Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* dibiakkan pada media *Nutrient broth*. Suspensi bakteri dibuat menggunakan biakan *E. coli* yang telah diremajakan dengan cara diambil bakteri sebanyak satu mata ose dan dibiakkan pada 5 mL NB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Larutan bakteri dibandingan dengan 0,5 *Mc Farland standard* yang sebanding dengan 10^8 CFU/mL.

3.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri *L. bulgaricus*

Tabel 6. Kelompok perlakuan aktivitas antibakteri

No.	Perlakuan	Keterangan
1	Lubang uji 1	Metabolit 100%
2	Lubang uji 2	Metabolit 75%
3	Lubang uji 3	Metabolit 25%

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan kertas cakram. Mikroba uji yang digunakan yaitu *L. bulgaricus*. Kertas cakram pertama, kedua dan ketiga berisi seri konsentrasi metabolit *L. bulgaricus* masing-masing adalah 100%, 75%, 25% (v/v). Pembuatan metabolit 100%, 75% dan 25% dilakukan dengan pengenceran bertingkat yakni 7,5 mL metabolit ad 10 mL aquadest untuk membuat konsentrasi 75% kemudian untuk membuat konsentrasi 25% dimasukkan metabolit 3,33 mL konsentrasi 75% kedalam labu ukur 10 mL ad aquadest 10 mL.

Larutan uji diteteskan ke kertas cakram sebanyak 0,2 μ L. Sebelum dimasukkan pada media berisi bakteri uji, kertas cakram yang berisi senyawa dibiarkan sampai kering, hal ini untuk mengetahui jika pelarut sudah menguap. Kultur bakteri uji diinkubasi didalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam lalu diamati zona bening disekeliling kertas cakram. Diameter zona hambat didapatkan dengan mengurangkan diameter keseluruhan dari zona bening dengan kertas cakram.

3.5.7 Uji KHM

3.5.7.1 Pembuatan Larutan

Kontrol positif menggunakan amoksisilin 0,003%. Pembuatan amoksisilin 0,003% dilakukan dengan cara melarutkan 0,003 gram amoksisilin murni ditambahkan aquadest sampai volume 100 mL.

Pembuatan larutan DMSO 10% dilakukan dengan cara menambahkan 10 mL DMSO ditambahkan aquadest sampai volume 100 mL. Penggunaan DMSO karena DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa non polar-polar dan konsentrasi 10% digunakan karena pada konsentrasi ini tidak menghambat bakteri (Agustina dkk., 2015).

3.5.7.2 Perlakuan Uji KHM

Tabel 7. Kelompok perlakuan uji KHM

No.	Perlakuan	Keterangan
1	Lubang 1	Metabolit 75%
2	Lubang 2	Metabolit 37.5%
3	Lubang 3	Metabolit 18.75%
4	Lubang 4	Metabolit 9.38%
5	Lubang 5	Metabolit 4.69%
6	Lubang 6	Metabolit 2.34%
7	Lubang 7	Metabolit 1.17%
8	Lubang 8	Metabolit 0.59%
9	Lubang 9	Metabolit 0.29%
10	Lubang 10	Metabolit 0.15%
11	Lubang 11	Kontrol (+) amoksisilin 0,003%
12	Lubang 12	Kontrol (-) NB tanpa perlakuan

Dimasukkan 3 mL media NB (*nutrient broth*) dalam tiap lubang *microplate 12 well*. Dimasukkan metabolit 100% kedalam lubang 1 sebanyak 4.5 mL ad 6 mL nutrient broth sehingga pada lubang 1 terdapat konsentrasi metabolit sebesar 75%. Kemudian, dilakukan pengenceran bertingkat yakni dengan cara 3 mL cairan dalam lubang 1 dimasukkan ke lubang 2 dan seterusnya hingga konsentrasi menjadi variasi konsentrasi seperti yang terlampir pada tabel 7. Setelah pengenceran bertingkat, ditambahkan 100 μ L biakan bakteri *Escherichia coli*.

Lubang 11 berisi amoksisilin yakni kontrol positif sedangkan lubang 12 berisi NB tanpa perlakuan yakni kontrol negatif. *Microplate 12 well* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat dilihat dari pengamatan kekeruhan dan bening pada *microplate well 12* yang sudah diinkubasi. Lubang yang telah hilang kekeruhannya ditentukan sebagai nilai KHM.

3.4 Analisis Data

Analisis data pengaruh VCO terhadap pertumbuhan *L. bulgaricus*, perbandingan aktivitas antibakteri dan perbandingan KHM metabolit sesudah dan sebelum ditambah VCO menggunakan program SPSS 16.0 for windows. Data yang dimasukkan berupa konsentrasi larutan uji, nilai KHM, serta aktivitas antibakteri. Pengujian normalitas distribusi data dilakukan dengan analisis Shapiro-Wilk, data terdistribusi normal jika $p>0,5$. Jika data terdistribusi normal pengujian dilanjutkan dengan one way ANOVA. Bila menunjukkan hasil yang signifikan yaitu ada perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan Post Hoc test untuk mengetahui perbedaan (*significancy* antar kelompok uji) dengan $\alpha > 0,05$. Data yang tidak terdistribusi normal akan dianalisis dengan Kruskal-Wallis test dilanjutkan dengan Mann Whitney test.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pemeriksaan Sifat Fisik VCO

4.1.1 Pengamatan Organoleptik

Hasil pengamatan organoleptik dari VCO dalam penelitian ini dilakukan dengan memeriksa warna dan bau dari VCO. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil Pemeriksaan Organoleptik VCO

Sampel	Jenis Pengamatan	Hasil
VCO	Warna Bau	Tak berwarna Bau spesifik kelapa, sedikit tengik

Bau yang dihasilkan oleh VCO berupa bau spesifik kelapa. Hasil ini sudah sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) yang menyatakan bahwa VCO mempunyai bau khas kelapa dan tidak *rancid*. Bau tengik pada minyak juga dapat terjadi secara alamiah karena terbentuknya rantai asam yang sangat pendek akibat penguraian minyak yang dapat mempengaruhi aroma minyak yang dihasilkan (Ketaren, 1986). Hasil pemeriksaan warna juga sudah sesuai dengan Standar Nasional Indonesia yang menyatakan bahwa warna dari VCO tak berwarna (BSN, 2008).

4.1.2 Penetapan Indeks Bias

Penetapan indeks bias VCO menggunakan refractometer abbe. Hasil pemeriksaan indeks bias VCO sebesar 1,4546 pada suhu 20°C. Nilai indeks bias VCO sudah memenuhi persyaratan mutu dan sesuai dengan penelitian Darmayuwono (2006), yang menyatakan bahwa indeks bias VCO pada suhu 40°C berkisar pada rentang 1,448-1,450.

4.1.3 Penetapan Bobot Jenis

Penetapan bobot jenis menggunakan piknometer dan selanjutnya dihitung menggunakan rumus bobot jenis yang dapat dilihat pada lampiran 10. Hasil pemeriksaan dan bobot tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil Penetapan Bobot Jenis

Sampel	Berat piknometer kosong (g)	Berat piknometer berisi VCO (g)	Volume VCO (mL)	Bobot jenis
VCO	15,60	24,20	9,40	0,9149
	15,60	24,21	9,45	0,9111
	15,60	24,21	9,40	0,9149

Rata-rata bobot jenis yang dihasilkan pada penetapan ini sebesar 0,9136 sudah memenuhi *codex standard* untuk VCO dengan kisaran rentang sebesar 0,908-0,921.

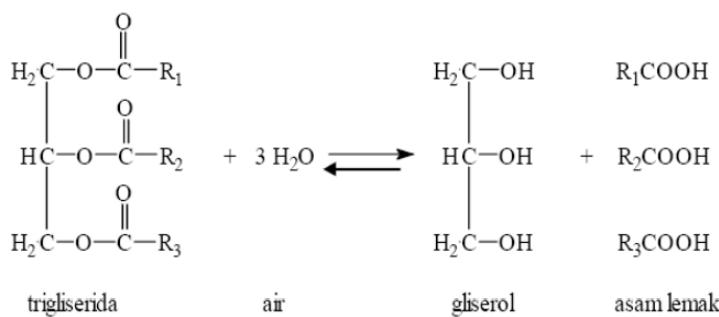
4.1.4 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air VCO dilakukan dengan membandingkan berat VCO sebelum dioven dan setelah dioven dengan menggunakan perhitungan pada lampiran 11. Hasil pemeriksaan kadar air VCO dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Penetapan Kadar Air

Sampel	Berat cawan kosong (g)	Berat cawan berisi VCO (sebelum dioven) (g)	Berat cawan berisi VCO (sesudah dioven) (g)	% Kadar air
VCO	39,07	42,07	42,07	0

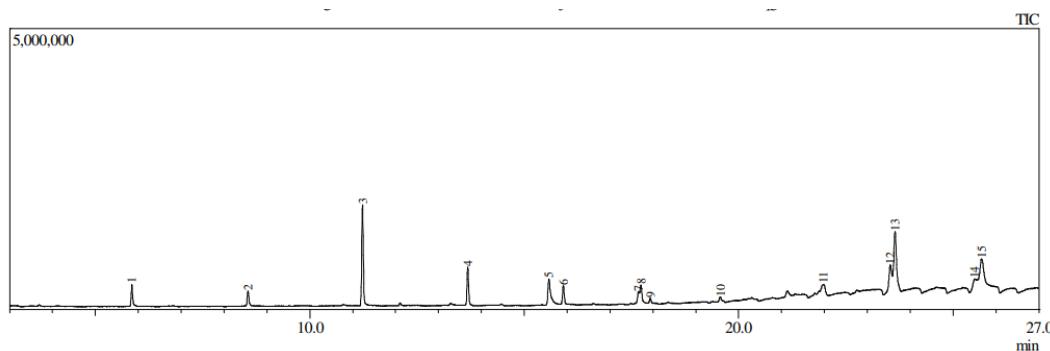
Hasil penetapan persen kadar air pada VCO sangat baik sebesar 0% dimana persen kadar air yang dibolehkan untuk VCO menurut Standar Nasional Indonesia, (2008), maksimal sebesar 0,5% dan memenuhi persyaratan *Asean Pacific Coconut Community* (APCC) dengan kisaran rentang 0,1-0,5%. Penetapan kadar air pada minyak penting dilihat karena kandungan air dalam minyak dapat mengakibatkan reaksi hidrolisis yang menyebabkan minyak berbau tengik karena minyak akan bereksi dan berubah menjadi senyawa asam karboksilat. (Budiman dkk., 2012).



Gambar 8. Reaksi hidrolisis minyak menjadi asam lemak

4.2 Analisa Kandungan Asam Lemak VCO dengan GC-MS

Analisa VCO dilakukan menggunakan GC-MS untuk mengetahui kandungan asam lemak didalamnya. Pada GC didapatkan kromatogram dan pada MS didapatkan spektrum. Hasil Kromatogram VCO terlihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Kromatogram VCO pada GC

Pemeriksaan pada GC menunjukkan 15 puncak yang dihasilkan pada kromatogram. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat 15 senyawa yang terdapat pada VCO dan hanya 7 diantaranya merupakan asam lemak seperti yang tertera didalam tabel 11.

Tabel 11. Komponen asam lemak VCO berdasarkan GC-MS

No.	Peak	Waktu retensi (menit)	Luas area(%)	Nama senyawa	Similarity Index (%)
1	1	5,850	3,62	Asam kaprilat	96
2	2	8,560	2,69	Asam kaprat	97
3	3	11,230	17,92	Asam laurat	97
4	4	13,685	6,88	Asam miristat	97
5	6	15,912	3,47	Asam palmitat	96
6	8	17,723	3,68	Asam oleat	94
7	9	17,941	0,81	Asam stearat	94

Waktu retensi yang dihasilkan oleh puncak komponen senyawa kimia pada kromatogram GC berbeda-beda. Menurut Hussain (2018), Waktu retensi merupakan waktu yang dihabiskan zat terlarut dalam kolom atau dapat didefinisikan sebagai waktu yang dihabiskan senyawa uji dalam fase diam dan bergerak. Waktu retensi yang lebih lama bergantung pada interaksi analit dengan fase diam. Semakin kuat interaksinya, semakin banyak waktu interaksinya dan semakin lama senyawa waktu retensinya.

Berdasarkan tabel 9, puncak yang memiliki luas area paling tinggi atau yang memiliki konsentrasi tertinggi yakni asam laurat dengan konsentrasi atau luas area sebesar 17,92% sedangkan konsentrasi terendah dimiliki oleh asam stearat dengan luas area 0,81%. Hal ini sesuai dengan penelitian Rukmini *et al* (2011), yang menyatakan komponen senyawa tertinggi dari VCO adalah asam laurat dengan konsentrasi 50,49%.

Asam-asam lain seperti asam kaprilat (3,62%), asam kaprat (2,69%), asam miristat (6,88%), asam palmitat (3,47%), asam oleat (3,68%) hampir memiliki konsentrasi yang sama. Hanya saja asam linoleat tidak terdapat pada sampel VCO tersebut padahal pada penelitian Rukmini *et al* (2011), senyawa tersebut terdapat dalam sampel VCO yang diuji tetapi dengan konsentrasi yang rendah yakni 1,5%.

Konsentrasi yang didapatkan untuk uji asam lemak pada VCO yang diujikan tidak sesuai dengan rentang yang standard pada AAPC (*Asia Pacific Coconut Community*). Hal ini karena, selama perjalanan virgin coconut oil mengalami kerusakan karena lamanya proses pengiriman. Hal ini juga dapat disebabkan karena suhu selama pengiriman yang meningkat dan akan

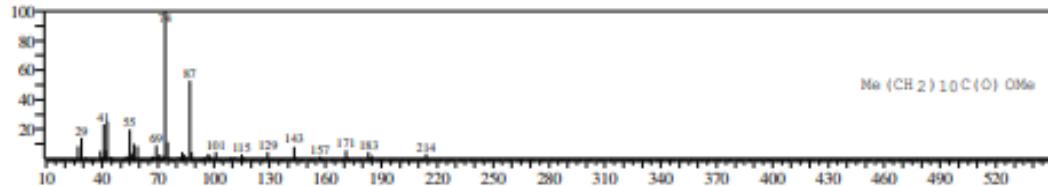
mempercepat waktu terbentuknya asam lemak dan asam lemak akan cepat rusak (Maulida dkk., 2018).

Setelah dianalisa senyawanya, selanjutnya dianalisa pola fragmentasi pada tiap-tiap senyawa asam lemak tersebut. Pola fragmentasi komponen senyawa penyusun VCO yakni asam laurat dan asam oleat adalah sebagai berikut:

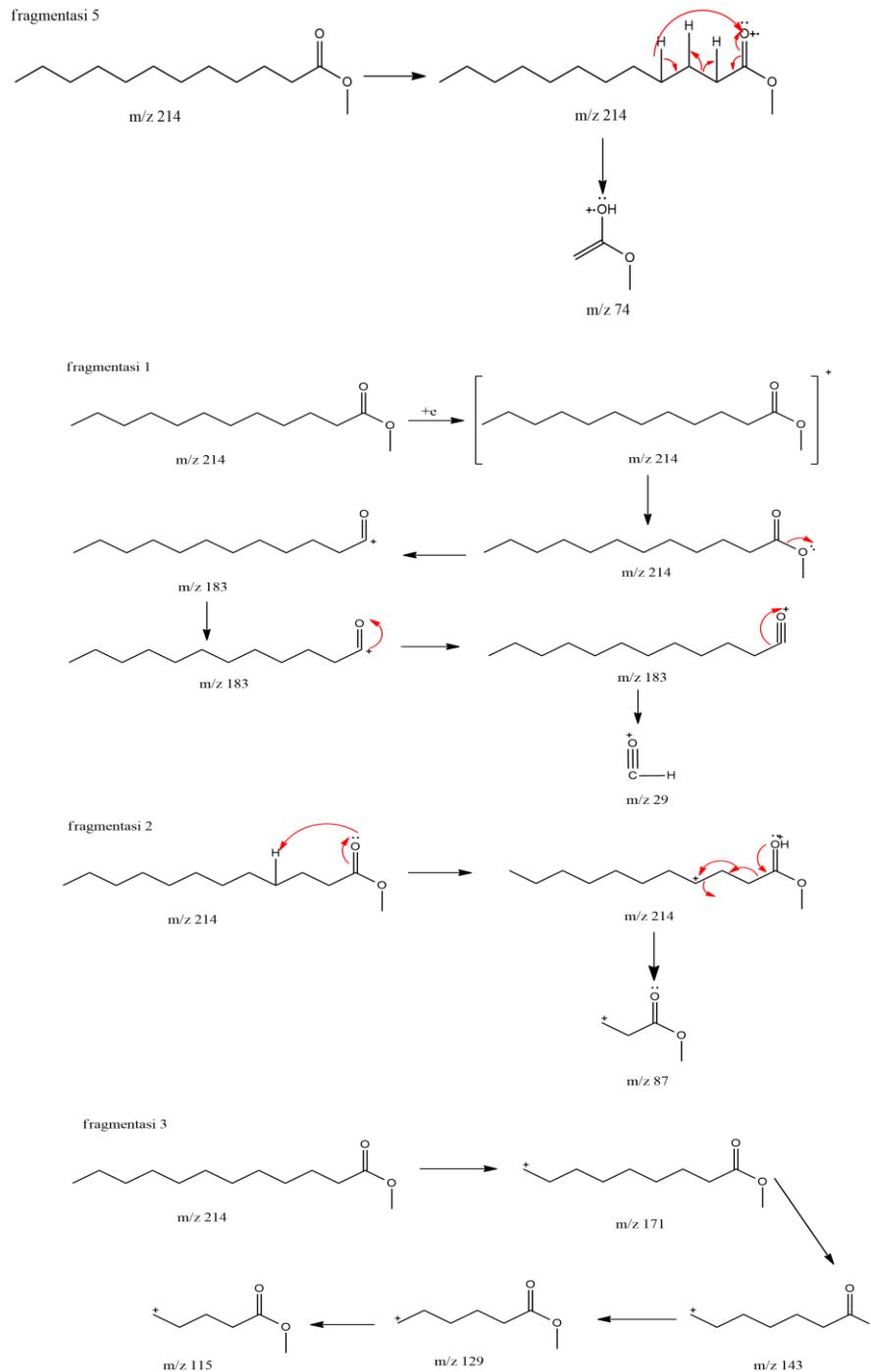
1) Puncak 3

Puncak 1 dengan tr (*time retention*) 11,230 menit dengan SI 97% diidentifikasi sebagai asam laurat dengan *base peak* m/z 74. Spektrum massa senyawa asam kaprat menunjukkan berat molekul senyawa tersebut sebesar m/z 214 dan mengalami beberapa fragmentasi dengan membentuk puncak ion molekul berbeda. Base peak (m/z 74) merupakan hasil penataan ulang McLafferty yang merupakan fragmentasi khas untuk senyawa asam lemak metil ester (*Zirolli and Murphy*, 1993).

Puncak ion molekul yang dibentuk m/z 183 membentuk fragmentasi dengan melepaskan gugus CH₃O yang kemudian membentuk puncak ion molekul m/z 29 dengan melepaskan gugus hidrokarbon (C₁₁H₂₅). Base peak (m/z 74) terbentuk karena penataan ulang McLafferty. Ion puncak m/z 87 terbentuk karena lepasnya gugus hidrokarbon dan terbentuknya ion C₄H₇O₂. Selanjutnya, puncak ion molekul yang terbentuk yakni m/z 171, m/z 143, m/z 129, m/z 115 dengan melepaskan gugus-gugus hidrokarbon (CH). Pecahan pecahan puncak ion molekul dengan m/z 101, m/z 115 merupakan puncak ion molekul khas hidrokarbon yang terdapat pada asam lemak metil ester. Spektrum masa dan pola fragmentasi asam laurat dapat dilihat pada gambar 9 dan 10.



Gambar 10. Spektrum masa asam laurat

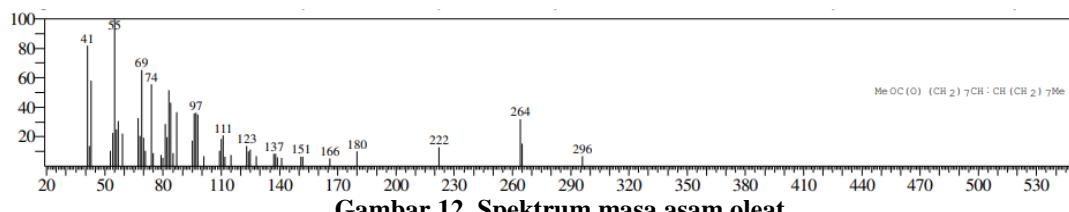


Gambar 11. Pola fragmentasi asam laurat

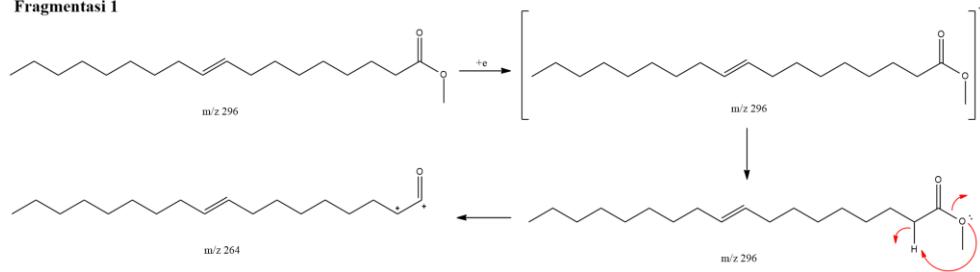
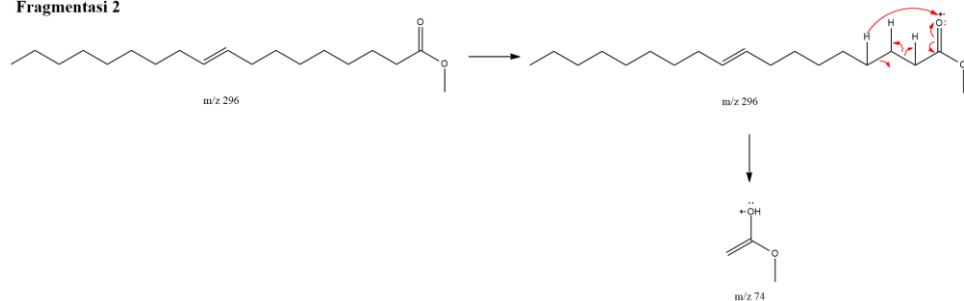
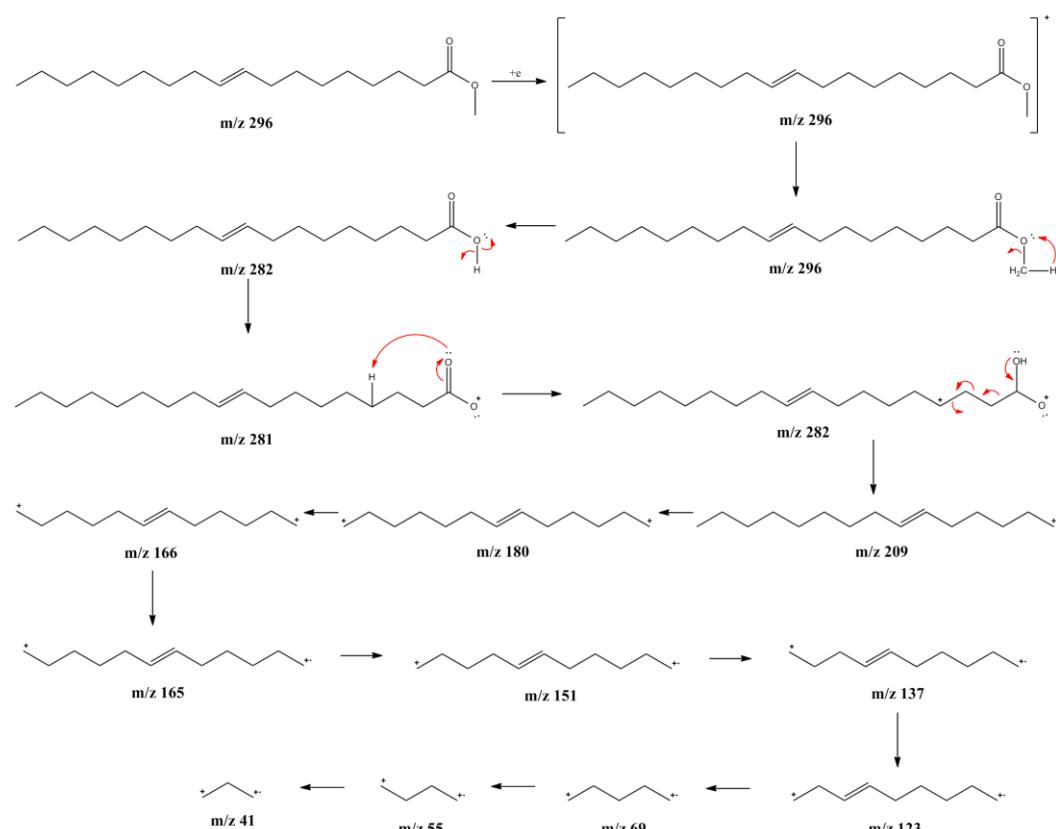
2) Puncak 8

Puncak 8 dengan tr (*time retention*) 17.723 menit dan SI 94% diidentifikasi sebagai asam oleat dengan *base peak* m/z 55. Hal ini sama dengan penelitian zayed *et al* (2017), menyatakan bahwa *base peak* metil oleat m/z 55. Spektrum massa senyawa metil oleat menunjukkan berat molekul senyawa tersebut sebesar m/z 296 dan mengalami fragmentasi dengan membentuk puncak ion molekul bervariasi. Puncak ion molekul yang dibentuk yakni 264 berfragmentasi dengan melepaskan gugus CH_3O dan H yang berada pada C β (karbon beta).

Puncak ion molekul lain yang terbentuk yakni m/z 74 yang merupakan penataan ulang McLafferty. Puncak ion molekul m/z 209 terbentuk karena putusnya gugus $\text{C}_4\text{H}_9\text{O}_2$ dan diikuti oleh hilangnya molekul CH yang kemudian membentuk puncak ion molekul m/z 180, m/z 166, m/z 165, m/z 151, m/z 137, m/z 123, m/z 69, m/z 55, m/z 41. Spektrum masa dan pola fragmentasi asam oleat dapat dilihat pada gambar 17 dan 18.



Gambar 12. Spektrum masa asam oleat

Fragmentasi 1**Fragmentasi 2****Fragmentasi 3****Gambar 13. Pola fragmentasi asam oleat**

4.3 Uji Pertumbuhan *L. bulgaricus*

Pengujian viabilitas dilakukan untuk bakteri *L. bulgaricus* yang telah ditambahkan VCO dan bakteri yang tidak ditambahkan VCO (kontrol positif) serta bakteri yang hanya ditambahkan pelarut DMSO (kontrol negatif). Hal ini dilakukan karena ingin melihat perbedaan jumlah bakteri *L. bulgaricus* sebelum dan setelah ditambah dengan VCO apakah ada peningkatan atau justru menurunkan jumlahnya.

Sebelum dicampurkan dengan VCO, suspensi *L. bulgaricus* dibandingkan dengan *Mc Farland standard 0,5*. Penggunaan *Mc farland standard 0,5* sesuai dengan jumlah bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL yang telah mencapai syarat sebagai probiotik yaitu syarat minimal total BAL sebesar 10^6 cfu/mL dan untuk syarat total BAL pada susu terfermentasi sebesar $1,0 \times 10^8$ cfu/mL (*Tamime & Robinson, 2002*).

Uji pertumbuhan atau uji viabilitas bakteri *L. bulgaricus* ini menggunakan beberapa variasi konsentrasi dari VCO (1%, 5%, 10% dan 15%), hal ini karena ingin melihat pada konsentrasi mana VCO dapat menghambat atau menaikkan pertumbuhan dan jumlah dari bakteri *L. bulgaricus*. Pengujian ini menggunakan 2 replikasi. Perhitungan pertumbuhan bakteri *L. bulgaricus* (uji viabilitas) dihasilkan dari perhitungan menggunakan metode *pour plate*. Perbedaan dan pertumbuhan yang terlihat dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil uji viabilitas bakteri *L. bulgaricus*

No	Konsentrasi	Jumlah mikroba (cfu/mL)
1	1%	$150,8 \times 10^{12}$
2	5%	$111,4 \times 10^{12}$
3	10%	$109,25 \times 10^{12}$
4	15%	$55,667 \times 10^{12}$
5	(+)	$171,0 \times 10^{12}$
6	(-)	$169,33 \times 10^{12}$

*TBUD (Tidak Bisa Untuk Dihitung) : tidak termasuk ke dalam rentang 25-250 koloni per cawan

Berdasarkan data diatas, pertumbuhan dari bakteri *L. bulgaricus* mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya konsentrasi VCO. Jumlah bakteri *L. bulgaricus* yang paling banyak yakni pada konsentrasi 1% dengan jumlah sebanyak $150,8 \times 10^{12}$ diikuti dengan konsentrasi 5% dengan jumlah mikroba sebanyak $111,4 \times 10^{12}$, konsentrasi 10% sebanyak $109,25 \times 10^{12}$ cfu/mL dan konsentrasi 15% dengan jumlah mikroba paling rendah yakni sebanyak $55,667 \times 10^{12}$ cfu/mL. tapi masih dibawah kontrol positif dengan jumlah bakteri sebanyak $171,0 \times 10^{12}$. Jumlah *L. bulgaricus* pada tiap konsentrasi VCO masih dibawah kontrol positif maupun kontrol negatif.

Hal ini berarti VCO dengan variasi konsentrasi mempengaruhi pertumbuhan dari bakteri *L. bulgaricus*, lebih tepatnya menurunkan jumlah bakteri *L. bulgaricus* seiring dengan penambahan konsentrasi VCO. Kondisi ini dapat terjadi karena pada pemeriksaan GC-MS untuk menguji kandungan asam lemak pada VCO, asam lemak yang paling banyak jumlahnya atau konsentrasinya yakni asam laurat dengan konsentrasi 17,62% sedangkan konsentrasi asam oleat yang diharapkan dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri *L. bulgaricus* hanya sedikit yakni 3,68%.

Asam laurat yang ada pada VCO berasifat sebagai antibakteri. Beberapa asam lemak rantai sedang, terutama asam laurat, diklaim memiliki sifat bakterisidal atau mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Villarino *et al.*, 2007). Mekanisme asam laurat sebagai antibakteri adalah dengan berubah menjadi monolaurin dan menginaktivasi bakteri dengan melarutkan komponen lipid yang ada pada membran sel bakteri (Swanson, 2003). *L. bulgaricus* merupakan bakteri gram positif yang memiliki komponen lipid yang dapat dirusak oleh asam laurat.

Selain asam laurat, asam lemak lain seperti asam kaprat, asam kaprilat, asam miristat, asam palmitat, asam stearat yang merupakan komponen dari asam lemak juga dapat menghambat bakteri. Asam lemak terbukti memiliki sifat antibakteri dan antijamur dalam menghambat banyak mikroorganisme dalam tumbuhan dan makanan. (Kabara, 1981; Shelef *et al.*, 1980; Russel, 1991). Gram negatif lebih resistan terhadap asam lemak dibandingkan dengan gram positif dalam efek antagonisnya karena dalam bakteri gram negatif terdapat lapisan polisakarida didinding selnya (Kabara, 1979; Branen *et al.*, 1980; Russel, 1991). *L. bulgaricus* merupakan bakteri gram positif, itulah sebabnya jumlah bakteri *L. bulgaricus* makin menurun dengan bertambahnya konsentrasi VCO karena asam lemak menghambat bakteri *L. bulgaricus*.

Mekanisme asam lemak dalam menghambat bakteri adalah dengan mendapatkan akses melalui dinding sel atau membran luar bakteri dan mengikat pembawa electron ikatan secara langsung atau masuk ke dalam membran bagian dalam dan menyebabkan pembawa elektron bergerak terpisah atau tergeser dari membran seluruhnya (Galbraith and Miller, 1973b; Peters & Chin, 2003).

Jumlah bakteri *L. bulgaricus* pada kontrol positif dan kontrol negatif tidak jauh berbeda. Jumlah *L. bulgaricus* pada kontrol positif yang berisi bakteri *L. bulgaricus* saja sebesar $171,0 \times 10^{12}$ sedangkan pada kontrol negatif sebesar $169,33 \times 10^{12}$. Dapat disimpulkan bahwa kontrol negatif yang berisi DMSO 10% tidak mempengaruhi pertumbuhan dari bakteri *L. bulgaricus* karena jumlah bakteri hampir sama. Hal ini sesuai dengan penelitian (Hajimahmoodi *et al.*, 2011) yang menyatakan bahwa DMSO 10% tidak menyebabkan daya hambat pada bakteri.

Analisis data pertumbuhan *L. bulgaricus* ini menggunakan SPSS 16,0. Data sebelumnya diuji normalitas untuk mengetahui data terdistribusi normal yang merupakan syarat mutlak untuk dianalisis ke statistik parametrik one way ANOVA. Data terdistribusi secara normal karena semua data menunjukkan nilai signifikansi $>0,05$ seperti yang terlampir pada lampiran 19. Selanjutnya dilihat homogenitas dengan menggunakan *Test of Homogeneity of Variances* pada setiap data, didapatkan angka signifikansi $>0,05$ dan dapat disimpulkan bahwa varian kelompok yang dibandingkan homogen.

Setelah data dinyatakan homogen dilanjutkan dengan analisis statistik parametrik one way ANOVA. Pada analisis statistik ini, jika data tidak atau nilai sig. kurang dari 0,05 ($<0,05$) maka ada perbedaan antar kelompok sedangkan jika nilai sig. $>0,05$ maka tidak ada perbedaan antar kelompok. Hasil analisa statistik one way ANOVA menyatakan bahwa tidak ada perbedaan antar kelompok karena sig. yang dapatkan $>0,05$.

Setelah diuji menggunakan one way ANOVA, selanjutnya dilakukan analisis data *Post Hoc LSD (Least Significant Difference)*. Analisis data ini digunakan

untuk melihat variabel manakah yang memiliki perbedaan yang signifikan, ada perbedaan pada variasi konsentrasi 15% dengan kontrol positif dan kontrol negatif dimana ditandai dengan nilai sig. yang $<0,05$. Berarti VCO dengan konsentrasi 15% berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *L. bulgaricus*

4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit *L. bulgaricus*

Pengujian aktivitas antibakteri metabolit *L. bulgaricus* menggunakan metode cakram kertas yang dilanjutkan menggunakan metode dilusi (*microdilution*) untuk menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) yang diujikan pada bakteri patogen *E. coli*. Cawan petri yang digunakan untuk uji ini berupa cawan petri dengan bakteri yang memiliki jumlah paling baik yakni cawan petri dengan variasi konsentrasi VCO 1% dan kontrol positif (*L. bulgaricus* tanpa perlakuan).

Ekstraksi metabolit bakteri *L. bulgaricus* dilakukan dengan menggunakan metode sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm dan suhu 4°C. Menurut Bintang (2010), suhu tersebut merupakan suhu penyimpanan agar tidak ada pertumbuhan bakteri dan tidak terjadi denaturasi protein.

Metode cakram kertas dilakukan dengan meletakkan kertas cakram yang telah dicelupkan pada larutan uji (metabolit) dengan variasi konsentrasi. Variasi konsentrasi metabolit *L. bulgaricus* yang digunakan yakni 100%, 75% dan 25% kedalam agar yang telah diinokulasi bakteri *E. coli*. suspensi *E. coli* sebelumnya sudah dibandingkan menggunakan McFarland standard 0,5 yang setara dengan jumlah bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Agar yang berisi *E. coli* dan telah dimasukkan cakram kertas diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil uji antibakteri metabolit *L. bulgaricus* menggunakan cakram kertas dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil Uji Antibakteri metabolit *L. bulgaricus*

Perlakuan	Konsentrasi	Diameter	Respon Hambatan
		Zona Hambat	
Tdk ditambah VCO	100%	6,77±0,97	Sedang
	75%	5,47±1,01	Sedang
	25%	4,37±0,20	Lemah
Ditambah VCO	100%	5,23±1,54	Sedang
	75%	4,0±1,80	Lemah
	25%	3,63±1,56	Lemah

Berdasarkan tabel 13 diatas, terlihat bahwa ada perbedaan diameter zona hambat maupun respon hambatan yang dihasilkan oleh metabolit *L. bulgaricus* yang telah diberikan perlakuan ditambah VCO dan tidak ditambah dengan VCO.

Untuk semakin jelasnya dapat dilihat pada diagram batang gambar 23.

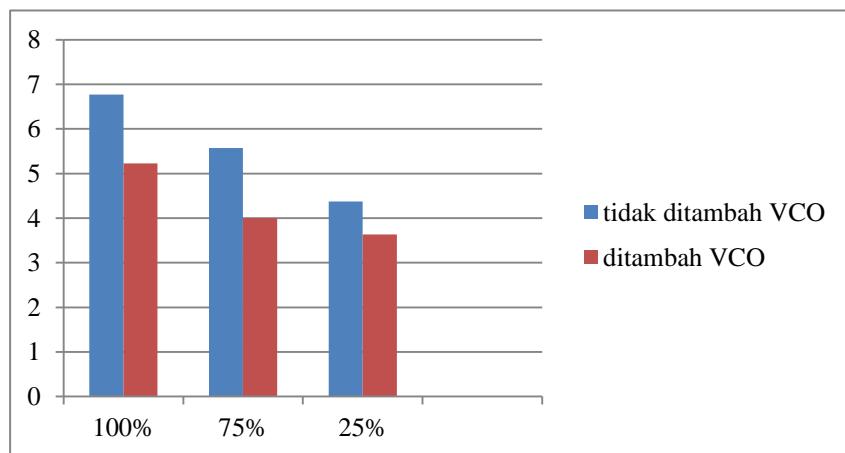
**Gambar 14. Diagram batang perbedaan zona hambat metabolit *L. bulgaricus***

Diagram diatas menggambarkan pada metabolit yang ditambah dengan VCO menurun aktivitas antibakterinya. Hal ini ditandai dengan diameter zona hambat yang lebih kecil jika dibandingkan dengan metabolit tanpa perlakuan atau metabolit yang tidak ditambah dengan VCO. Penurunan aktivitas antibakteri ini dapat terjadi karena pada uji pertumbuhan bakteri *L. bulgaricus* yang ditambah VCO dihasilkan jumlah bakteri yang lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri *L. bulgaricus* tanpa perlakuan.

Pada konsentrasi 100% metabolit *L. bulgaricus* dengan perlakuan ditambah dengan VCO maupun tidak ditambah sama-sama menghasilkan respon hambatan sedang. Sedangkan pada konsentrasi 50% respon hambatan pada metabolit yang tidak ditambah VCO sedang sedangkan metabolit yang ditambah VCO lemah. Respon hambatan berupa kategori zona hambat yang dihasilkan oleh metabolit *L. bulgaricus* disesuaikan Menurut Davis & Stout (2009) yang menyatakan bahwa kekuatan daya hambat lemah apabila diameter zona bening yang dihasilkan ≤ 5 mm. jika diameter zona bening 5-10 mm maka kekuatan daya hambatnya sedang. Kekuatan daya hambat kuat jika diameter zona bening 11-20 mm dan kategori daya hambat sangat kuat jika diameter zona bening ≥ 20 mm.

Analisa data uji antibakteri metabolit *L. bulgaricus* terhadap *E. coli* menggunakan SPSS 16,0. Data yang digunakan berupa data luas zona hambat variasi metabolit yang tidak ditambah VCO, luas zona hambat metabolit yang ditambah VCO dan perbandingan kedua zona hambat tersebut. Data masing-masing diuji normalitas untuk mengetahui data terdistribusi normal yang merupakan syarat mutlak untuk dianalisis ke statistik parametrik one way ANOVA. Hasil yang didapatkan pada analisis data luas zona hambat metabolit yang tidak ditambah VCO menunjukkan data terdistribusi secara normal dengan nilai signifikansi $>0,05$ seperti yang terlampir pada lampiran 21.

Uji homogenitas dilakukan setelah uji normalitas dengan menggunakan *Test of Homogeneity of Variances* pada setiap data, didapatkan angka signifikansi $>0,05$ dan dapat disimpulkan bahwa varian kelompok yang dibandingkan homogen dilanjutkan dengan analisis statistik parametric one way ANOVA menyatakan bahwa adanya perbedaan antar kelompok dimana nilai sig. $<0,05$.

Jika dilihat pada uji *Post Hoc LSD (Least Significant Difference)* yang digunakan untuk melihat variabel manakah yang memiliki perbedaan yang signifikan, ada perbedaan pada variasi konsentrasi metabolit 100% dengan konsentrasi metabolit 25% dimana ditandai dengan nilai sig. yang $<0,05$. Berarti metabolit dengan konsentrasi 100% berbeda secara signifikan dengan konsentrasi metabolit 25%.

Analisis data selanjutnya merupakan analisis data metabolit yang ditambah dengan VCO. Uji normalitas menggunakan *Test of Homogeneity of Variances* menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal, uji homogenitas juga menunjukkan bahwa data yang dibandingkan homogen karena memiliki nilai sig. $>0,05$. Selanjutnya data dianalisis menggunakan analisis statistik one way ANOVA dan data menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antar kelompok yang ditandai dengan nilai sig. $>0,05$.

Perbandingan analisis data metabolit yang ditambah dan tidak ditambah dengan VCO dianalisa menggunakan uji t-berpasangan. Pada uji t-berpasangan data menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antar kelompok yakni kelompok metabolit yang diberi perlakuan dengan ditambah dengan VCO dan tidak ditambah dengan VCO, ditandai dengan nilai sig $<0,05$ ($p<0,05$). Hal ini membuktikan bahwa metabolit yang ditambah VCO memiliki perbedaan yang signifikan dengan metabolit yang tidak ditambah dengan VCO atau dapat dikatakan bahwa VCO berpengaruh pada aktivitas antibakteri metabolit *L. bulgaricus* dengan menurunnya diameter zona hambat yang terbentuk.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan setelah melihat kekuatan atau respon hambatan yang dihasilkan pada metabolit *L. bulgaricus*. KHM ditentukan menggunakan *microdilution*. Pengujian ini dilakukan sebagai uji

lanjutan dari uji antibakteri karena pada konsentrasi 25%, metabolit *L. bulgaricus* masih dapat menghambat bakteri *E. coli* walau dengan respon hambat yang lemah.

Uji KHM menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan berupa amoksisilin dengan konsentrasi 0,003%. Hal ini didasarkan pada penelitian Maida & Lestari (2013), yang menyatakan bahwa aktivitas antibakteri amoksisilin terhadap *E. coli* pada konsentrasi ini intermediet. Hasil uji KHM metabolit *L. bulgaricus* dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. KHM metabolit bakteri *L. bulgaricus*

No	Konsentrasi	Respon	
		Ditambah VCO	Tdk. Ditambah VCO
1	75%	-	-
2	37,5%	-	-
3	18,75%	-	-
4	9,38%	-	-
5	4,69%	+	-
6	2,34%	+	+
7	1,17%	+	+
8	0,59%	+	+
9	0,29%	+	+
10	0,15%	+	+

Keterangan: (+) = keruh, (-) = bening

Kontrol negatif yang digunakan berupa *nutrient broth* tanpa perlakuan yang kemudian digunakan untuk membandingkan kekeruhan pada *microplate*. Pada pengujian ini didapatkan KHM metabolit *L. bulgaricus* terhadap *E. coli* sebesar 9,38% pada metabolit yang ditambah VCO sedangkan pada metabolit yang tidak ditambah VCO KHM yang dihasilkan sebesar 4,69%. Ini terlihat pada hasil yang didapatkan dimana pada metabolit yang ditambah dengan VCO batas akhir dari konsentrasi menghasilkan hasil yang bening itu pada konsentrasi 9,38% sedangkan pada metabolit yang tidak ditambah dengan VCO pada konsentrasi 4,69%. Dapat disimpulkan bahwa metabolit yang dihasilkan oleh *L. bulgaricus*

yang telah ditambah VCO akan berkurang aktivitas antibakterinya sampai ke KHMnya.

Aktivitas antibakteri metabolit *L. bulgaricus* lebih bagus aktivitas antibakterinya dibandingkan dengan kontrol positif atau amoksisilin dengan konsentrasi 0,003%. Dapat dilihat dari kekeruhan yang dihasilkan oleh amoksisilin menunjukkan kekeruhan yang lebih keruh dibandingkan metabolit *L. bulgaricus*. Hal ini dikarenakan jumlah atau konsentrasi amoksisilin yang digunakan kecil sehingga aktivitasnya juga kecil.

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh metabolit *L. bulgaricus* dihasilkan oleh senyawa-senyawa seperti asam laktat, hidrogen peroksida, *acetaldehyde*, *acetone*, *acetoin*, *diacetyl* (Robinson, 2014). Mekanisme asam laktat dalam membunuh bakteri patogen adalah dengan merusak membran ekstraseluler bakteri. Selain itu, asam laktat juga dapat membunuh bakteri patogen dengan cara mengubah permeabilitas membran dari membran sel (Mani-Lopez *et al.*, 2011; Kong *et al.*, 2001). Mekanisme hidrogen peroksida dalam membunuh bakteri patogen adalah dengan oksidasi komponen-komponen bakteri patogen yang menyebabkan kerusakan irreversibel pada membran sel bakteri (jay, 1982). *acetaldehid* bekerja dengan cara menghambat pembelahan dari *E. coli* (bakteri patogen) (egyad, 1967). *Acetone* bekerja hampir sama dengan asam laktat yakni menganggu aktivitas membran permeabilitas bakteri patogen (Cheng & Hu, 2015).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Karakterisasi VCO berupa organoleptis (tak berwarna, bau spesifik kelapa), bobot jenis (0,9149), indeks bias (1,4546) dan kadar air (0%) yang diproduksi oleh PT. CocoFarma memenuhi standar codex dan SNI.
2. Komposisi asam lemak pada virgin coconut oil berdasarkan analisis GC-MS menunjukkan konsentrasi tertinggi asam laurat (17,92%) diikuti dengan asam lemak lain seperti asam kaprilat (3,62%), asam kaprat (2,69%), asam miristat (6,88%), asam palmitat (3,47%), asam oleat (3,68%) dan asam stearat (0,81%).
3. Jumlah koloni *L. bulgaricus* sebelum dan sesudah ditambah VCO menunjukkan perbedaan yang signifikan. Semakin bertambah konsentrasi VCO maka semakin menurun jumlah *L. bulgaricus*.
4. Aktivitas antibakteri metabolit *L. bulgaricus* sebelum ditambah dan sesudah ditambah dengan VCO menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pada hasil yang didapat, metabolit *L. bulgaricus* yang tidak ditambah dengan VCO menghasilkan sifat antibakteri yang lebih baik dibandingkan metabolit yang ditambah dengan VCO.
5. Nilai KHM metabolit *L. bulgaricus* yang ditambah dengan VCO sebesar 9,38% sedangkan nilai KHM metabolit *L. bulgaricus* yang tidak ditambah VCO sebesar 4,69%.

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan, maka peneliti merekomendasikan beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan uji potensi asam oleat yang diisolasi dan difurifikasi dari VCO dalam menggantikan tween 80 sebagai media nutrisi bakteri probiotik *L. bulgaricus* pada agar pertumbuhan bakteri.
2. Perlu dilakukan pemeriksaan OD (*Optical Density*) pada pemeriksaan KHM agar didapatkan hasil yang signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.A., Assikong, E.B., Akeh, M., Upla, P. & Tulum, T. 2017, Antimicrobial activity of coconut oil and its derivative (lauric acid) on some selected clinical isolates. *Int. J. Med. Sci. Clin. Invent*, **4(8)**:3173-3177.
- Abree T., Krockel L. & Hill C. 1995, Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *International Journal of Food Microbiology*, **(28)**:169–185.
- Agustina, F.M., Mulawarmanti, D. & Wedarti, Y.R. 2015, Daya hambat minyak hati ikan hiu terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *DENTA Jurnal Kedokteran Gigi*, **9(2)**:129.
- Alamsyah, A.N. 2005, *Virgin Coconut Oil, Minyak Penakluk Aneka Penyakit*. Penerbit Agro Media Pustaka, Jakarta, Indonesia.
- Andrews, J.M. 2001, Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **49(6)**:1049-1049.
- Ayu Chandra K. F., Wahyu D.P. 2018, Analisa Komposisi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis Hasil Ekstraksi Metode Microwave Hydrodiffusion And Gravity dengan GC-MS, *Jurnal Reka Buana*, **3(1)**
- Bauer, A. W., W. M. M. Kirby, J. C. Sherris, and M. Turck. 1966, Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol*, **(36)**:493-496.
- Bawalan D. D & K. R. Chapman. 2006, *Virgin Coconut Oil Production Manual For Micro- And Village-Scale Processing*, FAO Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok.
- Bintang, M. 2010, *Biokimia: Teknik penelitian*, Penerbit Erlangga, Jakarta, Indonesia.
- BPOM, B.P.O. 2005, *Pengaturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Tentang Ketentuan Pokok Pengawasan Pangan Fungsional*, BPOMRI, Jakarta.
- Branen, A.L., Davidson, P.M., Katz, B. 1980, Antibacterial properties of phenolic antioxidants and lipids. *Food Technol*.

- Budiman F, Ambari O, Surest AH. 2015, Pengaruh waktu fermentasi dan perbandingan volume santan dan sari nanas pada pembuatan virgin coconut oil (VCO). *Jurnal Teknik Kimia*, **(18)**:37-42.
- Cheng, L.P. & Hu, Q.P. 2015, Antibacterial activities and mechanism of action of acetone extracts from *Rabdosia rubescens*. *Aceh International Journal of Science and Technology*, **4(1)**:1-6.
- Choi, S.G., Won, S.R. & Rhee, H.I. 2010, *Oleic Acid and Inhibition of Glucosyltransferase. In Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 1375-1383, Academic Press.
- Conway, P. L., Gorbach, S. L., & Goldin, B. R. 1987, Survival of Lactic Acid Bacteria in the Human Stomach and Adhesion to Intestinal Cells. *Journal of Dairy Science*, **70(1)**1–12
- Cotton, G. C., Lagesse N. R., Parke, L., & Meledandri, C. J. 2018, Antibacterial Nanoparticles. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. *Doi:10.1016/b978-0-12-803581-8.10409-6*
- Daeschel M.A. 1989, Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technology*, **(43)**:164–167
- Darmoyuwono, W. 2006, *Gaya Hidup Sehat dengan Virgin Coconut Oil*, Cetakan Pertama, Penerbit Indeks-kelompok Gramedia, Jakarta, Indonesia.
- Davis, W.W & Stout, T.R. 2009, Disc plate method of microbiological antibiotic assay, *Applied and Environmental Microbiology*, **22(4)**666-670.
- Dzen., Sjoekoer, M., Roekistiningsih. 2003, Bakteriologi Medik, Bayumedia, Malang, 122-187.
- Dwidjoseputro, D., 1978. *Pengantar mikologi*. Penerbit Alumni.
- Együd, L.G., 1967. Studies on cell division: the effect of aldehydes, ketones and α -keto-aldehydes on the proliferation of *Escherichia coli*. *Biosystems*, **1(1)**14-20.
- Fang, W., Shi, M., Huang, L., Chen, J. & Wang, Y. 1996, Antagonism of lactic acid bacteria towards *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* on agar plates and in milk.
- Freese .E, Sheu C. W, Galliers E. 1973, Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. *Nature*, **(241)**: 321–325
- Galbraith H, Miller TB. 1973b, Effect of long chain fatty acids on bacterial respiration and amino acid uptake. *J Appl Bacteriol*, **(36)**:659–675

- Gallagher N.L., Sailer M., Niemczura W.P., Nakashima T.T., Stiles M.E. & Vederas J.C. 1997, Three-dimensional structure of leucocin A in trifluoroethanol and dodecyl phosphocholine micelles: spatial location of residues critical for biological activity in type IIa bacteriocins from lactic acid bacteria. *Biochemistry*, **(36)**: 15062–15072.
- Garrity, G.M., Bell, J.A., & Lilburn, T.G. 2004, Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edition, Release 5.0, Springer-Verlag, New York. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/bergeysoutline200405>.
- Gani, Zainal., dkk. 2005, *Bebas Segala Penyakit dengan VCO*. Cet. III; Puspa Swara, Jakarta, Indonesia.
- Gunsalus, I.C. & Umbreit, W.W. 1945, The oxidation of glycerol by *Streptococcus faecalis*. *Journal of bacteriology*, **49(4)**347.
- Hajimahmoodi, M., Shams-Ardakani, M., Saniee, P., Siavoshi, F., Mehrabani, M., Hosseinzadeh, H., Foroumadi, P., Safavi, M., Khanavi, M., Akbarzadeh, T. & Shafiee, A. 2011, In vitro antibacterial activity of some Iranian medicinal plant extracts against *Helicobacter pylori*. *Natural Product Research*, **25(11)**1059-1066.
- Hammes, W.P. & Vogel, R.F. 1995, The genus Lactobacillus. In: The Genera of Lactic Acid Bacteria, Edited by B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel. *Blackie Academic & Professional (UK)*, **(2)**:19–54.
- Hanum, G.A., Kurniawati, A. & Normaliska, R. 2018, AQ-11 Analysis Total Plate Count (TPC) Escherichia coli and Salmonella sp. on Frozen Beef Imported through Tanjung Priok Port. *Hemera Zoa*.
- Hauge H.H., Mantzilas D., Eijsink V.G.H. & Nissen-Meyer J. 1999, Membrane-mimicking entities induce structuring of the two-peptide bacteriocins plantaricin E/F and plantaricin J/K. *Journal of Bacteriology*, **(181)**:740–747.
- Hazan, Y.A., Que, D., Maura., Rahme. L.G. 2012, A method for high throughput determination of viable bacteria cell counts in 96-well plates, *BMC Microbiology*, **12(1)**:1-7.
- Hendayana, S. 2006, *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*, PT Remaja Rosdakarya Offset, Bandung.
- Hussain, C.M. ed. 2018, Nanomaterials in chromatography: current trends in chromatographic research technology and techniques, Elsevier.
- Jay, J.M. 1982, Antimicrobial properties of diacetyl. *Applied and Environmental Microbiology*, **44(3)**525-532.

- Jenie, B. S. L., Nuratifa, dan Suliantari. 2001, Peningkatan Keamanan dan Mutu Simpan Pindang Ikan Kembung (*Rastrelliger* sp.) dengan Aplikasi Kombinasi Natrium Asetat, Bakteri Asam Laktat dan Pengemasan Vakum. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, **12(1)**21-27.
- Kabara, J. J. 1978, Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents A review-Symposium on the pharmacological effects of lipids. *AOCS*, pp. 1- 13.
- Kabara, J.J. 1979, Fatty acids and derivatives as antimicrobial 1202–1205, agents—a review. *AOCS Monograph*, **(5)**1–14
- Ketaren, S. 1986, *Pengantar Teknologi Minyak Dan Lemak Pangan*. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Klaenhammer T.R. 1988, Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, **(70)**: 337–349.
- Knapp H. R, Melly M. A. 1986, Bactericidal effects of polyunsaturatedfatty acids. *The Journal of Infectious Diseases*, **(154)**:84–94
- Kompiang, I.P. 2009, Pemanfaatan mikroorganisme sebagai probiotik untuk meningkatkan produksi ternak unggas di Indonesia. *Pengembangan Inovasi Pertanian*, **2(3)**:177-191.
- Kong, Y.J., Park, B.K. & Oh, D.H. 2001. Antimicrobial activity of *Quercus mongolica* leaf ethanol extract and organic acids against food-borne microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol*, **(33)**178–183.
- Kusmayati dan Agustini, 2007, *Daya Hambat Sabun Antibakteri Cair Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*, Skripsi, Yogyakarta.
- Lawalata, H.J., Rompas, C.F. & Kansile, E.F. 2020, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Anggur Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Sebagai Penghasil Eksopolisakarida. *JSME (Jurnal Sains, Matematika & Edukasi)*, **8(1)**:5-10.
- Leichmann, G. 1896, About those who appear in the distillery process when preparing the yeast spontaneous lactic acid consumption. *Zbl. Bakt., II. Dept. 2*, 281-285.
- Linley, E. S. P. Denyer, G. McDonnell, C. Simons & J. Y. Maillard, J. 2012, *Antimicrobe. Chemother*, **(67)**:1589
- Mani-Lopez, E., Garcia, H.S. & Lopez-Mal, A. 2011. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *J. Food Res*, **(10)**1016–1025.
- Maulinda, L., Nasrul, Z.A. & Nurbait, N. 2018, Hidrolisis Asam Lemak Dari Buah Sawit Sisa Sortiran. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, **6(2)**1-15.

- McDonnell G. E. 2007, *Antisepsis, Disinfection and Sterilization*, ASM Press, Washington, DC.
- McDonald, L.C., Fleming, H.P. and Daeschel, M.A., 1991. Acidification effects on microbial populations during initiation of cucumber fermentation. *Journal of food science*, 56(5)1353-1356.
- Miller, N., Wetterstrom, W., Kiple, K. & Ornelas, K. 2000, The Cambridge world history of food, *Cambridge University Press, UK*, (2)1123-1139.
- Mokarram, R. R., Mortazavi, S. A., Habibi, N. M. B. & Shahidi, F. 2009, The Influence of Multi Stage Alginat Coating on Survivability of Potential Probiotic Bacteria in Simulated Gastric and Intestinal Juice. *Food Research International*, (42):1040-1045.
- Moreno-Arribas, M. V., & Polo, M. C. 2003, CHROMATOGRAPHY | High-performance Liquid Chromatography. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 1274–1280. doi:10.1016/b0-12-227055-x/00232-7
- Muharni, Fitrya dan Farida, S. 2017, Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol tanaman obat suku musi di kabupaten musi banyuasin sumatera selatan, *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 7(2): 127-135.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Plette, G.J.P. & Bégin, A. 1997, Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International journal of food microbiology*, 37(2-3):155-162.
- Partanen, L., Marttinen, N. & Alatossava, T. 2001, Fats and fatty acids as growth factors for *Lactobacillus delbrueckii*. *Systematic and applied microbiology*, 24(4):500.
- Pelczar, M. 1988, *Dasar – dasar mikrobiologi* 2. Universitas Indonesia Press, Jakarta, Indonesia.
- Peters JS, Chin C-K. 2003, Inhibition of photosynthetic electron transport by palmitoleic acid is partially correlated to loss of thylakoid membrane proteins. *Plant Physiol Biochem*, (41):117– 124
- Piard, J.C. & Desmazeaud, M. 1991, Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1. Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Le lait*, 71(5):525-541.
- Piard, J.C. & Desmazeaud, M. 1992, Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriocins and other antibacterial substances. *Le lait*, 72(2):113-142.
- Pontoh J, Surbakti M, Papilaya M. 2008, Kualitas virgin coconut oil dari beberapa metode pembuatan. *J. Chem. Prog*, (1):60-65

- Pratiwi, Septalia. 2017, 'Standarisasi dan uji aktivitas antibakteri ekstrak ranting tumbuhan sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap *Escherechia coli* dan *Staphylococcus aureus*', Skripsi, S.Farm, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya, Indonesia.
- Rindengan & Novarianto. 2006, *Virgin coconut oil: Pembuatan dan pemanfaatan*. Seri Agritekno, Penebar Swadaya, Jakarta, Indonesia.
- Robinson, R.K. 2014, *Encyclopedia of food microbiology*, Academic press.
- Rukmini, A., Raharjo, S., Hastuti, P. & Supriyadi, S. 2011, Quality Deterioration in Commercial Virgin Coconut Oil Due to Photooxidation and Autoxidation. *agriTECH*, **31(4)**.
- Russel, A.D. 1991, Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics: food additives and food pharmaceutical preservatives. *J. Appl. Bacteriol*, **(71)**191–201.
- Sarkono dan M. Ulfa. 2007, *Kemampuan Antibakteri Virgin Coconut Oil (VCO) yang Dibuat Melalui Fermentasi Bakteri Asam Laktat Lactobacillus bulgaricus dan Lactobacillus acidophilus Serta Keduanya*. Laporan Penelitian SPP/ DPP Universitas Mataram.
- Schönenfeld, P. and Wojtczak, L. 2016, Short-and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. *Journal of lipid research*, **57(6)**943-954.
- Shelef, L.A., Naglik, O.A., Bogen, D.W. 1980, Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary, and allspice. *J. Food Sci*, **(45)**1042–1044.
- Stiles M.E. and Hastings J.W. 1991, Bacteriocin production by lactic acid bacteria: potential for use in meat preservation. *Trends in Food Science and Technology* **(2)**247–251.
- Surono, I.S. 2004, Probiotik susu fermentasi dan kesehatan. *YAPMMI, Jakarta*.
- Suryani, S., Sariani, S., Earnestly, F., Marganof, M., Rahmawati, R., Sevindrajuta, S., Mahlia, T.M.I. & Fudholi, A. 2020, A Comparative Study of Virgin Coconut Oil, Coconut Oil and Palm Oil in Terms of Their Active Ingredients. *Processes*, **8(4)**402.
- Suryani, A.D., Manjang, Y., Arief, S., Munaf, E. & Nasir, N. 2014, Antimicrobial and antifungal activity of Lactic Acid Bacteria isolated from coconut milk fermentation. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, **5(6)**1587-1595.
- Sutarmi & Rozaline, H. 2005, *Taklukkan Penyakit dengan VCO Virgin Coconut Oil*, Penebar Swadaya, Jakarta, Indonesia.

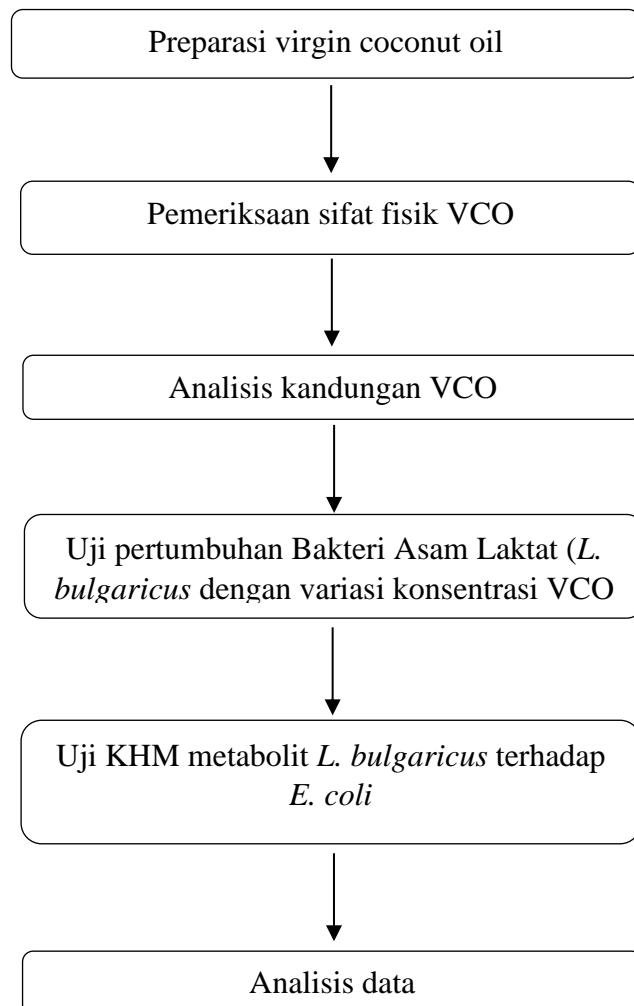
- Syah, A.N.A. 2005, *Virgin coconut oil: minyak penakluk aneka penyakit*, AgroMedia, Jakarta, Indonesia.
- Sykes, J.E. & Rankin, S.C. 2014, *Isolation in cell culture. Canine and feline infectious diseases*, p.2, Elsevier Health Sciences.
- Syukur, S., Rajagukguk, H., Syaputri, Y. & Iwahashi, H. 2018, Probiotic research in several products of virgin coconut oil from Padang, Indonesia. *In J. Phys. Conf. Ser.* **(1116)**042039.
- Swanson, J.K., 2003. Antibiotic resistance of *Propionibacterium acnes* in *acne vulgaris*. *Dermatology Nursing*, **15(4)**359-363.
- Tamime, A.Y. & R.K. Robinson. 2002. *Yogurt Science and Technology*. New York. CRC Press. p: 1-9.
- Trisna, W.N. 2012, Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Pemberian Probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Dadih dari Kabupaten Sijunjung Terhadap Kadar Kolesterol Daging Pada Itik Pitalah Sumber Daya Genetik Sumatera Barat. *Artikel. Program Pascasarjana Universitas Andalas, Padang*.
- Villarino BJ, Dy LM, Concepcion M, Lizada C. 2007, Descriptive sensory evaluation of virgin coconut oil and refined,bleached and deodorized coconut oil. *LWT-Food Sci Techno*, **(140)**:193–199.*DOI: 10.1016/j.lwt.2005.11.007*.
- Wang, C., Chang, T., Yang, H. & Cui, M. 2015, Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, **(47)**:231-236.
- Wang Y., Henz M.E., Fregeau Gallagher N.L., Chai S., Gibbs A.C., Yan L.Z., Stiles M.E., Wishart D.S. & Vederas J.C. 1999, Solution structure of carnobacteriocin B2 and implications for structure-activity relationships among type IIa bacteriocins from lactic acid bacteria. *Biochemistry*, **(38)**:15438–15447.
- Wibowo, Susilo. 2005, *VCO dan Pencegahan Komplikasi Diabetes*. Pawon Publishing, Jakarta, Indonesia.
- Weber, D.J., Tolkoff-Rubin, N.E. and Rubin, R.H., 1984. Amoxicillin and potassium clavulanate: An antibiotic combination mechanism of action, pharmacokinetics, antimicrobial spectrum, clinical efficacy and adverse effects. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, **4(3)**122-133.
- Yulinery, T & Nurhidayat, N. 2013, Penambahan Virgin Coconut Oil Dalam Sediaan Probiotik Lactobacillus Menggunakan Teknik Spray Drying.

Prosiding Seminar Nasional Riset Pangan, Obat-Obatan, Dan Lingkungan Untuk Kesehatan, Bogor.

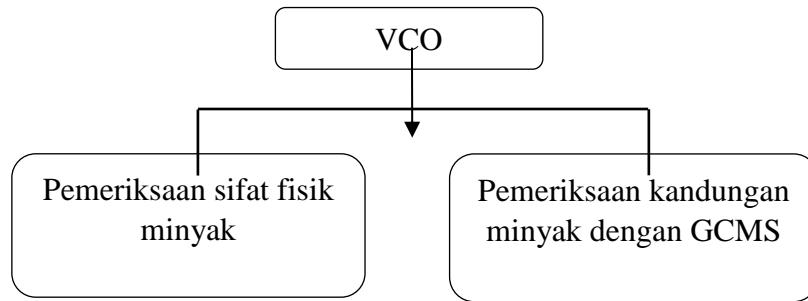
- Zayed, M.A., Abd El-Kareem, M.S. & Zaky, N.H.S. 2017, Gas Chromatography-Mass Spectrometry studies of waste vegetable mixed and pure used oils and its biodiesel products. *J. Pharm. Appl. Chem.*, **(3)**109-116.
- Zheng, C.J., Yoo, J.S., Lee, T.G., Cho, H.Y., Kim, Y.H., Kim, W.G., 2005. Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. *FEBS Lett.*, **(579)**:5157–5162.
- Zirrolli, J.A. & Murphy, R.C. 1993, Low-energy tandem mass spectrometry of the molecular ion derived from fatty acid methyl esters: a novel method for analysis of branched-chain fatty acids. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, **4(3)**223-229.

LAMPIRAN

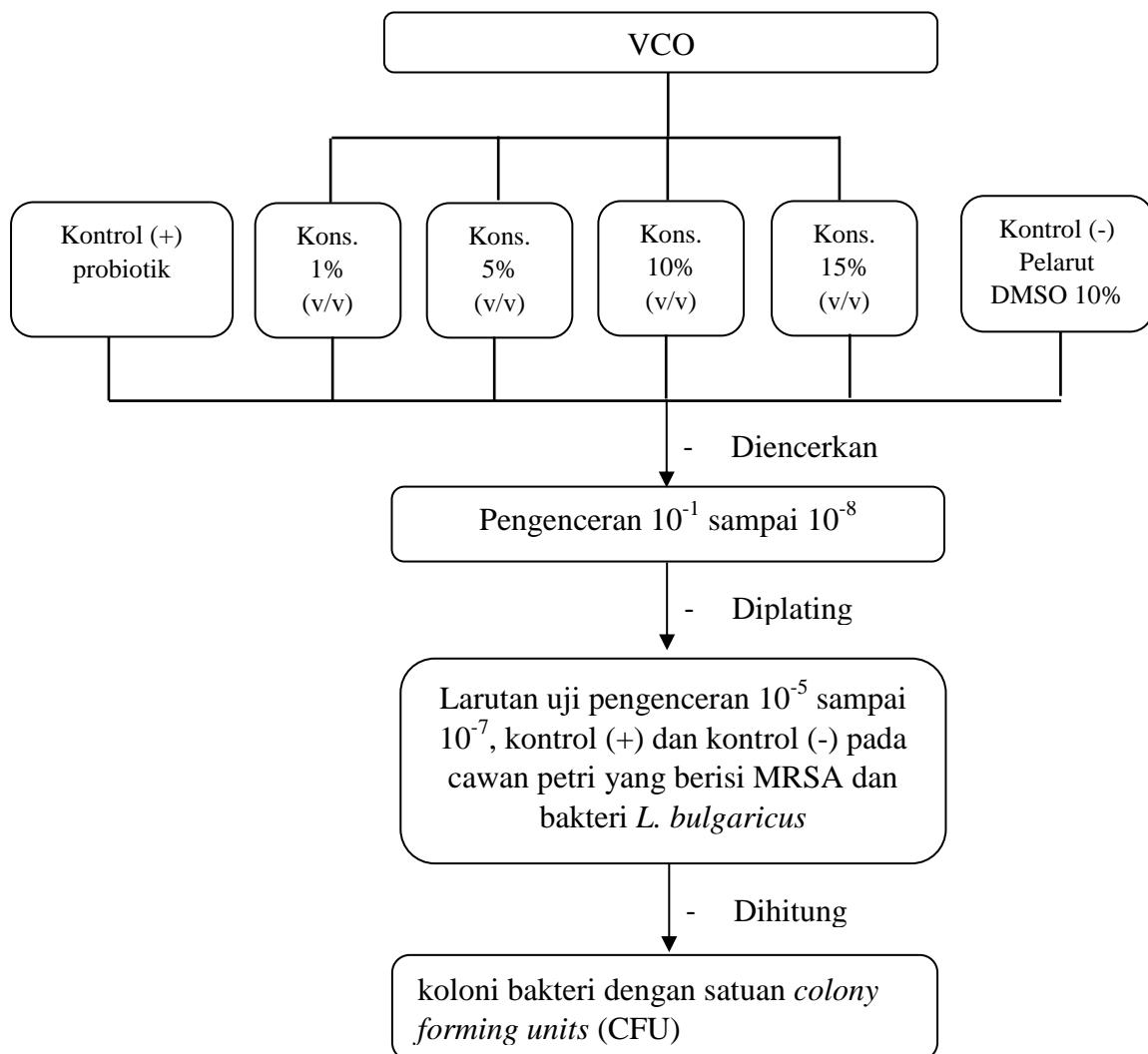
Lampiran 1. Skema Kerja Umum

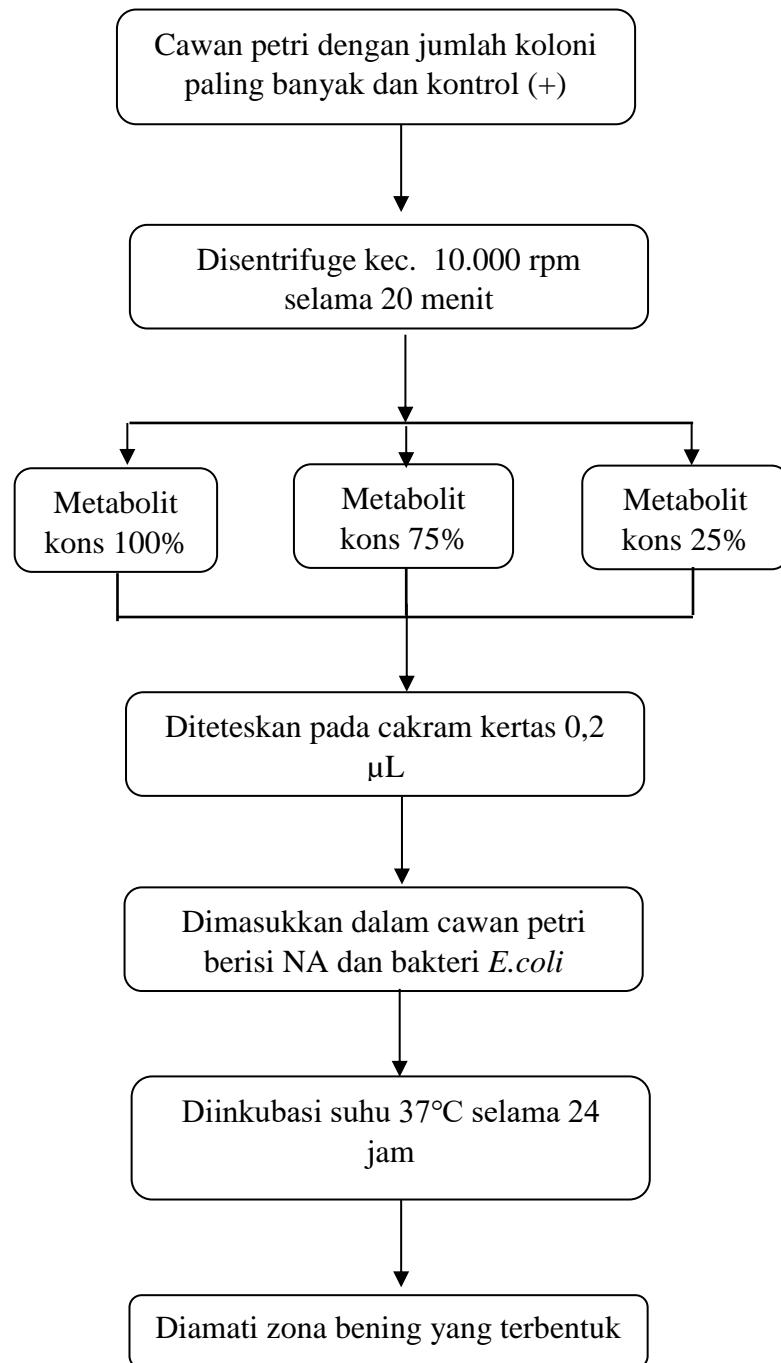


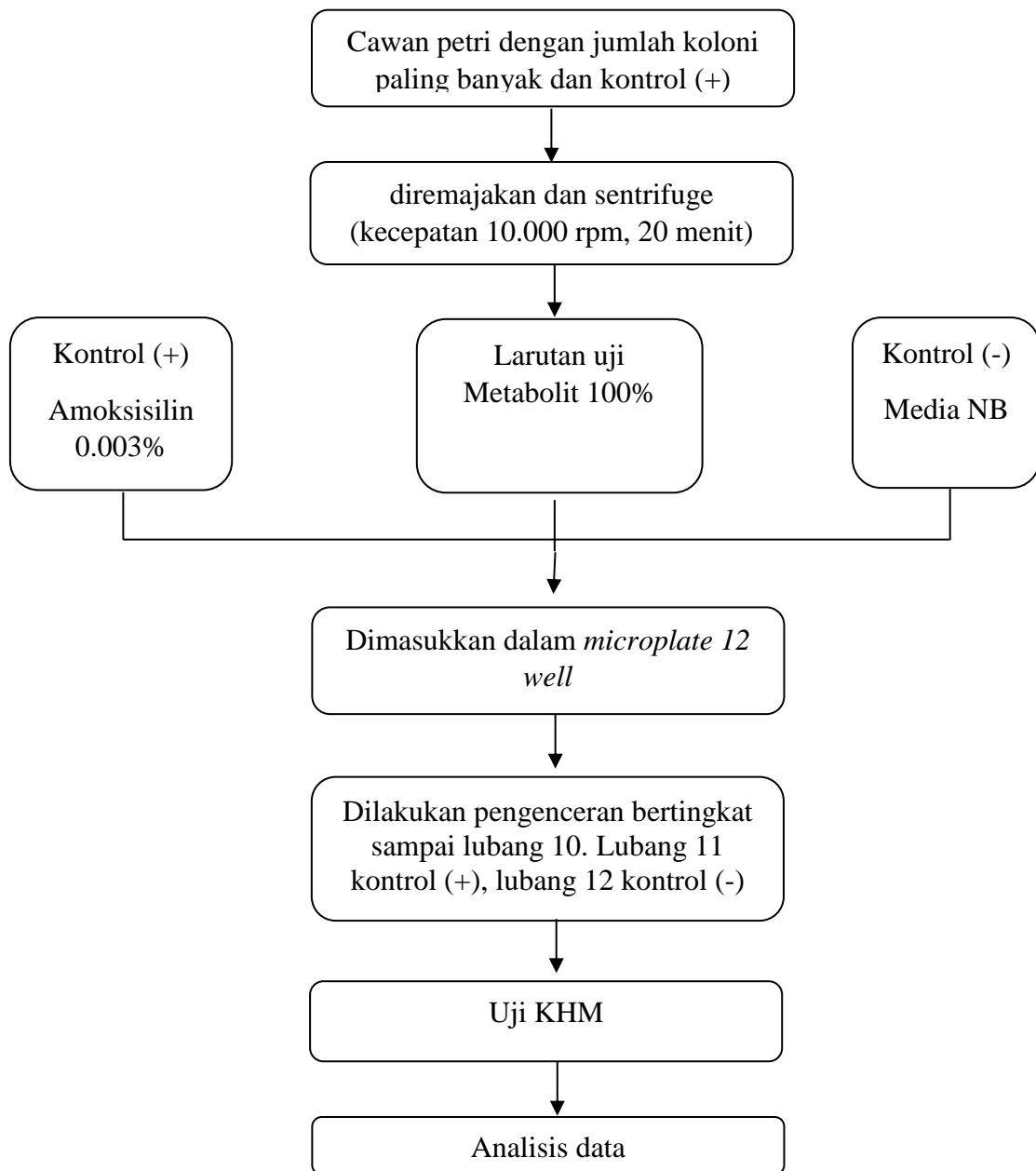
Lampiran 2. Pemeriksaan fisik dan analisa kandungan VCO



Lampiran 3. Uji Pertumbuhan Bakteri



Lampiran 4. Uji Aktivitas Antibakteri

Lampiran 5. Uji KHM

Lampiran 6. Perhitungan Larutan

1. Perhitungan VCO

VCO 15 %

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100\% \times V_1 = 15\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{15\% \times 10 \text{ mL}}{100\%} = 1,5 \text{ mL ad 10 mL DMSO 10\%}$$

1 mL VCO 15% + 1 mL *L. bulgaricus* ad 10 mL NaCl

VCO 10%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$15\% \times V_1 = 10\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{10\% \times 10 \text{ mL}}{15\%} = 6,67 \text{ mL ad 10 mL DMSO 10\%}$$

1 mL VCO 10% + 1 mL *L. bulgaricus* ad 10 mL NaCl

VCO 5%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$10\% \times V_1 = 5\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{5\% \times 10 \text{ mL}}{10\%} = 5 \text{ mL ad 10 mL DMSO 10\%}$$

1 mL VCO 5% + 1 mL *L. bulgaricus* ad 10 mL NaCl

VCO 1%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$5\% \times V_1 = 1\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1\% \times 10 \text{ mL}}{5\%} = 2 \text{ mL ad 10 mL DMSO 10\%}$$

1 mL VCO 1% + 1 mL *L. bulgaricus* ad 10 mL NaCl

2. Perhitungan Metabolit (Uji Aktivitas Antibakteri)

Metabolit 100%

100% metabolit = 10 mL metabolit dalam labu ukur 10 mL.

Metabolit 75%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100\% \times V_1 = 75\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{75\% \times 10 \text{ mL}}{100\%} = 7.5 \text{ mL}$$

7.5 mL metabolit 100% ad 10 mL aquadest

Metabolit 25%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$75\% \times V_1 = 25\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{25\% \times 10 \text{ mL}}{75\%} = 6.6667 \text{ mL}$$

3,33 mL metabolit 75% ad 10 mL aquadest

3. Perhitungan Metabolit (Uji KHM)

75%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$100\% \times V_1 = 75\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{75\% \times 6 \text{ mL}}{100\%} = 4,5 \text{ mL}$$

4,5 mL metabolit 100% dimasukkan dalam lubang 1 microplate 12 well.

37,5%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$75\% \times V_1 = 37.5\% \times 6 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{37,5\% \times 6 \text{ mL}}{75\%} = 3 \text{ mL}$$

3 mL metabolit 75% pada lubang 1 dimasukkan dalam lubang 2.

Lampiran 7. Hasil Pemeriksaan Fisik VCO

No	Uji	Hasil	Ket.
1	Pemeriksaan warna		Tak berwarna
2	Pemeriksaan bau		Bau spesifik kelapa, sedikit tengik
3	Indeks bias		1,4546

Lampiran 8. Sertifikat Uji Pemeriksaan Indeks Bias VCO



SURAT TANDA UJI

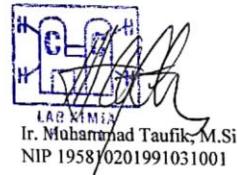
Nomor : 124/PL6.I.14.1/A/2020

Nama Pelanggan	:	Ulfie
NIM	:	08061181722021
Perusahaan/Instansi	:	Farmasi UNSRI
Alamat	:	Jl.Inspektur Marzuki Lt.Karyawan 1
Nama Sample	:	Virgin Coconut Oil
Jumlah Sample	:	1 (satu) botol
Tanggal Diterima	:	24 November 2020
Status Sampel	:	Sesuai dengan yang diterima

Nama Sample	Parameter Uji	Metode Uji	Hasil Analisis
Virgin Coconut Oil	Indeks Bias	Refraktometer	1,4546

Nomor contoh : 124/11-20/Lab.TK

Palembang, 24 November 2020
Kepala Laboratorium Analisa


 LAB KIMIA
 Ir. Muhammad Taufik, M.Si
 NIP 1958/0201991031001

Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan Kadar Air

Perlakuan	Hasil	Keterangan
Porselen kosong		39,07g 39,07 g 39,07 g
Porselen+minyak (sebelum)		42,07 g 42,07 g 42,07 g
Porselen+minyak (sesudah)		42,07 g 42,07 g 42,07 g

Berat awal: $42,07 - 39,07 = 3,00 \text{ g}$

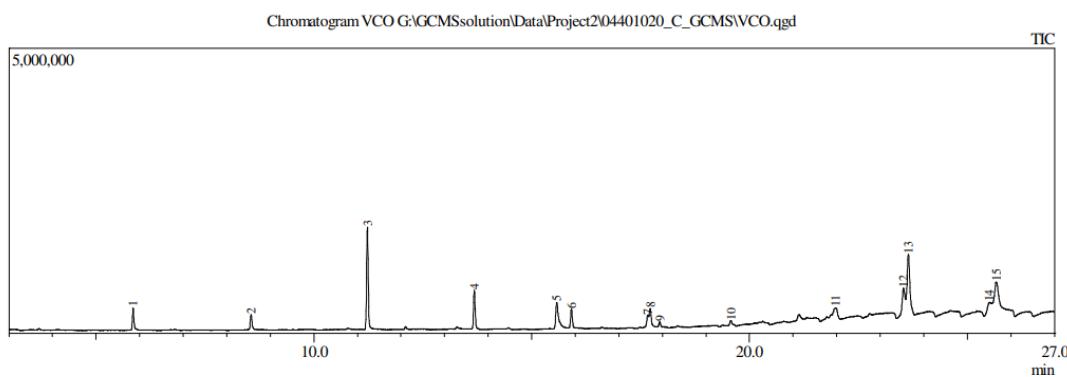
Berat akhir: $42,07 - 39,07 = 3,00 \text{ g}$

$$\begin{aligned} \% \text{kadar air} &= \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\% \\ &= \frac{3,00 \text{ g} - 3,00 \text{ g}}{3,00 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0\% \end{aligned}$$

Lampiran 10. Hasil Pemeriksaan Bobot Jenis

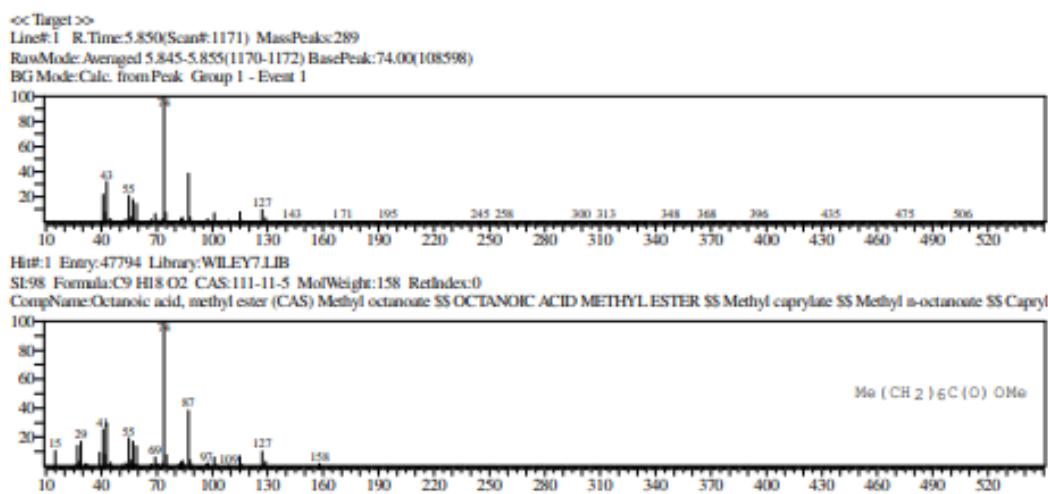
Perlakuan	Hasil	Ket.
Piknometer+VCO		24,20 g 24,21 g 24,20 g
Piknometer kosong		15,60 g 15,60 g 15,60 g
Volume VCO		9,40 mL 9,45 mL 9,40 mL
Bobot jenis 1,3	$= \frac{(bobot\ pikno+minyak)-(pikno\ kosong)}{volume\ minyak}$ $= \frac{24,20\ g - 15,60\ g}{9,40\ mL}$ $= 0,9149$	
Bobot jenis 2	$= \frac{(bobot\ pikno+minyak)-(pikno\ kosong)}{volume\ minyak}$ $= \frac{24,21\ g - 15,60\ g}{9,45\ mL}$ $= 0,9111$	
Rata-rata bobot jenis	$= \frac{0,9149 + 0,9111 + 0,9149}{3} = 0,9136$	

Lampiran 11. Hasil Analisis Kandungan Asam Lemak dalam VCO dengan Kromatografi Gas (GC)



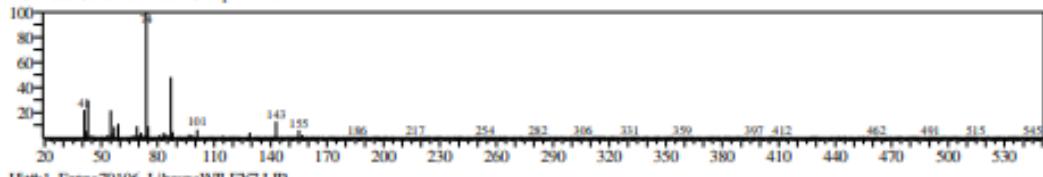
No.	Peak	Waktu retensi (menit)	Luas area(%)	Nama senyawa	Similarity Index (%)
1.	1	5.850	3.62	Asam kaprilat	96
2.	2	8.560	2.69	Asam kaprat	97
3.	3	11.230	17.92	Asam laurat	97
4.	4	13.685	6.88	Asam miristat	97
5.	6	15.912	3.47	Asam palmitat	96
6.	8	17.723	3.68	Asam oleat	94
7.	9	17.941	0.81	Asam stearat	94

Lampiran 12. Hasil Analisis Asam Lemak VCO dengan Spektrometri Massa (MS)



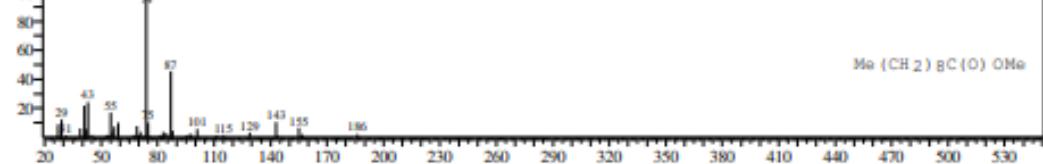
<< Target >>

Line#2 R.Time:8.560(Scan#:1713) MassPeaks:313
 RawMode:Averaged 8.555-8.565(1712-1714) BasePeak:74.00(70382)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



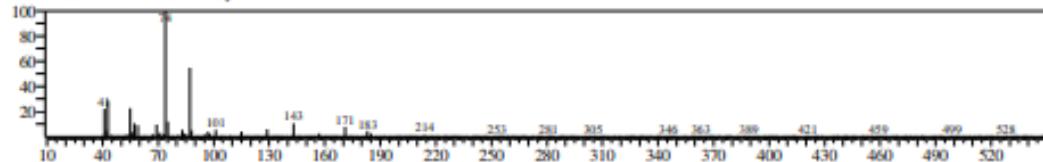
Hit#:1 Entry:79106 Library:WILEY7.LIB

SI#97 Formula:C11 H22 O2 CAS:110-42-9 MolWeight:186 RetIndex:0
 CompName:Decanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl caprate \$S\$ Methyl decanoate \$S\$ Capric acid methyl ester \$S\$ Uniprot A30 \$S\$ Metholene 2095 \$S\$ Methyl



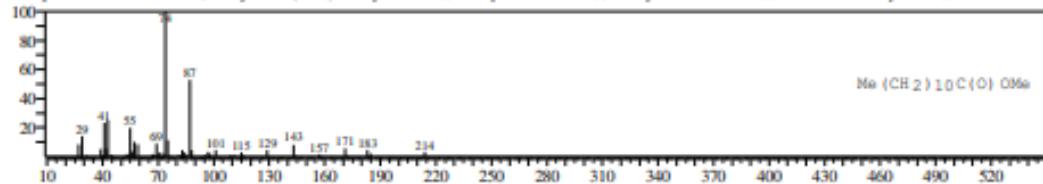
<< Target >>

Line#3 R.Time:11.230(Scan#:2247) MassPeaks:333
 RawMode:Averaged 11.225-11.235(2246-2248) BasePeak:74.00(449532)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



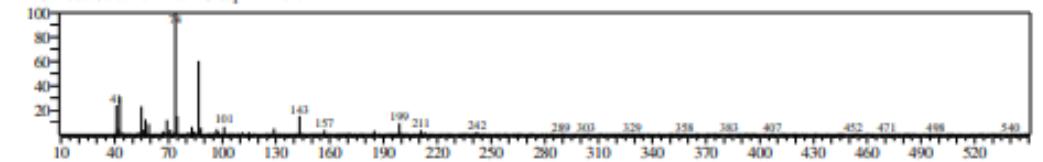
Hit#:1 Entry:113510 Library:WILEY7.LIB

SI#97 Formula:C13 H26 O2 CAS:111-82-0 MolWeight:214 RetIndex:0
 CompName:Dodecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl laurate \$S\$ Methyl dodecanoate \$S\$ Lauric acid methyl ester \$S\$ Metholene 22



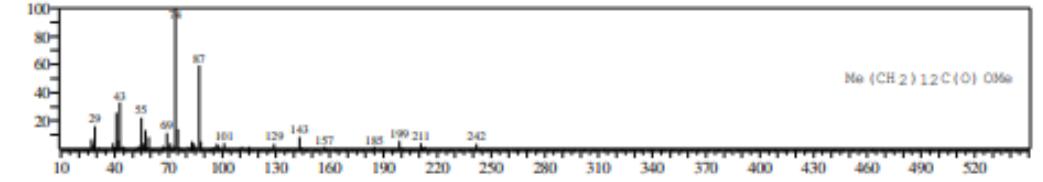
<< Target >>

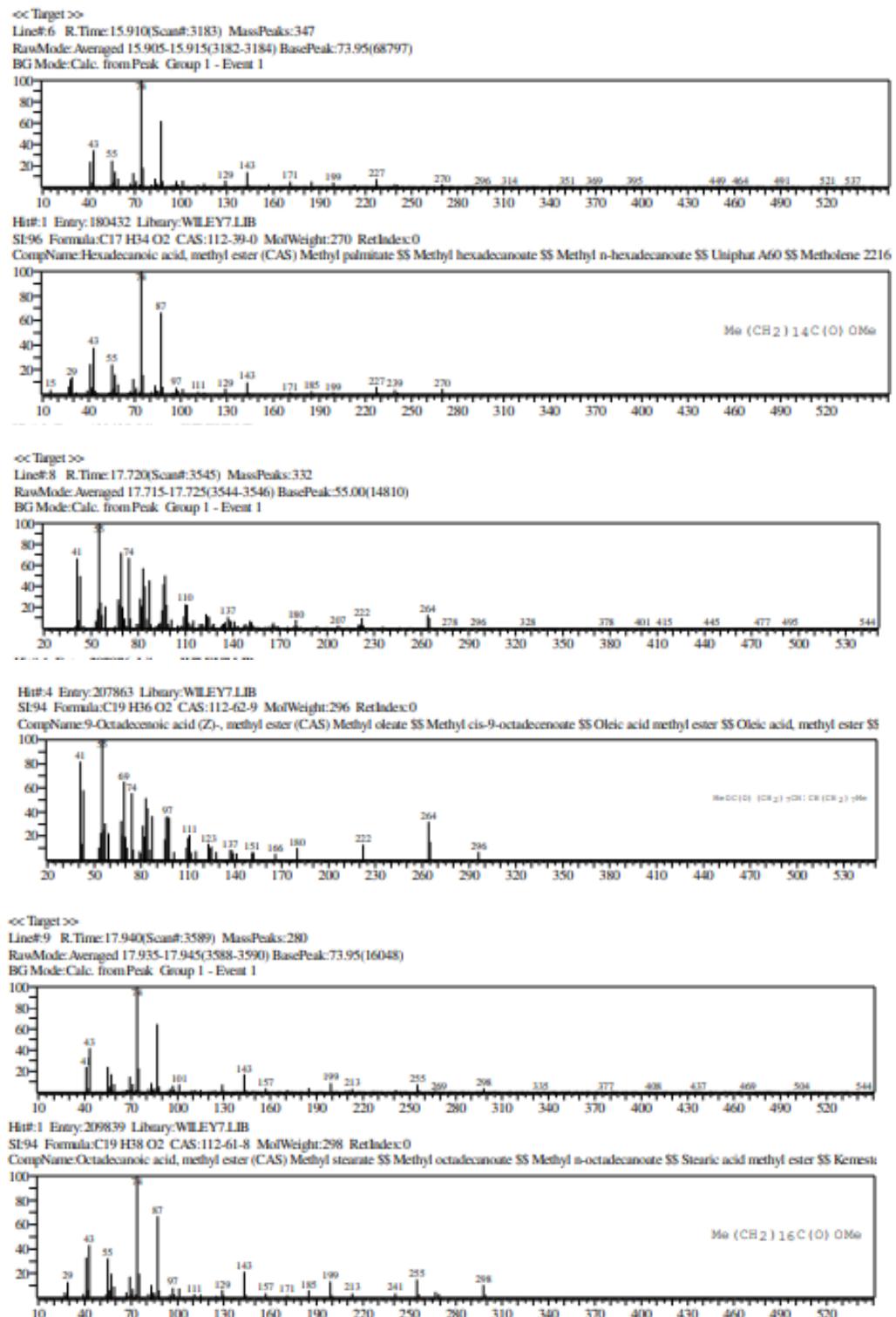
Line#4 R.Time:13.685(Scan#:2738) MassPeaks:298
 RawMode:Averaged 13.680-13.690(2737-2739) BasePeak:74.00(151523)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:148370 Library:WILEY7.LIB

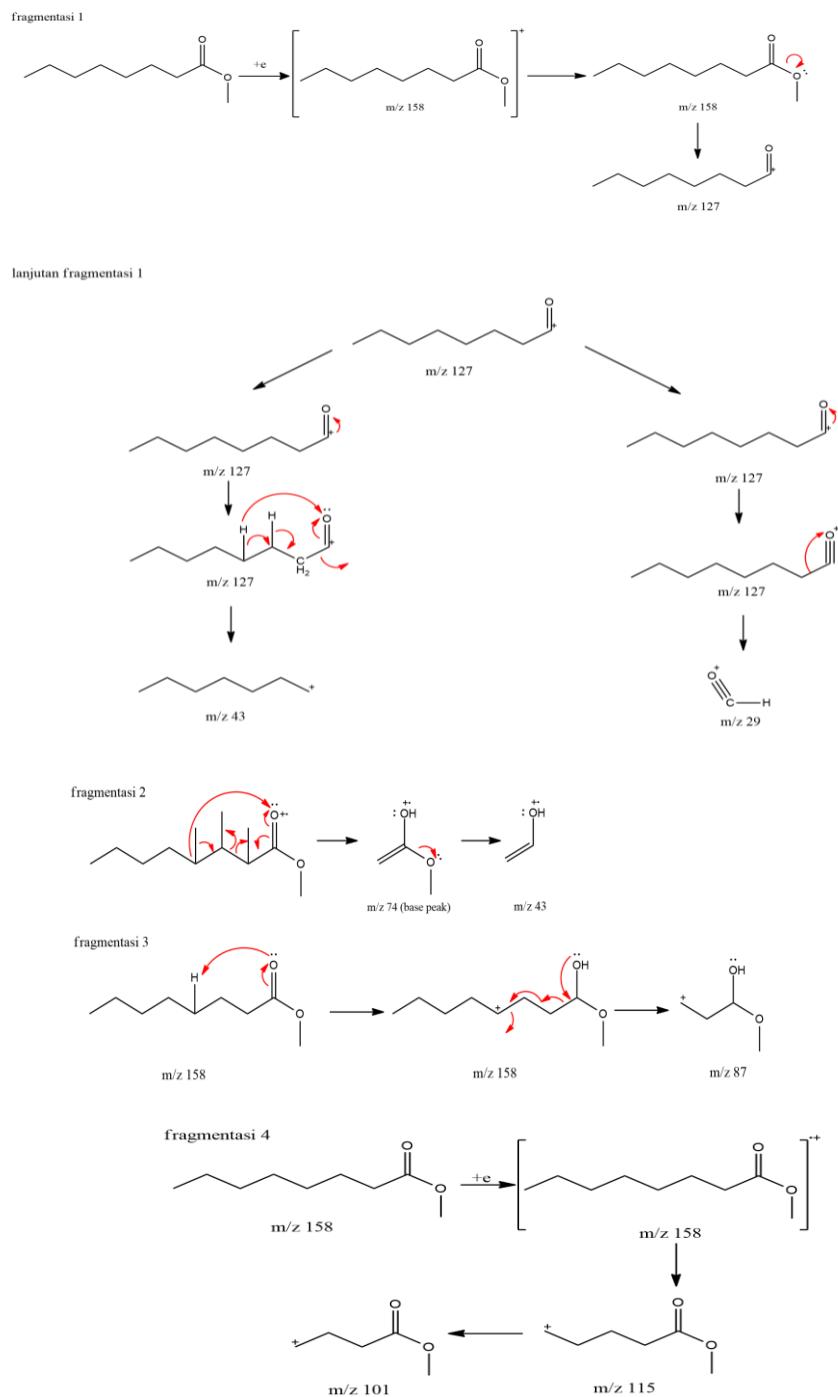
SI#97 Formula:C15 H30 O2 CAS:124-10-7 MolWeight:242 RetIndex:0
 CompName:Tetradecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl myristate \$S\$ Methyl tetradecanoate \$S\$ Methyl n-tetradecanoate \$S\$ Myristic acid methyl ester \$S\$ Uni





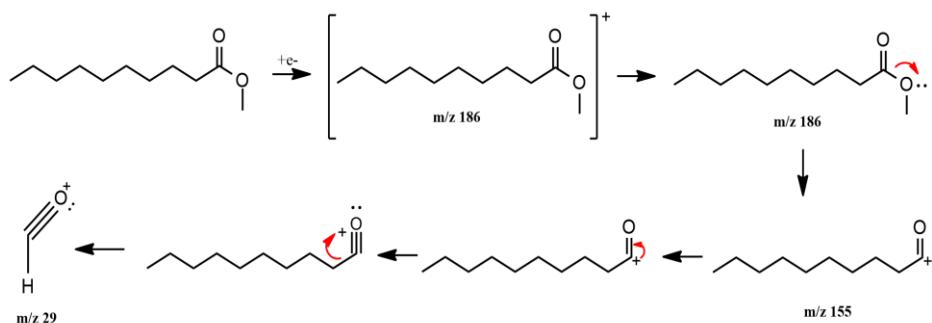
Lampiran 13. Pola Fragmentasi Asam Lemak VCO Hasil Pengujian Dengan GC-MS

a. Pola Fragmentasi Asam Kaprilat

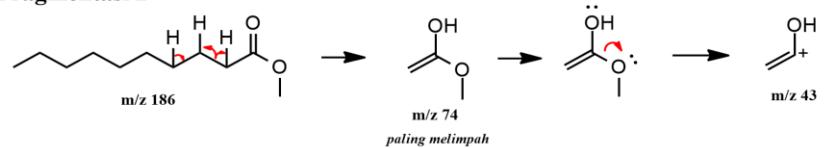


b. Pola Fragmentasi Asam Kaprat

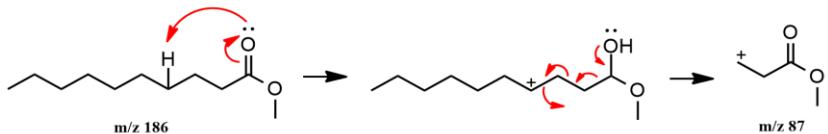
Fragmentasi 1



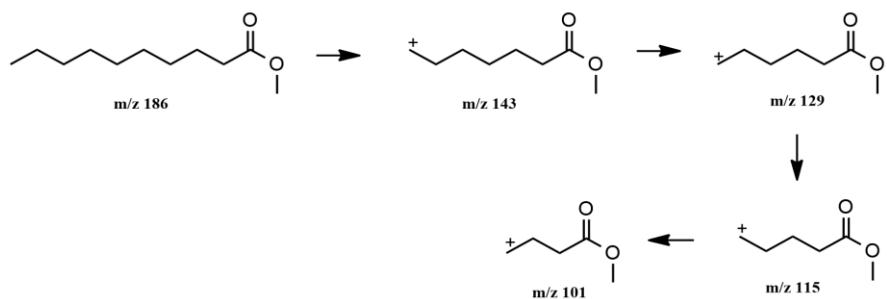
Fragmentasi 2



Fragmentasi 3

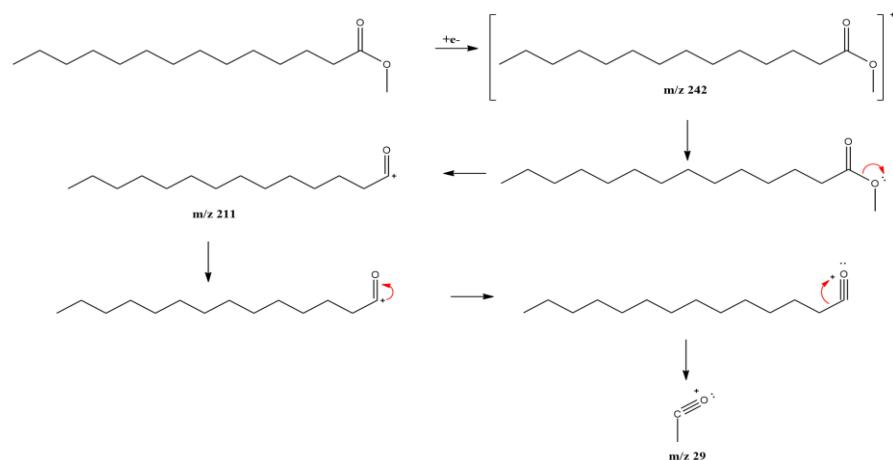


Fragmentasi 4

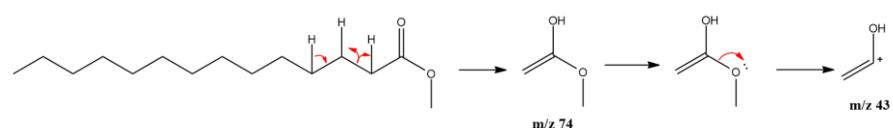


c. Pola Fragmentasi Asam Miristat

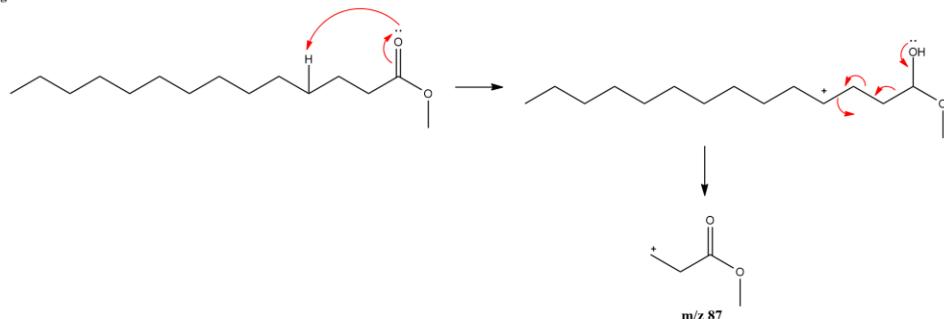
Fragmentasi 1



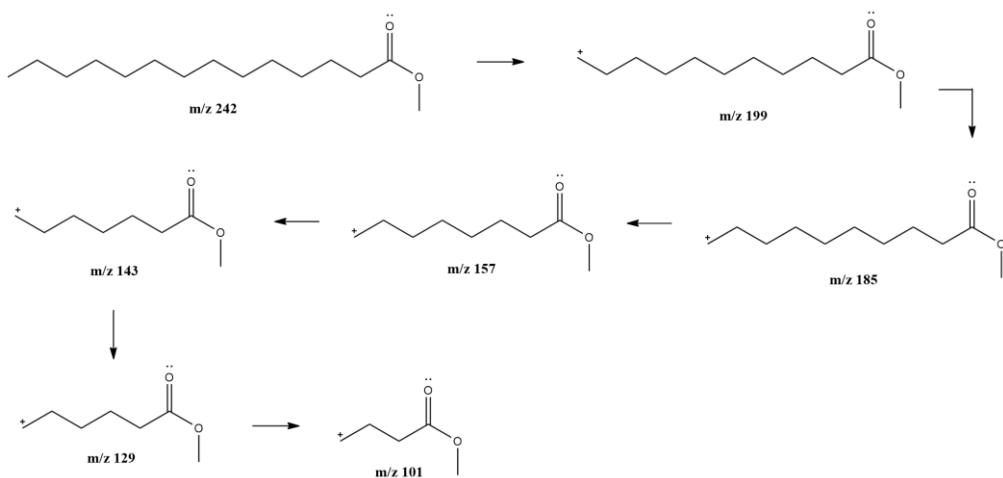
Fragmentasi 2



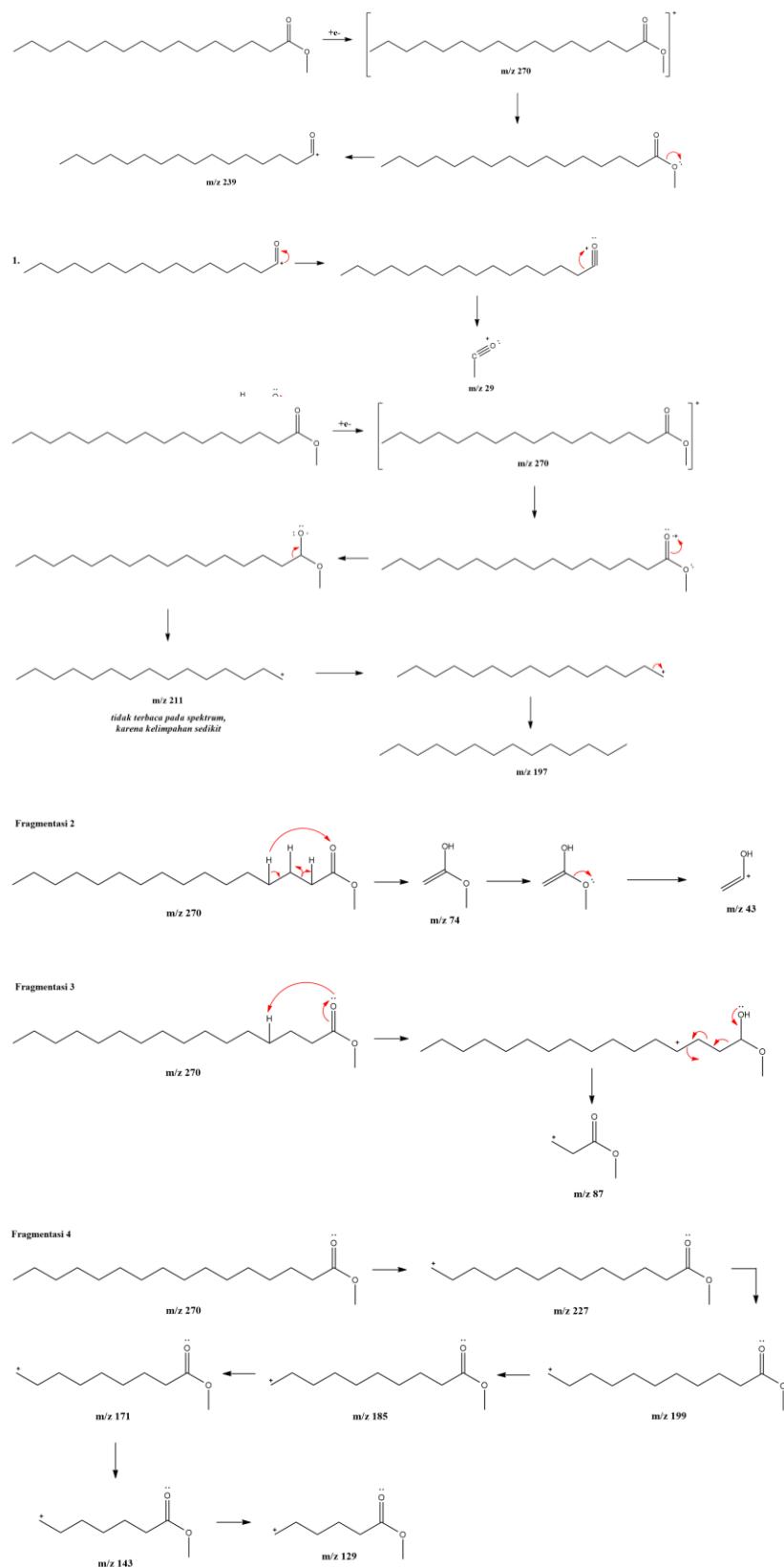
Fragmentasi 3



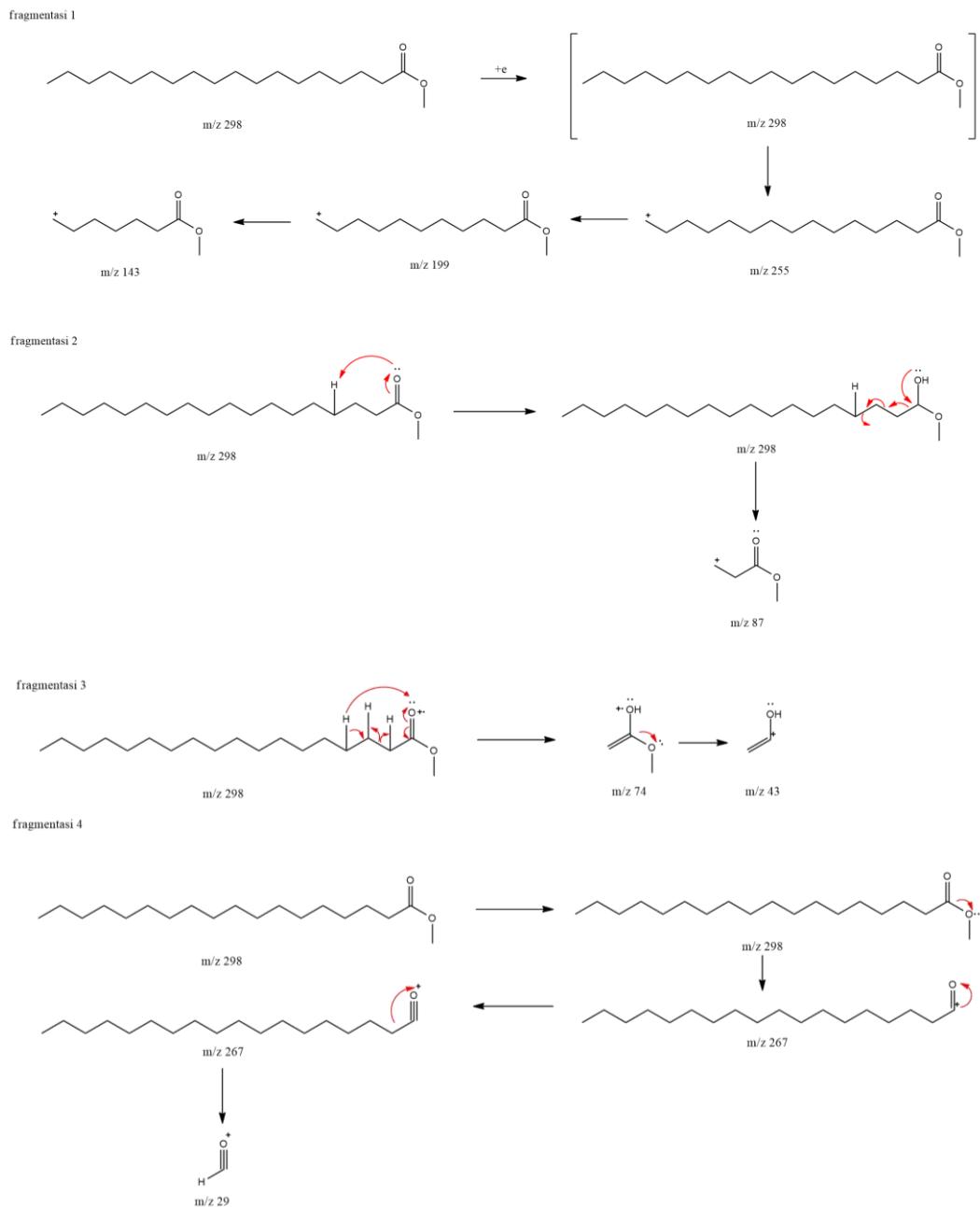
Fragmentasi 4



d. Pola Fragmentasi Asam Palmitat



e. Pola Fragmentasi Asam Stearat



Lampiran 14. Sertifikat Pengujian Kandungan Asam Lemak VCO Dengan GCMS



**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
LABORATORIUM TERPADU**

LAB. INSTRUMENTASI, FISIKA DASAR DAN KIMIA DASAR
Jl Kalurang Km 14,5 Yogyakarta 55584 Telp. (0274) 895929 ext. 4821, 4844, Fax (0274) 896439 ext. 3820
Website: <http://labuii.ac.id>, e-mail: lab.terpadu@uii.ac.id

No. Dok : Form-37/Sert. Uji Rev. 0
Tgl. Terbit : 16-Nov-2020

Nomor : 04401020B/LTUII/XI/2020
Number
Halaman : 1 dari 1
Page 1 of 1

SERTIFIKAT PENGUJIAN
Certificate Of Testing

<u>Dibuat untuk</u> Certified to	:	ulf
<u>Jenis/Nama Sampel</u> Type/Name of sample	:	Cair (VCO); Cair (minyak kelapa)
<u>Asal Sampel</u> Origin of sample	:	universitas sriwijaya
<u>Jumlah Sampel</u> Amount of sample	:	1; 1
<u>Kode Sampel</u> Sample code	:	04401020/C/LTUII/1; 04401020/C/LTUII/2
<u>Parameter</u> Parameters	:	Ester; Ester
<u>Tanggal Pengambilan Sampel</u> Sample taken on	:	
<u>Tanggal Penerimaan Sampel</u> Sample received on	:	26-Oct-2020
<u>Tanggal Pengujian Sampel</u> Sample tested on	:	27-Oct-2020 - 05-Nov-2020

Lampiran 15. Sertifikat Media (MRSA dan MRSB) Bakteri *L. bulgaricus*

Certificate of Analysis



1.10660.0000 MRS agar (de MAN, ROGOSA and SHARPE) acc. ISO 15214
Batch VM884260

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear	clear
Appearance (color)	brown	brown
pH-value (25 °C)	5.6 - 5.8	5.6
Solidification behaviour (2 hrs., 45 °C)	liquid	liquid

Growth promotion test in accordance with the current version of DIN EN ISO 11133.

	Spec. Values	Batch Values
Inoculum on reference medium (Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 (WDCM 00098))		162
Inoculum on reference medium (Lactobacillus sakei ATCC 15521 (WDCM 00015))		112
Inoculum on reference medium (Lactococcus lactis spp. lactis ATCC 19435 (WDCM 00016))		126
Inoculum on reference medium (Pediococcus pentosaceus ATCC 33316 (WDCM 00158))		188
Inoculum on reference medium (Pediococcus damnosus ATCC 29358 (WDCM 00022))		236
Colony count (Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 (WDCM 00098))		133
Colony count (Lactobacillus sakei ATCC 15521 (WDCM 00015))		97
Colony count (Lactococcus lactis spp. lactis ATCC 19435 (WDCM 00016))		116
Colony count (Pediococcus pentosaceus ATCC 33316 (WDCM 00158))		186
Colony count (Pediococcus damnosus ATCC 29358 (WDCM 00022))		232
Recovery on test medium (Lactobacillus sakei ATCC 15521 (WDCM 00015)) ≥ 70	%	82 %
Recovery on test medium (Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 (WDCM 00098)) ≥ 70	%	87 %
Recovery on test medium (Lactococcus lactis spp. lactis ATCC 19435 (WDCM 00016)) ≥ 70	%	92 %
Recovery on test medium (Pediococcus pentosaceus ATCC 33316 (WDCM 00158)) ≥ 70	%	99 %
Recovery on test medium (Pediococcus damnosus ATCC 29358 (WDCM 00022)) ≥ 70	%	98 %
Growth (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	total inhibition	passes test
Growth (Escherichia coli ATCC 8739 (WDCM 00012))	total inhibition	passes test
Growth (Bacillus cereus ATCC 11778 (WDCM 00001))	total inhibition	passes test



Certificate of Analysis

1.10661.0000 MRS broth Lactobacillus broth acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE for
Batch microbiology
VM853561

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear	clear
Appearance (color)	brown	brown
pH-value (25 °C)	5.5 - 5.9	5.7
	Spec. Values	Batch Values
Growth (Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 (WDCM 00098))	good to very good	very good
Growth (Lactobacillus plantarum ATCC 8014)	good to very good	very good
Growth (Lactobacillus casei ATCC 393 (WDCM 00100))	good to very good	very good
Growth (Lactobacillus fermentum ATCC 9338)	good to very good	very good
Growth (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025))	none	none

Incubation: 48 hrs.; 35 °C; aerobic.

Date of release (DD.MM.YYYY) 18.10.2018
Expiry date (DD.MM.YYYY) 05.10.2023

Stefanie Fischer
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

Lampiran 16. Sertifikat Media (NA dan NB) bakteri *E. coli*



Specification

1.05450.0500 Nutrient agar acc. ISO 6579, ISO 10273 and ISO 21528

Specification		
Appearance (clearness)	clear to slightly opalescent	
Appearance (colour)	yellowish-brown	
pH-value (25 °C)	6.8 - 7.2	
Solidification behaviour (2 hrs., 45 °C)	liquid	
Growth promotion test in accordance with the current version of DIN EN ISO 11133.		
Specification		
Inoculum on reference medium (<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 (WDCM 00012))		
Inoculum on reference medium (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (WDCM 00013))		
Inoculum on reference medium (<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 (WDCM 00031))		
Inoculum on reference medium (<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076 (WDCM 00030))		
Inoculum on reference medium (<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610 (WDCM 00036))		
Inoculum on reference medium (<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 23715 (WDCM 00160))		
Inoculum on reference medium (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (WDCM 00034))		
Colony count (<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 (WDCM 00012))		
Colony count (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (WDCM 00013))		
Colony count (<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 (WDCM 00031))		
Colony count (<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076 (WDCM 00030))		
Colony count (<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610 (WDCM 00038))		
Colony count (<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 23715 (WDCM 00160))		
Colony count (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (WDCM 00034))		
Recovery on test medium (<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 (WDCM 00012))	≥ 70	%
Recovery on test medium (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (WDCM 00013))	≥ 70	%
Recovery on test medium (<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 (WDCM 00031))	≥ 70	%
Recovery on test medium (<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076 (WDCM 00030))	≥ 70	%

Specification

1.05450.0500 Nutrient agar acc. ISO 6579, ISO 10273 and ISO 21528

Recovery on test medium (Yersinia enterocolitica ATCC 9810 (WDCM 00038))	≥ 70	%
Recovery on test medium (Yersinia enterocolitica ATCC 23715 (WDCM 00160))	≥ 70	%
Recovery (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM00034))	≥ 70	%

Incubation:
24 ± 2 at 37 ± 1 °C aerobic
Yersinia 24 ± 2 hours at 30 ± 1 °C aerobic

A recovery rate of 70 % is equivalent to a productivity value of 0.7.
The indicated colony counts result from the sum of a triple determination.
Reference media: Tryptic Soy Agar

Stefanie Fischer
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.



Specification

1.05443.0500 Nutrient broth acc. FDA-BAM GranuCult®

Specification	
Appearance (clearness)	clear
Appearance (color)	yellowish to yellowish-brown
pH-value (25 °C)	6.6 - 7.0

Growth promotion test in accordance with the current version of DIN EN ISO 11133.

Specification	
Inoculum on reference medium (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	≤ 100
Inoculum on reference medium (Streptococcus pyogenes ATCC 12344)	≤ 100
Inoculum on reference medium (Listeria monocytogenes ATCC 19118)	≤ 100
Inoculum on reference medium (Bacillus cereus ATCC 11778 (WDCM 00001))	≤ 100
Inoculum on reference medium (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	≤ 100
Inoculum on reference medium (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	≤ 100
Inoculum on reference medium (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025))	≤ 100
Growth (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	fair to very good
Growth (Streptococcus pyogenes ATCC 12344)	fair to very good
Growth (Listeria monocytogenes ATCC 19118)	fair to very good
Growth (Bacillus cereus ATCC 11778 (WDCM 00001))	fair to very good
Growth (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	fair to very good
Growth (Salmonella typhimurium ATCC 14028 (WDCM 00031))	fair to very good
Growth (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025))	fair to very good

Incubation: 24 ± 2 hours at 37 ± 1 °C, aerobic
Reference media: Tryptic Soy Agar

Stefanie Fischer
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
400 Summit Drive, Burlington, MA 01803, USA, Phone +1 (781) 533-6000
SALSA Version 787412 / 0200000000001 Date: 20.12.2018

Page 1 of 1

Lampiran 17. Sertifikat bakteri *E. coli*

bioMérieux Customer: System #: 7969	Printed Jan 7, 2020 01:03 ICT Printed by: LabTech						
Patient Name: ATCC 25922,- Isolate: QC ATCC E. coli-1 (Approved)	Patient ID: QC ATCC E. coli						
Card Type: GN Bar Code: 2410915403308692 Testing Instrument: 0000148FF2BD (7969) Card Type: AST-GN93 Bar Code: 6831062103401585 Testing Instrument: 0000148FF2BD (7969) Setup Technologist: Laboratory Technician(LabTech)							
Bionumber: 0405611560526600 Organism Quantity:	Selected Organism: <i>Escherichia coli</i>						
<table border="1"> <tr> <td>Comments:</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> </tr> </table>		Comments:					
Comments:							
Identification Information	Card: GN Completed: Dec 17, 2019 15:06 ICT Lot Number: 2410915403	Expires: Feb 19, 2021 12:00 ICT					
Organism Origin	VITEK 2						
Selected Organism	96% Probability Bionumber: 0405611560526600	Escherichia coli Confidence: Excellent identification					
SRF Organism							
Analysis Organisms and Tests to Separate:							
Analysis Messages:							
Contraindicating Typical Biopattern(s) <i>Escherichia coli</i> dTAG(22),PHOS(81),							
<small>Installed VITEK 2 Systems Version: 08.01 MIC Interpretation Guideline: Global CLSI-based 2019 Therapeutic Interpretation Guideline: NATURAL RESISTANCE 2019 AES Parameter Set Name: Global CLSI-based+Natural Resistance (2019) AES Parameter Last Modified: Feb 20, 2019 13:28 ICT</small>							
Page 1 of 2							

Lampiran 18. Surat bakteri *L. bulgaricus*



UNIVERSITAS GADJAH MADA
PUSAT STUDI PANGAN DAN GIZI

SERTIFIKAT BIAKAN MURNI

No. : PSPG/0303/III/19

STRAIN Bakteri : *Lactobacillus bulgaricus FNCC - 0041*

Bentuk : Agar tegak

Media Inokulasi : MRS Agar

Cara inokulasi : Ampul dibuka secara aseptis dengan memotong ampul, diteteskan ke dalamnya dua tetes larutan natrium klorida fisiologis steril/broth dan suspensi yang terbentuk di inokulasi ke Media MRS Cair kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Satu ose biakan dari MRS cair tusukkan ke MRS tegak dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Pemeliharaan : Biakan dari agar tegak dipindahkan 1 bulan sekali ke agar tegak yang baru dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Penyimpanan : Biakan di agar tegak disimpan pada suhu lebih kurang 4°C.

Yogyakarta, 46 Maret 2019



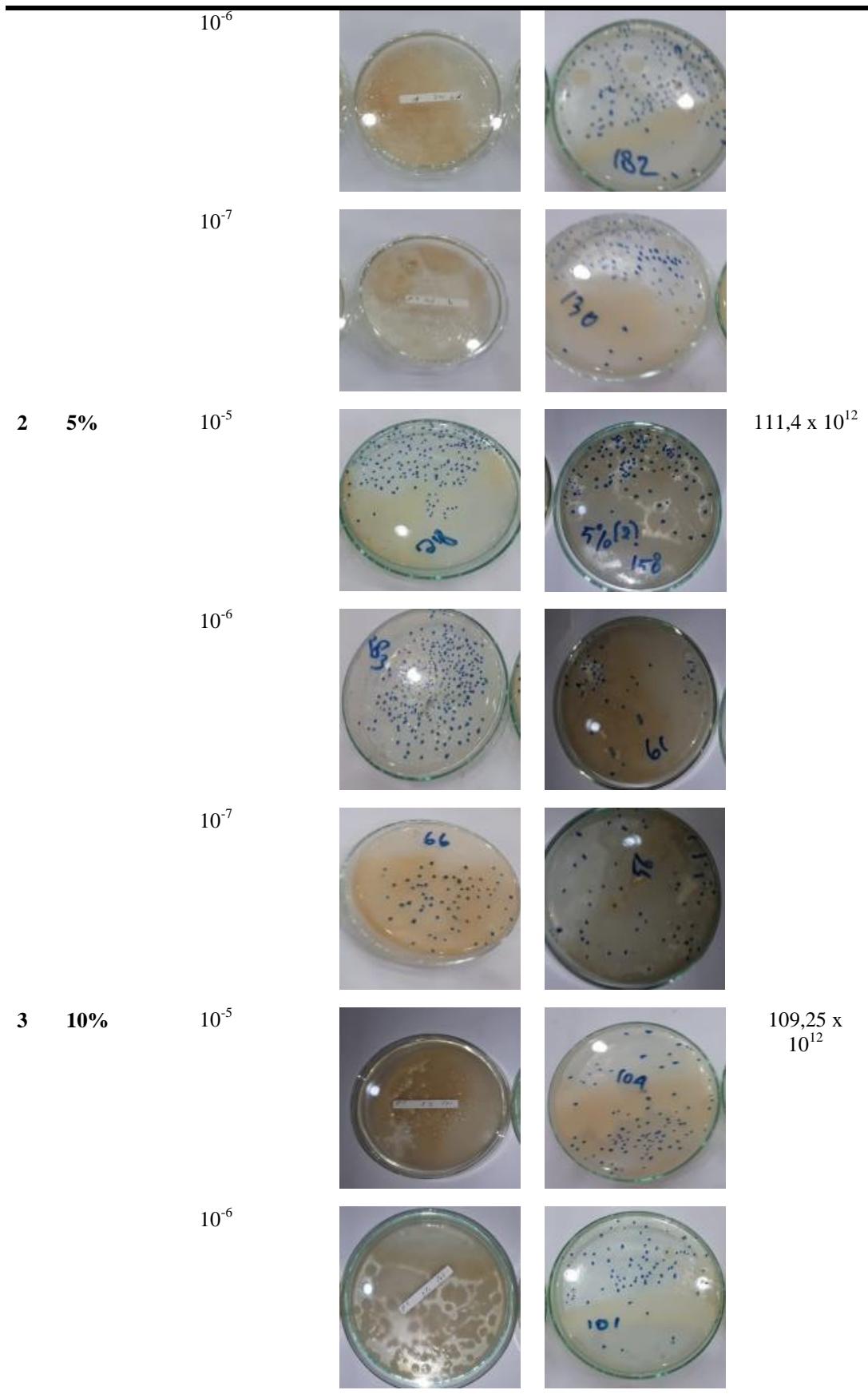
Prof. Dr. Bambang S. Rahayu, MS.

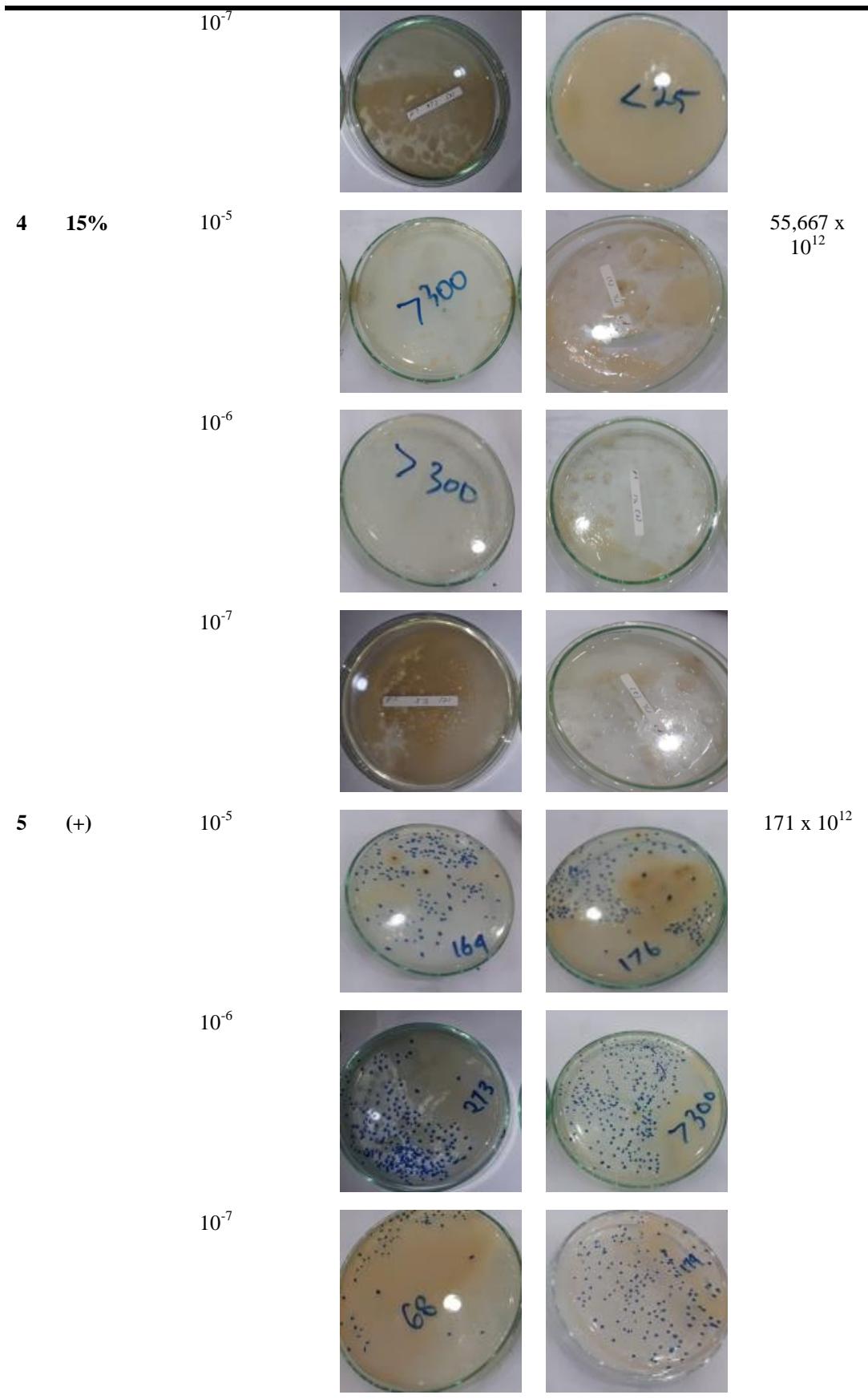
Lampiran 19. Hasil Uji Viabilitas Bakteri *L. bulgaricus*

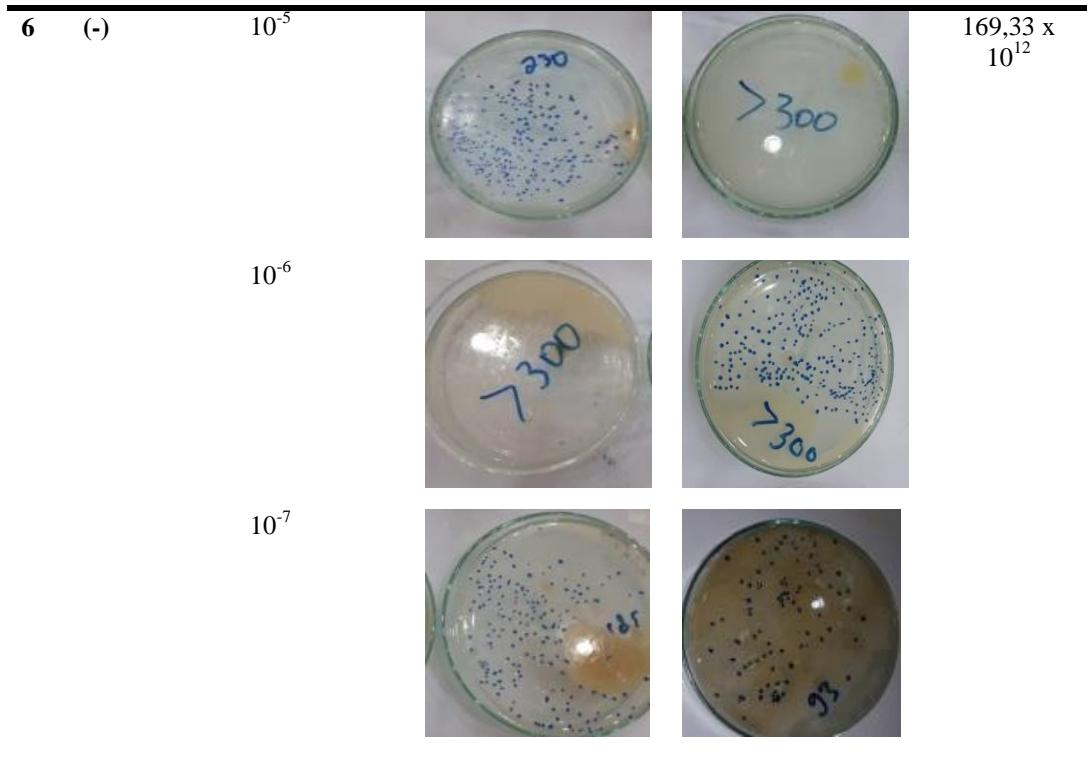
No	Konsentrasi	Pengenceran	Cawan 1	Cawan 2	Jumlah mikroba (log cfu/mL)
1	1%	10^{-5}	218	TBUD	$150,8 \times 10^{12}$
		10^{-6}	190	182	
		10^{-7}	32	132	
2	5%	10^{-5}	218	156	$111,4 \times 10^{12}$
		10^{-6}	TBUD	61	
		10^{-7}	66	56	
3	10%	10^{-5}	TBUD	104	$109,25 \times 10^{12}$
		10^{-6}	122	101	
		10^{-7}	110	TBUD	
4	15%	10^{-5}	TBUD	52	$55,667 \times 10^{12}$
		10^{-6}	TBUD	56	
		10^{-7}	59	TBUD	
5	(+)	10^{-5}	164	176	171×10^{12}
		10^{-6}	273	TBUD	
		10^{-7}	68	174	
6	(-)	10^{-5}	230	TBUD	$169,33 \times 10^{12}$
		10^{-6}	TBUD	273	
		10^{-7}	185	93	

*TBUD (Tidak Bisa Untuk Dihitung) : yang tidak termasuk ke dalam rentang 25-250 koloni per cawan

No	Konsentrasi	Pengenceran	Cawan 1	Cawan 2	Jumlah mikroba (log cfu/mL)
1	1%	10^{-5}			$150,8 \times 10^{12}$







Konsentrasi 1% $= \frac{218+190+132+182+32}{(1 \times 10^{-5})+(1 \times 10^{-6})+(2 \times 10^{-7})10^{-5}} = 150,8 \times 10^{12}$

Konsentrasi 5% $= \frac{218+66+61+156+56}{(2 \times 10^{-5})+(1 \times 10^{-6})+(2 \times 10^{-7})10^{-5}} = 111,4 \times 10^{12}$

Konsentrasi 10% $= \frac{122+110+104+101}{(1 \times 10^{-5})+(2 \times 10^{-6})+(1 \times 10^{-7})10^{-5}} = 109,25 \times 10^{12}$

Konsentrasi 15% $= \frac{59+52+56}{(1 \times 10^{-5})+(1 \times 10^{-6})+(1 \times 10^{-7})10^{-5}} = 55,667 \times 10^{12}$

Konsentrasi (+) $= \frac{164+273+68+176+174}{(2 \times 10^{-5})+(1 \times 10^{-6})+(2 \times 10^{-7})10^{-5}} = 171 \times 10^{12}$

konsentrasi (-) $= \frac{230+185+93}{(1 \times 10^{-5})+(1 \times 10^{-6})+(1 \times 10^{-7})10^{-5}} = 169,33 \times 10^{12}$

Lampiran 20. Hasil Uji Statistika Uji Viabilitas Bakteri Probiotik *L. bulgaricus*

a. Hasil uji statistika normalitas viabilitas probiotik *L. bulgaricus*

Tests of Normality

Konsen trasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
jumlah_koloni	.265	5	.200 [*]	.881	5	.315
	.334	5	.070	.811	5	.100
	.218	4	.	.920	4	.538
	.204	3	.	.993	3	.843
	.273	5	.200 [*]	.918	5	.516
	.255	3	.	.962	3	.627

Keterangan: p>0.05 = Data terdistribusi secara normal

p<0.05 = Data tidak terdistribusi secara normal

b. Hasil uji statistika homogenitas viabilitas probiotik *L. bulgaricus*

ANOVA

jumlah_koloni					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35206.557	5	7041.311	1.817	.158
Within Groups	73648.083	19	3876.215		
Total	108854.640	24			

Keterangan: p>0.05 = Varian kelompok yang dibandingkan homogen

P<0.05 = varian kelompok yang dibandingkan tidak homogen

c. Hasil uji statistika one way ANOVA viabilitas probiotik *L. bulgaricus*

ANOVA

jumlah_koloni					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24111.073	5	4822.215	1.334	.292
Within Groups	68680.767	19	3614.777		
Total	92791.840	24			

Keterangan: p>0.05 = tidak ada perbedaan antar kelompok

P<0.05 = ada perbedaan antar kelompok

d. Hasil uji statistika Post Hoc viabilitas probiotik *L. bulgaricus*

Multiple Comparisons

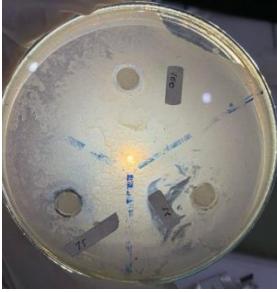
jumlah_koloni

LSD

(I) konsent rasi	(J) konsent rasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1%	5%	39.40000	39.37621	.330	-43.0154	121.8154
	10%	41.55000	41.76478	.332	-45.8647	128.9647
	15%	95.13333	45.46773	.050	-.0317	190.2984
	+	-20.20000	39.37621	.614	-102.6154	62.2154
	-	-18.53333	45.46773	.688	-113.6984	76.6317
5%	1%	-39.40000	39.37621	.330	-121.8154	43.0154
	10%	2.15000	41.76478	.959	-85.2647	89.5647
	15%	55.73333	45.46773	.235	-39.4317	150.8984
	+	-59.60000	39.37621	.147	-142.0154	22.8154
	-	-57.93333	45.46773	.218	-153.0984	37.2317
10%	1%	-41.55000	41.76478	.332	-128.9647	45.8647
	5%	-2.15000	41.76478	.959	-89.5647	85.2647
	15%	53.58333	47.55129	.274	-45.9427	153.1093
	+	-61.75000	41.76478	.156	-149.1647	25.6647
	-	-60.08333	47.55129	.222	-159.6093	39.4427
15%	1%	-95.13333	45.46773	.050	-190.2984	.0317
	5%	-55.73333	45.46773	.235	-150.8984	39.4317
	10%	-53.58333	47.55129	.274	-153.1093	45.9427
	+	-115.33333*	45.46773	.020	-210.4984	-20.1683
	-	-113.66667*	50.83447	.038	-220.0644	-7.2689
+	1%	20.20000	39.37621	.614	-62.2154	102.6154
	5%	59.60000	39.37621	.147	-22.8154	142.0154
	10%	61.75000	41.76478	.156	-25.6647	149.1647
	15%	115.33333*	45.46773	.020	20.1683	210.4984
	-	1.66667	45.46773	.971	-93.4984	96.8317
-	1%	18.53333	45.46773	.688	-76.6317	113.6984
	5%	57.93333	45.46773	.218	-37.2317	153.0984
	10%	60.08333	47.55129	.222	-39.4427	159.6093
	15%	113.66667*	50.83447	.038	7.2689	220.0644
	+	-1.66667	45.46773	.971	-96.8317	93.4984

Lampiran 21. Hasil Uji Antibakteri Metabolit Bakteri *L. bulgaricus* yang Ditambah dan Tidak Ditambahkan VCO Terhadap Bakteri *E. coli*

Perlakuan	Konsentrasi	Cawan	Panjang diameter	Respon Hambatan
Tdk ditambah VCO	100%	Cawan I	5,7±0,97	Sedang
		Cawan II	7,6±0,97	Sedang
		Cawan III	7,0±0,97	Sedang
	75%	Cawan I	6,0±1,01	Sedang
		Cawan II	6,1±1,01	Sedang
		Cawan III	4,3±1,01	Lemah
	25%	Cawan I	4,3±0,20	Lemah
		Cawan II	4,6±0,20	Lemah
		Cawan III	4,2±0,20	Lemah
Ditambah VCO	100%	Cawan I	4,2±1,54	Lemah
		Cawan II	7,0±1,54	Sedang
		Cawan III	4,5±1,54	Lemah
	75%	Cawan I	2,0±1,80	Lemah
		Cawan II	5,5±1,80	Sedang
		Cawan III	4,5±1,80	Lemah
	25%	Cawan I	1,8±1,56	Lemah
		Cawan II	4,6±1,56	Lemah
		Cawan III	4,5±1,56	Lemah

Perlakuan	Cawan I	Cawan II	Cawan III
Ditambah VCO			
Tidak ditambah VCO			

Lampiran 22. Hasil Uji Statistika Uji Antibakteri Metabolit Bakteri *L. bulgaricus* yang Ditambah dan Tidak Ditambah VCO Terhadap Bakteri *E. coli*

- Hasil Uji statistika Uji Antibakteri Metabolit Tanpa perlakuan (Tdk ditambah VCO)**
 - Hasil uji statistika normalitas antibakteri metabolit bakteri *L. bulgaricus* tanpa perlakuan (tidak ditambah VCO)

Tests of Normality

konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
zona_hambat	.262	3	.	.957	3	.600
	.368	3	.	.792	3	.094
	.292	3	.	.923	3	.463

Keterangan: p>0.05 = data terdistribusi secara normal
P<0.05 = data tidak terdistribusi secara normal

- Hasil uji homogenitas antibakteri metabolit bakteri *L. bulgaricus* tanpa perlakuan (tidak ditambah VCO)

Test of Homogeneity of Variances

zona_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.413	2	6	.102

Keterangan: p>0.05 = varian kelompok yang dibandingkan homogen
P<0.05 = varian kelompok yang dibandingkan tidak homogeny

- c. Hasil uji statistika one way ANOVA antibakteri metabolit bakteri *L. bulgaricus*

ANOVA

zona_hambat					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.660	2	4.330	6.463	.032
Within Groups	4.020	6	.670		
Total	12.680	8			

- d. Hasil uji statistika Post Hoc antibakteri metabolit bakteri *L. bulgaricus* tanpa perlakuan (tidak ditambah VCO)

Multiple Comparisons

zona_hambat

LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kons 100%	kons 75%	1.300	.668	.100	-.34	2.94
	kons 25%	2.400*	.668	.011	.76	4.04
kons 75%	kons 100%	-1.300	.668	.100	-2.94	.34
	kons 25%	1.100	.668	.151	-.54	2.74
kons 25%	kons 100%	-2.400*	.668	.011	-4.04	-.76
	kons 75%	-1.100	.668	.151	-2.74	.54

4. Hasil Uji statistika Uji Antibakteri Metabolit Ditambah VCO

- a. Hasil uji statistika normalitas antibakteri metabolit bakteri *L. bulgaricus* ditambah VCO

Tests of Normality

Konsent rasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
zona_hambat	.350	3	.	.829	3	.187
	.276	3	.	.942	3	.537
	.374	3	.	.777	3	.060

Keterangan: p>0.05 = Data terdistribusi secara normal
 p<0.05 = Data tidak terdisribusi secara normal

- b. Hasil uji homogenitas antibakteri metabolit bakteri *L. bulgaricus* ditambah VCO

Test of Homogeneity of Variances

zona_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.050	2	6	.951

Keterangan: p>0.05 = Varian kelompok yang dibandingkan homogen
P<0.05 = varian kelompok yang dibandingkan tidak homogen

- c. Hasil uji ANOVA one way antibakteri metabolit bakteri *L. bulgaricus* ditambah VCO

ANOVA

zona_hambat					Sig.
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	
Between Groups	4.216	2	2.108	.777	.501
Within Groups	16.273	6	2.712		
Total	20.489	8			

Keterangan: p>0.05 = tidak ada perbedaan antar kelompok
P<0.05 = ada perbedaan antar kelompok

- d. Hasil uji statistika Post Hoc antibakteri metabolit bakteri *L. bulgaricus* ditambah VCO

Multiple Comparisons

zona_hambat
LSD

(I) konsentr asi	(J) konsentr asi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
100%	75%	1.2333	1.3447	.394	-2.057	4.524
	25%	1.6000	1.3447	.279	-1.690	4.890
75%	100%	-1.2333	1.3447	.394	-4.524	2.057
	25%	.3667	1.3447	.794	-2.924	3.657
25%	100%	-1.6000	1.3447	.279	-4.890	1.690
	75%	-.3667	1.3447	.794	-3.657	2.924

5. Hasil Analisa statistika Perbandingan sifat antibakteri metabolit tidak ditambah dan ditambah VCO

- a. Hasil uji statistika normalitas perbandingan sifat antibakteri metabolit tidak ditambah dan ditambah VCO

Tests of Normality^{b,c,d,e,f,g}

ditamb ah_VC O	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
tdk_ditambah_VCO 4.5	.374	3	.	.777	3	.060

Keterangan: p>0.05 = Data terdistribusi secara normal
p<0.05 = Data tidak terdistribusi secara normal

- b. Hasil uji statistika t-berpasangan perbandingan sifat antibakteri metabolit tidak ditambah dan ditambah VCO

Paired Samples Test

	Paired Differences					
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	T	df	Sig. (2-tailed)
Itdk_ditambah_VCO - ditambah_VCO ir]	1.2444	1.4859	.4953	2.513	8	.036

Keterangan: p>0,05 = tidak ada perbedaan antar kelompok
p<0,05 = ada perbedaan antar kelompok

Lampiran 22. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari Metabolit *L. bulgaricus*

No	Konsentrasi	Respon	
		Ditambah VCO	Tdk. Ditambah VCO
1	75%	-	-
2	37,5%	-	-
3	18,75%	-	-
4	9,38%	-	-
5	4,69%	+	-
6	2,34%	+	+
7	1,17%	+	+
8	0,59%	+	+
9	0,29%	+	+
10	0,15%	+	+

Keterangan: (+) = keruh, (-) = bening

Lampiran 23. KHM metabolit *L. bulgaricus*

No	Perlakuan	Replikasi	Microplate	KHM
1	Tdk. Ditambah VCO	1	1	4,69%
2		2	2	4,69%
3		3	3	4,69%
4	Ditambah VCO	1	1	9,38%
5		2	2	9,38%
6		3	3	9,38%

Lampiran 24. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari Metabolit *L. bulgaricus*

No	Perlakuan	Microplate	Perlakuan	Microplate
1.	Ditambah VCO		Tdk ditambah VCO	
2.				
3.				

Keterangan: lubang 1-10 = larutan uji, (+) = kontrol (+), (-) = kontrol (-)

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Ulfia
NIM : 08061181722021
Tempat/Tanggal Lahir : Palembang/23 Juli 1999
Universitas/Fakultas/Jurusan : Sriwijaya/Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam/Farmasi
Bidang Ilmu Skripsi : Mikrobiologi Bahan Alam Farmasi
Alamat Rumah : Jl. Inspektur Marzuki Lr. Karyawan 1, No. 2358
RT 02, RW 09, Kec. Ilir Barat 1, Kel. Siring Agung
Pakjo Palembang Sumatera Selatan
No. HP : 081377572250
Email : Ulfiaziz@gmail.com
Riwayat Pendidikan : SDN 1 Pancawarna 2005 s.d 2011
SMPN 6 Jambi 2011 s.d 2014
MAN 3 Palembang 2014 s.d 2017
Universitas Sriwijaya 2017 s.d. 2021
Pengalaman Organisasi : Tim Staf Ahli Pendidikan dan Profesi Himpunan
Keluarga Mahasiswa Farmasi (HKMF) Universitas
Sriwijaya (2017 s.d 2020)
Judul Skripsi : Pengaruh Virgin Coconut Oil (VCO) terhadap
Aktivitas Bakteri Probiotik *Lactobacillus*
delbrueckii subsp. bulgaricus

