

KARYA TULIS ILMIAH

**ISOLASI DAN KAREKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
PADA MINUMAN FERMENTASI TUAK NIRA DAERAH
BATANG KUIS, DELI SERDANG**



**MIRANDA EFRIKAYANA SINAGA
P07534020028**

**PRODI D-III TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
2023**

KARYA TULIS ILMIAH

**ISOLASI DAN KAREKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
PADA MINUMAN FERMENTASI TUAK NIRA DAERAH
BATANG KUIS, DELI SERDANG**

Sebagai Syarat Menyelesaikan Pendidikan Program Studi D-III



**MIRANDA EFRIKAYANA SINAGA
P07534020028**

**PRODI D-III TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

JUDUL : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Pada
Minuman Fermentasi Tuak Nira
Nama : Miranda Efrikayana Sinaga
Nim : P07534020028

Telah Diterima dan Disetujui Untuk Diseminarkan Dihadapan Penguji
Medan, 22 Februari 2023

**Menyetujui
Pembimbing**



Febri Sembiring, S.Si, M.Si, M.Sc
NIP : 199202102022031002

**Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan**



Nita Andriani Lubis, S.Si, M.Biomed
NIP 198012242009122001

LEMBAR PENGESAHAN

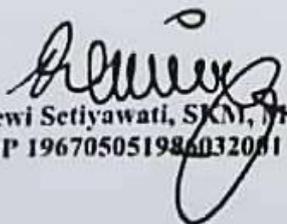
**JUDUL : ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM
LAKTAT ASAL MINUMAN FERMENTASI TUAK NIRA
DAERAH BATANG KUIS, DELI SERDANG**

NAMA : MIRANDA EFRIKAYANA SINAGA

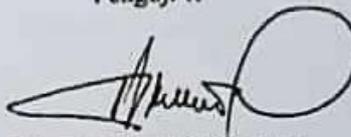
NIM : P07534020028

Karya Tulis Ilmiah ini Telah diuji pada Sidang Ujian
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan
21 Juli Tahun 2023

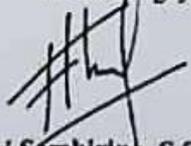
Penguji I


Dewi Setiyawati, SKM, M.Kes
NIP 196705051986032001

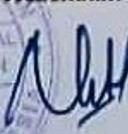
Penguji II


Selamat Riadi, S.Si, M.Si
NIP 196001301983031001

Ketua Penguji


Febri Sembiring, S.Si, M.Si
NIP 199202102022031002

Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan



Nita Andriani Lubis, S.Si, M.Biomed
NIP 198012242009122001

PERNYATAAN

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL MINUMAN FERMENTASI TUAK NIRA DAERAH BATANG KUIS, DELI SERDANG

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Medan, 21 Juli 2023

Miranda Efrikayana Sinaga
P07534020028

**MEDAN HEALTH POLYTECHNICS OF MINISTRY OF HEALTH
DEPARTMENT OF MEDICAL LABORATORY TECHNOLOGY
SCIENTIFIC WRITING, 22nd JUNE 2022**

MIRANDA EFRIKAYANA SINAGA

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF LACTIC ACID
BACTERIA FROM SUGAR PALM FERMENTED BEVERAGES FROM
THE BATANG KUIS AREA, DELI SERDANG**

IX + 21 PAGES + 8 PICTURES + 2 TABLES + 8 ATTACHMENTS

Abstract

Sugar palm is the result of tapping from sugar palm trees or *siwalan*. The tapped sugar palm has complete nutritional components for the growth of microorganisms so that sucrose can become alcohol and then naturally becomes acidic. This study aims to determine the isolation and characterization of lactic acid bacteria from fermented sugar palm. This type of research was descriptive qualitative observation method, with a sample of 1 liter of sugar palm that fermented spontaneously in Batang Kuis area, Deli Serdang. The results of the study obtained 40 isolates which underwent physiological tests to determine the character of the isolated bacteria. Gram staining, the results obtained were 40 positive gram isolates with purple color and rod cell form. In the Catalase test, 38 negative catalase isolates and 2 positive catalase isolates were obtained. In the motility test of 40 non-motile isolates, the Coagulase test of 40 isolates of coagulase was negative, the gas production test from glucose, 40 isolates were of the homofermentative type. The conclusion of the research was that the bacteria isolated from the fermented drink of sugar palm are Lactic Acid Bacteria belonging to the Lactobacillus class, as evidenced by the results of gram staining of rod-shaped cells.

Keywords : Lactic Acid Bacteria, Isolation, Characterization and Sugar Palm

References : 23 (1979-2020)



**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
KTI, 05 JUNI 2023**

Miranda Efrikayana Sinaga

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Minuman Fermentasi Tuak Nira Daerah Batang Kuis, Deli Serdang

ix + 21 halaman + 8 gambar + 2 tabel + 8 lampiran

Abstrak

Nira merupakan hasil sadapan dari pohon kelapa atau siwalan. Nira yang telah di sadap memiliki komponen nutrisi yang lengkap bagi pertumbuhan mikroorganisme sehingga sukrosa dapat menjadi alkohol dan berlanjut menjadi asam secara alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Minuman fermentasi Tuak Nira. Jenis penelitian ini adalah deskriptif kualitatif dengan metode observasi, dengan sampel 1 liter tuak nira yang terfermentasi spontan daerah Batang Kuis, Deli Serdang. Hasil penelitian diperoleh 40 isolat yang dilakukan uji fisiologis untuk mengetahui karakter dari bakteri yang terisolasi. Pewarnaan Gram, diperoleh hasil 40 isolat gram positif dengan warna ungu dan bentuk sel batang. Pada uji Katalase diperoleh 38 isolat katalase negatif dan 2 isolat katalase positif. Pada uji motilitas 40 isolat non motil, uji Koagulase 40 isolat koagulase negatif, uji produksi gas dari glukosa, 40 isolat merupakan tipe homofermentatif. Simpulan penelitian bakteri yang terisolasi dari minuman fermentasi Tuak Nira merupakan Bakteri Asam Laktat dengan golongan *Lactobacillus*.dibuktikan dengan hasil pewarnaan gram bentuk sel berbentuk batang.

Kata kunci : BAL, Isolasi, Karakterisasi dan Tuak Nira
Daftar Bacaan : 23 (1979-2020)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat rahmat dan karuniaNya selalu senantiasa menyertai penulis sehingga dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Pada Minuman Fermentasi Tuak Nira”. Penulis menyadari bahwa tanpa dorongan dan bantuan serta memberikan bimbingan dari berbagai pihak yang telah membantu serta memberikan bimbingan dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu RR. Sri Arini Winarti Rinawati, SKM, M. Kep selaku direktur Poltekkes Kemenkes Medan atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan penelitian Ahli Madya Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
2. Nita Andriani Lubis, S.Si, M.Biomed selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan.
3. Bapak Febri Sembiring, S.Si, M.Si, M.Sc selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dengan penuh kasih sayang dan kesabaran sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan.
4. Ibu Dewi Setiyawati, SKM, M.Kes, selaku Dosen Penguji I yang telah banyak memberikan saran, masukan dan bimbingan kepada penulis selama ini.
5. Bapak Selamat Riadi, S.Si, M.Si, selaku Dosen Penguji II yang telah banyak memberikan saran dan masukan guna menyempurnakan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Seluruh Dosen dan Staff Pegawai Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes RI Medan yang telah memberikan bantuan serta dorongan membekali penulis dengan ilmu pengetahuan.
7. Teristimewa untuk kedua orangtua tercinta Papa Esron Sinaga dan Mama Jusniar Pasaribu yang telah banyak melimpahi kasih sayang perhatian dan

doa yang tidak putus dipanjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus. Serta dukungan berupa moril dan material sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat selesai seperti yang diharapkan.

8. Keluarga tercinta, kakak Sari Sinaga, S.S, abang Herianto Sinaga, S.T.P, adik Roduma Sinaga dan abang ipar Japadi Naibaho, S.M yang tak pernah berhenti mendoakan, menasihati dan mendukung penulis dari segi moril dan material, atas perhatian dan kebahagiaan yang diberikan kepada penulis.
9. Kepada seluruh teman-teman keluarga besar tahun akademik 2022/2023 Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan Teknologi Laboratorium Mrdis yang saling bekerja sama dan selalu membantu baik suka maupun duka dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhirnya penulis mengharapkan Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat dan dapat dijadikan sebagai acuan bagi peneliti selanjutnya. Penulis menyadari bahwa penyusun Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan masukan dari semua pihak demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Demikian kata pengantar ini penulis sampaikan. Atas perhatian, bantuan dan dorongan dari semua pihak penulis mengucapkan Terima Kasih. Semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu melimpahkan berkat-Nya pada kita semua.

Medan, 21 Juli 2023

Penulis

DAFTAR ISI

COVER	
LEMBAR PERSETUJUAN	
LEMBAR PENGESAHAN	
PERNYATAAN	
ABSTRACT	ii
ABSTRAK	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II	4
2.1 Tuak Nira.....	4
2.2 Bakteri Asam Laktat.....	4
2.3 Fermentasi	5
2.4 Isolasi Bakteri Asam Laktat	6
2.5 Parameter Hasil Identifikasi Bakteri Asam Laktat	7
2.6 Kerangka Konsep	8
2.7 Definisi Oprational	8
BAB III	9
3.1 Jenis dan Desain Penelitian	9
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	9
3.3 Populasi dan Sampel	9
3.4 Jenis dan Cara Pengumpulan Data	9

3.5	Prosedur Kerja	10
3.6	Analisa Data	10
BAB IV		13
4.1	Hasil.....	13
4.1	Pembahasan	17
BAB V.....		19
5.1	Kesimpulan.....	19
4.1	Saran	19
Daftar Pustaka.....		20
Lampiran		22

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Parameter hasil identifikasi BAL.....	7
Tabel 4.1 Hasil Karakterisasi BAL	17

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tuak Nira.....	4
Gambar 2.2 BAL dilihat pada perbesaran 1000X.....	5
Gambar 2.3 Proses Metabolisme <i>Lactobacillus</i>	6
Gambar 2.4 Kerangka Konsep	8
Gambar 4.1 Hasil Isolasi Bakteri Asal Tuak Nira	14
Gambar 4.1 Hasil Pewarnaan Gram	15
Gambar 4.1 Hasil Uji Katalase	16
Gambar 4.1 Hasil Uji Koagulase	16

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I Surat Permohonan Penelitian	22
Lampiran II Ethical Clearance	23
Lampiran III Alur Penelitian	24
Lampiran IV Pembuatan Media dan Reagensia.....	25
Lampiran V Dokumentasi Kegiatan.....	27
Lampiran VI Daftar Riwayat Hidup	29
Lampiran VII Lembar Konsultasi KTI	30
Lampiran VIII Surat Keterangan Bebas Laboratorium.....	32

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuak nira merupakan salah satu minuman fermentasi spontan yang dibuat dari nira (getah) dari mayang (tandan) berbagai jenis pohon palem seperti lontar (siwalan), kurma dan kelapa. Fermentasi yang terjadi pada nira ini ialah mengubah gula menjadi etanol, asam asetat, dan asam laktat (Toddy, 2008; Urbina & Tera, 2014). Nira (getah palem) diekstraksi dan dikumpulkan oleh sebuah penyadap dari tandan (mayang) pohon palem yang dipotong. Sebuah wadah diikat ketanggul Bungan untuk menampung nira. Cairan putih nira yang terkumpul belum mengalami fermentasi menjadi tuak. Pada dasarnya nira yang belum mengalami fermentasi ini mengandung mikroba baik berupa khamir yaitu *Sarcharomyces cerevisiase* dan bakteri yaitu genus *Acetobacter* seperti *Lactobacillus* (Muchtadi, 2010). Pada proses fermentasi pada nira menjadi tuak, reaksi pertama terjadi inverse sukrosa yaitu proses pemanasan perlahan memecah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa bila terdapat asam atau enzim pada nira. Kemudian reaksi kedua terbentuk glukosa dan fruktosa yang merupakan hasil inverse sukrosa yang selanjutnya difermentasikan oleh khamir menjadi etanol dan reaksi ketiga terjadi oksidasi etanol dan bakteri *Acetobacter* jadi asam asetat (Muchtadi, dkk, 2010). Tuak nira mengandung beberapa komposisi diantaranya, berbagai vitamin, protein, mineral, karbohidrat, fosfor, kalsium, saponin, sukrosa dan masih banyak lagi kandungan lainnya yang bermanfaat bagi tubuh. Tuak nira juga kaya akan mikroba baik seperti Bakteri Asam Laktat (BAL) (IndonesiaSehat, 2020).

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif, tidak berspora, berbentuk batang dan bulat yang menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir metabolic selama fermentasi karbohidrat. Selain menghasilkan asam laktat, BAL juga menghasilkan hydrogen peroksida dan bakteriosin sehingga dengan asam dan antibakteri BAL mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonelle* dan *Escherichia coli* (Indriaty 2010; IisRostani, 2007). Pemanfaatan BAL sudah sejak lama dilakukan oleh manusia salah satu nya untuk

proses fermentasi makanan dan minuman. Berdasarkan uraian di atas, diketahui bahwa BAL memiliki pengaruh yang menguntungkan baik dalam bidang kesehatan maupun produk makanan dan minuman.

Dari penelitian Syahidah Bannan Qonita dkk, pada tahun 2018 dengan judul Identifikasi Genus Bakteri Asam Laktat dari Nira Aren Fermentasi Spontan didapat hasil isolasi dan pemurnian BAL diperoleh 14 isolat dimana ke 14 isolat tersebut diduga termasuk kedalam golongan *Lactobacillus* dan *Pediococcus*. Berdasarkan dari penelitian Winarsih Andiani dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Susu Kerbau Asal Kabupaten Enerkang, diperoleh bakteri asam laktat spesies *Lactobacillus* dimana ciri morfologi dari ke-2 isolat adalah bentuk batang, Gram positif, non motil.

Maka dari itu peneliti ingin melakukan penelitian tentang “Isolasi dan Karakterisasi BAL Asal Minuman Fermentasi Tuak Nira” untuk mendapatkan jenis Bakteri BAL pada tuak nira dan mengetahui karakterisasinya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas penulis ingin mengetahui bagaimana Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Minuman Fermentasi Tuak Nira.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum pada penelitian ini adalah untuk mengetahui Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Minuman fermentasi Tuak Nira.

1.3.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk menentukan Isolasi dan Karakter Bakteri Asam Laktat Asal Minuman fermentasi Tuak Nira.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai sumber rujukan dan data ilmiah bagi peneliti dan mahasiswa dalam pengujian isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat asal minuman fermentasi tuak nira.
2. Sebagai penambah pustaka bagi instansi tentang isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat asal minuman fermentasi tuak nira.
3. Sebagai pembuktian adanya kandungan bakteri asam laktat yang terkandung dalam minuman fermentasi tuak nira bagi ilmu pengetahuan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tuak Nira

Nira merupakan hasil sadapan dari pohon kelapa atau siwalan. Nira yang telah di sadap memiliki komponen nutrisi yang lengkap bagi pertumbuhan mikroorganisme sehingga sukrosa dapat menjadi alkohol dan berlanjut menjadi asam secara alami (Lutoni, 1993; Imron, dkk, 2015). Tuak merupakan salah satu jenis minuman yang berasal dari Sumatera yang terbuat dari fermentasi nira siwalan atau kelapa yang dicampur dengan raru (Ilyas, 2013). Komposisi nira antara lain air 88,4%, gula 11%, protein 0,4%, lemak 0,17%, dan asam-asam organik seperti asam sitrat, asam tartarat, asam malat, asam suksinat, asam laktat, 23 asam fumarat dan asam piroglutamat sebesar 0,02% (hayati, dkk, 2012). Fermentasi pada nira sangat mudah terjadi karena memiliki ragi liar dan dibantu oleh bakteri *Saccharomyces sp.* Setelah melalui proses fermentasi, nira akan memproduksi tuak yang mengandung air 88,4%, protein 0,36%, lemak 0,2%, mineral 0,02%, karbohidrat 7% dan alkohol 4%.



Gambar 2.1. Tuak Nira (Hassan, 2020)

2.2 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri baik atau bakteri probiotik yang hidup dalam usus manusia yang mampu melawan bakteri patogen dalam usus (Saxelin, 1997; Khedid, dkk, 2006). Oleh karena itu, pemberian BAL dapat menjadi keuntungan bagi kesehatan. BAL berasal dari *Lactobacillus* atau

Bifidobacterium dimana bakteri ini sering dimanfaatkan dalam industri makanan seperti pembuatan yoghurt, keju, acar, bird dan makanan atau minuman fermentasi lainnya seperti tape dan tuak (Saxelin, 1997; Khedid, dkk, 2006).



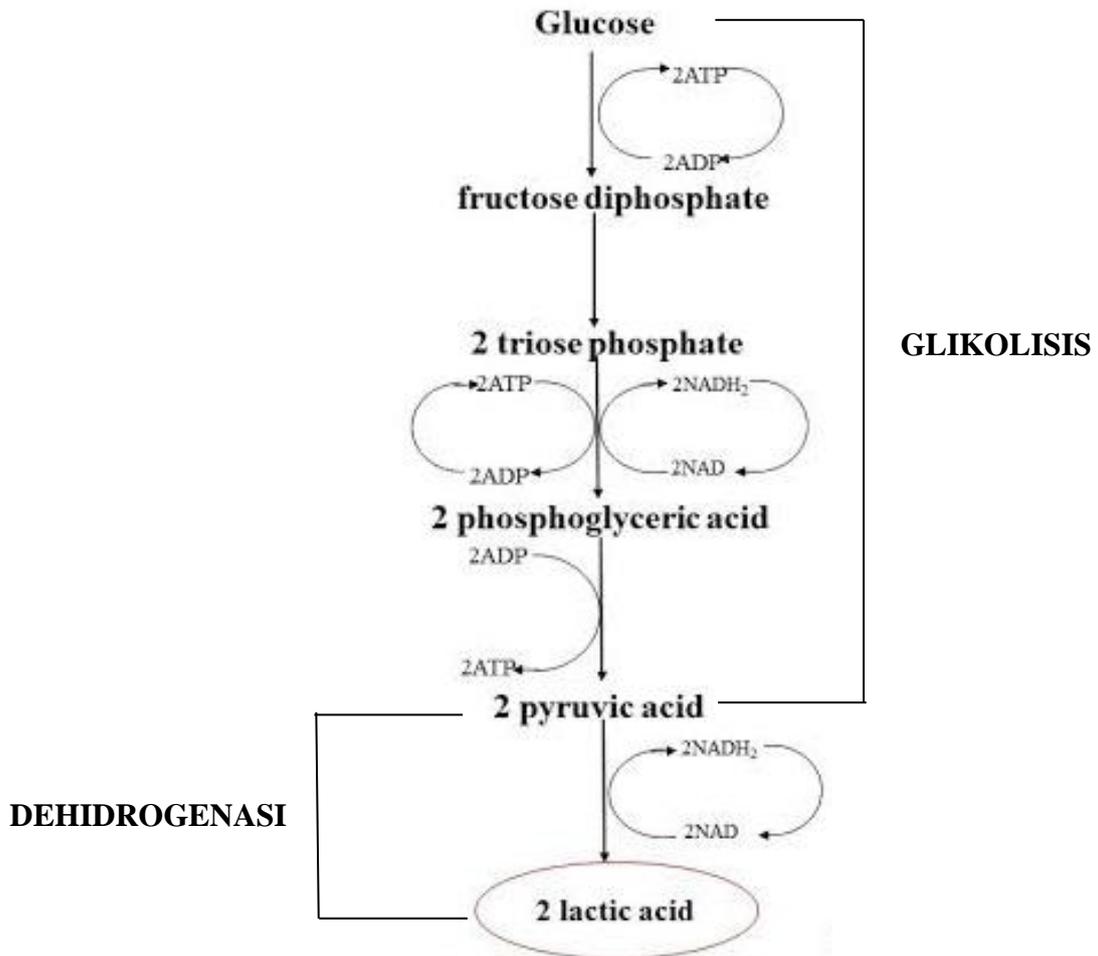
Gambar 2.2. Bakteri Asam Laktat dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x (Putri, dkk, 2018)

2.3 Fermentasi

Fermentasi dalam arti mikrobiologis adalah pembentukkan produk dengan memanfaatkan aktivitas metabolisme mikroorganisme. Berdasarkan pengertian tersebut maka produk fermentasi meliputi produk sel, enzim, metabolit, produk rekombinan dan produk transformasi (Hidayat, dkk, 2020).

Fermentasi asam laktat terbagi menjadi dua tahap yaitu Glikolisis dan Dehidrogenasi. Glikolisis merupakan pemecahan glukosa membentuk asam piruvat. $C_6H_{12}O_6$ dipecah menjadi $2C_2H_3OCOOH$ + energy. Dehidrogenasi (pembentukan kembali NAD) merupakan proses pemecahan asam piruvat menjadi asam laktat. C_2H_3OCOOH direduksi oleh $2NADH_2$ menghasilkan C_2H_5OCOOH dan $2NAD$.

Dari uraian di atas dapat disimpulkan bahwa produk fermentasi asam laktat adalah asam laktat dan ATP.



Gambar 2.3 Proses Metabolisme *Lactobacillus* (Widodo, 2019)

2.4 Isolasi Bakteri Bakteri Asam Laktat

Teknik isolasi bakteri mikroorganisme adalah usaha menumbuhkan mikroba diluar lingkungan alaminya yang bertujuan untuk memperoleh biakkan bakteri yang tidak terkontaminasi dengan bakteri lainnya. Biakkan ini disebut dengan biakkan murni (Dwiyana, Z, 2006).

Mikroorganisme dapat diisolasi dari tanah, daun, tumbuhan, makanan atau minuman fermentasi (tape, tuak, acar) dll. Mikroorganisme dibikikan pada bahan medium dan untuk memperoleh biakkan murni dilakukan pengenceran dengan bahan cair maupun padat (Ginandjar, dkk, 2006; Candra, 2006).

Untuk mendapatkan isolasi bakteri yang mengandung mikroba dapat dilakukan dengan beberapa metode tergantung jenis mikroorganismenya. Secara umum terdapat 3 metode biakkan murni yaitu: teknik tuang agar, teknik gores agar dan teknik sebar agar (Prescott, 2002).

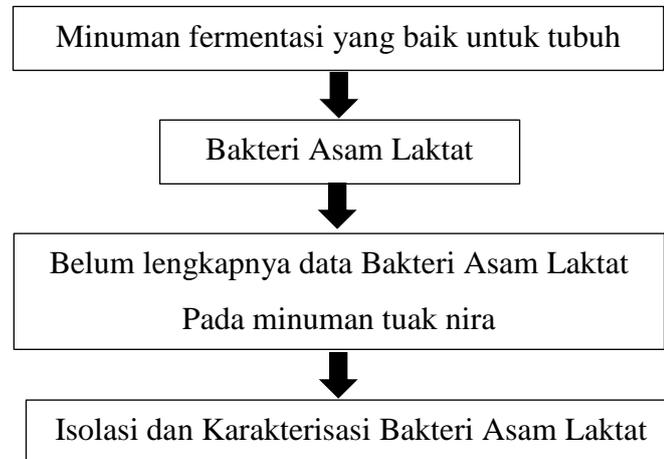
2.5 Parameter Hasil Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Tabel parameter hasil identifikasi bakteri asam laktat menurut Andiani (2012).

Tabel 2.1 Parameter hasil identifikasi BAL (Andiani, 2012)

Identifikasi Bakteri	Positif (+)	Negative (-)
Asam Laktat		
Pewarnaan gram	Hasil pewarnaan gram berwarna ungu, menunjukkan bakteri gram positif.	
Uji Katalase		Tidak memproduksi enzim katalase
Uji Koagulase		Tidak adanya gumpalan saat ditetaskan plasma darah

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

2.7 Definisi Oprational

Bakteri Asam Laktat (BAL) kelompok bakteri gram-positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. BAL juga berfungsi untuk mengurangi infeksi dari mikroba patogen yang terdapat dalam tubuh. BAL biasa kita temui pada makanan dan minuman fermentasi yang diantaranya adalah tuak nira.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian adalah penelitian deskriptif kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui isolasi dan karakterisasi BAL asal minuman fermentasi tuak nira.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.2.1 Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Lapo Tuak Jalan Batang Kuis Deli Serdang dan dilanjutkan di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Medan untuk dilakukan pemeriksaan sampel lebih lanjut.

3.2.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai bulan Mei 2023.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Pada penelitian ini, populasi yang digunakan adalah minuman fermentasi tuak nira.

3.3.2 Sampel

Sampel penelitian ini adalah 1 liter minuman fermentasi tuak nira yang diperjual belikan di lapo Jalan Batang Kuis Deli Serdang.

3.4 Jenis dan Cara Pengumpulan Data

3.4.1 Jenis Pengumpulan Data

Jenis pengumpulan data untuk memperoleh jawaban atas masalah yang telah dirumuskan adalah data primer. Data primer adalah dengan menggunakan data isolasi dan karakterisasi BAL asal minuman fermentasi tuak nira dengan melakukan penelitian secara langsung.

3.4.2 Cara Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini, data yang diperoleh melalui observasi yang dilakukan terhadap hasil pewarnaan, hasil uji katalase, hasil uji koagulase isolate bakteri asam laktat.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Alat

Autoklaf, *cool box*, cawan petri, deck gelas, erlenmayer 100 ml, gelas kimia 250 ml, gelas ukur 100 ml, inkubator, lampu spritus, biosafety cabine, lemari pendingin, mikroskop, neraca analitik, objek gelas, ose bulat, ose lurus, oven, penangas air, sendok stanless, spatula, tabung reaksi.

3.5.2 Bahan

Tuak nira 1 liter, aquadest, aluminium foil, alkohol 70%, H₂O₃ 3%, kertas indikator PH, Kristal PH indikator, Kristal violet, MRSA (de Man Rogosa Sharpe agar), safranin, spuit 1 ml, spuit 10 ml.

3.5.3 Pengambilan sampel

Sampel tuak diambil sebanyak 1 liter dan ditempatkan didalam botol jar yang sebelumnya telah disterilisasi. Kemudian dibiarkan terfermentasi spontan selama 10 jam pada suhu ruang dalam keadaan tertutup, perlakuan ini berdasarkan penelitian Mussa (2014).

3.5.4 Preparasi Alat dan Bahan

Semua alat dicuci bersih dan dimasukkan kedalam autoclave. Cawan petri dibungkus dengan kertas lalu dimasukkan kedalam autoclave pada suhu 121° celcius. Spoit, tabung reaksi di isi dengan aquadest kemudian ditutup dengan kasa, dibungkus lalu dimasukkan kedalam autoclave untuk disterilkan dengan suhu 121° celcius dengan tekanan 1 atm dan dibiarkan selama 20 menit.

3.5.5 Pengenceran Sampel

Sampel tuak nira diambil sebanyak 1 ml. kemudia dilakukan serial pengenceran 10⁻¹ hingga 10⁻⁶ yaitu dengan mengencerkan 1 ml suspense sampel kedalam 9 ml larutan garam fisiologis 0,85% dan di homogenkan dengan fortteks

dan hal ini dilakukan hingga pengenceran 10^{-6} . Pengenceran dilakukan untuk mengurangi padatan bakteri yang ditanam.

3.5.6 Isolasi Bakteri Asam Laktat

Siapkan media MRSA yang telah disuplementasi dengan CaCO_3 1% dan bakteri yang telah dincerkan secara bertingkat. Kemudian pipet 200 mikro pipet sampel bakteri, lalu tuangkan pada media MRSA padat secara aseptis. Setelah di tuangkan, ambil glass rod lalu sebar kultur bakteri yang sudah dituang tadi di atas media padat secara merata. Karena BAL termasuk kedalam bakteri anaerob, media yang sudah di sebar kultur bakteri dimasukkan toples yang telah di nyalakan lilin selama 48 jam dengan suhu 37 derajat celcius.

3.5.7 Identifikasi dan Karakterasi BAL

Isolat yang diperoleh dari MRSA kemudian dilakukan identifikasi dan beberapa pengujian untuk mengetahui karakterisasi bakterinya. Diantaranya pewarnaan gram, pengujian katalase, dan pengujian koagulase.

a. Pewarnaan gram dan bentuk sel

Satu ose isolate diambil secara aseptis dan diletakkan diatas object glass dan diratakan seluas kurang lebih 1 cm^2 sehingga terbentuk lapisan sel tipis, kemudian preparat difiksasi dengan cara pemanasan diatas nyala spiritus dengan jarak kurang lebih 30 cm. kemudian ditetesi dengan Kristal ungu, didiamkan selama 60 detik dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan disuhu ruang. Selanjutnya setelah preparat kering, ditetesi iodine dan di diamkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di suhu ruang. Ditetesi dengan alcohol 96% sampai warna ungu hilang. Setelah itu preparat ditetesi dengan safranin dan didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan pada suhu ruang. Lalu preparat diamati bawah mikroskop. Parameter hasil, gram positif jika sel berwarna ungu, gram negative jika sel berwarna merah. Jika BAL maka bentuk sel coccus dan batang (Ernawati, 2010; Salminen, 2004).

b. Uji Katalase

Ambil koloni bakteri secara aseptis lalu letakkan di atas objek glass, kemudian teteskan 1-2 tetes H_2O_2 3%, lalu amati penguraian H_2O_2 3%. Parameter hasil, jika positif terdapat gelembung pada hasil uji, dan jika negative tidak terdapat gelembung pada hasil uji (Wati, 2010).

c. Uji Koagulase

Pada uji koagulase, isolat diambil secara aseptis menggunakan ose lalu diletakkan pada objek glass hingga membentuk lapisan tipis. Kemudian isoalat ditetesi dengan plasma darah citrate dan NaCl 96%. Amati perubahan. Parameter hasil, koagulase positif terjadi gumpalan, sedangkan koagulase negatif tidak terjadi gumpalan.

3.6 Analisa Data

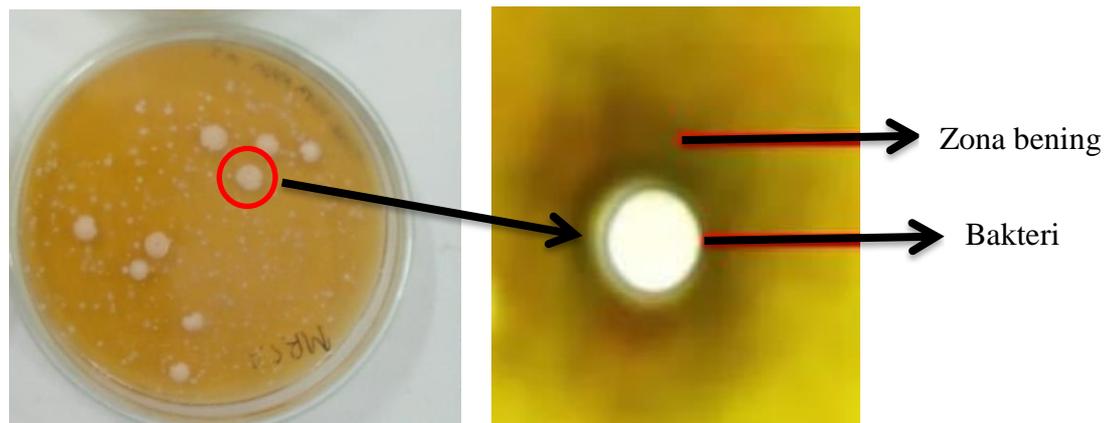
Analisa penelitian ini menggunakan analisa deskriptif kualitatif dengan cara hasil pewarnaan gram, hasil uji katalase, hasil uji motilitas, hasil uji koagulase, uji produksi gas dari glukosa.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat

Pada tahap awal isolasi, bakteri yang berasal dari minuman fermentasi tuak nira dilakukan pengenceran seri 10^{-1} – 10^{-7} . Setelah dilakukan pengenceran, seri 10^{-6} dan 10^{-7} di sebar dimedia MRSA yang telah disuplementasikan CaCO_3 1% . setelah disebar lalu di inkubasi menggunakan metode anaerobic jar lalu dimasukkan kedalam inkubator selama 2 hari dengan suhu 37° Celcius. Setelah 2 hari akan tumbuh bakteri asam laktat yang memperlihatkan ada koloni berwarna putih susu, mengkilat dan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri yang tumbuh. (Gambar 4.1)



Gambar 4.1 Hasil Isolasi Bakteri asal minuman Fermentasi Tuak Nira

4.1.2 Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Setelah mendapatkan isolat bakteri asam laktat dari minuman fermentasi tuak nira, 40 isolat yang telah di seleksi di gores pada media MRSA untuk melakukan uji biokimia. Uji biokimia yang dilakukan adalah Pewarnaan gram dan bentuk sel, uji katalase, dan uji koagulase.

a. Pewarnaan gram dan bentuk sel

Berdasarkan uji pewarnaan gram, bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua bagian besar yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif berwarna ungu dan bakteri gram negatif

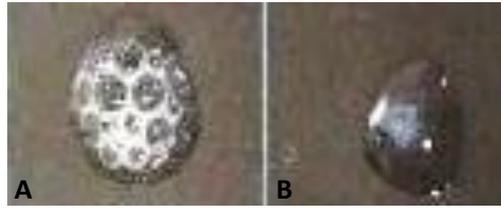
berwarna merah muda. Berdasarkan hasil penelitian, 40 isolat yang dilakukan pewarnaan gram, ke 40 isolat merupakan bakteri gram positif (berwarna ungu). Bentuk sel juga dapat dilihat bersamaan dengan pengamatan pewarnaan gram yang diamati dibawah mikroskop. Berdasarkan bentuk sel nya, BAL dikelompokkan kedalam 2 famili yaitu basil (batang) merupakan family *Lactobacillaceae* dan coccus (bulat) merupakan family *Streptococcoceae*. Hasil pengamatan bentuk sel terhadap 40 isolat di dapat bahwa ke 40 isolat merupakan family *Lactobacillaceae* karena bentuk sel nya basil (batang). Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil pewarnaan gram perbesaran 100x

b. Uji katalase

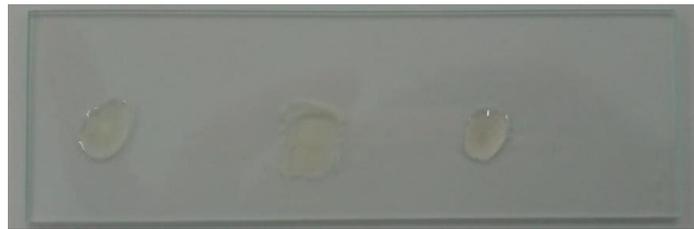
Uji katalase merupakan uji yang dilakukan untuk mengidentifikasi mikroba yang mampu menghasilkan enzim katalase. Untuk melihat mampu atau tidak nya mikroba menghasilkan enzim katalase dibuktikan dengan adanya gelembung udara (O_2) ketika isolate ditetesi larutan H_2O_2 . Berdasarkan hasil penelitian dari 40 isolat terdapat 2 isolat yang mampu menghasilkan enzim katalase dan 38 isolat tidak mampu menghasilkan enzim katalase. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil uji katalase, Keterangan : A. positif katalase, B. Negatif katalase

c. Uji Koagulase

Pada uji koagulase, hasil penelitian diperoleh ke 40 isolat negatif koagulase negatif dibuktikan tidak ada nya gumpalan saat isolate di tetesi plasma darah sitrat dan NaCl. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 4.4.



Gambar 4.4 Hasil uji koagulase

Tabel 4.1 Hasil identifikasi BAL asal minuman fermentasi tuak nira

Kode isolat	Pewarnaan gram			Katalase		koagulase	
	Warna Sel	Tipe Gram	Bentuk Sel	+	-	+	-
BAL.TN.M1	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M2	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M3	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M4	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M5	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M6	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M7	ungu	Positif	Batang		✓		✓

BAL.TN.M8	ungu	Positif	Batang	✓			✓
BAL.TN.M9	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M10	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M11	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M12	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M13	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M14	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M15	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M16	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M17	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M18	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M19	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M20	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M21	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M22	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M23	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M24	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M25	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M26	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M27	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M28	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M29	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M30	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M31	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M32	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M33	ungu	Positif	Batang	✓			✓
BAL.TN.M34	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M35	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M36	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M37	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M38	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M39	ungu	Positif	Batang		✓		✓
BAL.TN.M40	ungu	Positif	Batang		✓		✓

4.2 Pembahasan

Pada tahap awal isolasi, bakteri yang berasal dari sampel minuman fermentasi tuak nira, setelah dilakukan pengenceran bertingkat disebar pada media MRSA yang telah di suplementasikan dengan CaCO_3 1% sebagai medium yang digunakan untuk menyeleksi BAL. penambahan CaCO_3 berfungsi untuk seleksi BAL karena BAL yang tumbuh pada media akan memberikan zona bening disekitar koloni setelah inkubasi 2-3 hari karena yang akan bereaksi dengan CaCO_3 membentuk Ca-lactat yang larut dalam media (Djide dkk, 2008).

Dari hasil isolasi diperoleh 40 isolat yang memiliki kemampuan untuk menurunkan pH medium dengan memproduksi asam yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni yang tumbuh. Hal ini mengindikasikan bahwa ke 40 isolat tersebut merupakan BAL (Graver dan Muriana, 1993). 40 isolat yang terpilih memiliki koloni kecil, berbentuk bulat, elevasi cembung, tepi rata, permukaan berkilau dan berwarna putih susu. Menurut Firman (2009), koloni lactobacillus yang ditumbuhkan pada media agar umumnya berukuran 2-5 mm, dengan permukaan cembung, entire, buram, dan berwarna putih susu. Hal tersebut mempertegas bahwa ke 40 isolat yang diperoleh dari minuman fermentasi tuak nira merupakan BAL.

Untuk menentukan karakteristik mikroba, dilakukan beberapa uji, yang meliputi uji morfologi dan uji fisiologi (Lay dan Hastowo, 1992). Untuk mengetahui morfologi dari ke 40 isolat yang telah di isolasi dan di seleksi, dilakukan pewarnaan gram. Hasil dari pewarnaan gram yang dilakukan pada ke 40 isolat, terbentuknya warna biru/ungu pada bakteri dimana warna biru/ungu itu disebabkan oleh peptidoglikogen yang mampu mengikat Kristal violet. Berdasarkan hasil penelitian ke 40 isolat digolongkan kedalam bakteri gram positif dimana ciri dari gram positif adalah berwarna biru/ungu karena memiliki peptidoglikogen yang tebal sehingga mampu mengikat Kristal violet. Hal ini mempertegas bahwa ke 40 isolat merupakan BAL sesuai dengan pernyataan Surono (2004) bahwa karakteristik BAL adalah sifatnya sebagai gram positif.

Setelah dilakukan pewarnaan gram, ke 40 isolat dilakukan uji fisiologi yang diantaranya uji katalase, dan uji koagulase. Pada uji katalase diperoleh hasil

katalase negative pada ke 38 isolat hal ini dbuktikan dengan tidak terbentuknya gelembung udara pada ke 38 isolat saat ditetesi larutan H_2O_2 dan 2 isolat diperoleh hasil katalase negative yang dibuktikan dengan terbentuknya gelembung udara saat ditetesi larutan H_2O_2 . Ini mempertegas bahwa ke 38 isolat merupakan BAL, karena salah satu kriteria BAL adalah tidak memproduksi enzim katalase (katalase negatif).

Pada uji Koagulase, ke 40 isolat diperoleh hasil negatif dibuktikan dengan tidak ada nya gumpalan setelah penambahan plasma darah citrate dan larutan NaCl 96%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh hasil isolasi dan pemurnian BAL diperoleh 40 isolat menghasilkan zona jernih pada medium MRSA + CaCO₃ 1%. Hasil identifikasi terhadap 40 isolat menunjukkan hasil Gram positif dengan sel berwarna gelap atau ungu, 38 isolat katalase negatif dan dua isolate katalase positif, serta koagulase negatif. BAL yang diperoleh dari 40 isolat diduga termasuk dalam golongan *Lactobacillus*. dibuktikan dengan hasil pewarnaan gram bentuk sel berbentuk batang.

5.2 Saran

Identifikasi lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui spesies BAL dan untuk mengeksplorasi potensi probiotik BAL yang diisolasi dari minuman fermentasi tuak nira.

DAFTARPUSTAKA

- Andika, Erima, Fakhurazzi. 2018. *Isolasi Bakteri asam Laktat Genus Lactobacillus Dari Feses Dari Rusa Sambar*. Aceh: Universitas Syiah Kuala.
- Djide MN dan Wahyudin E. 2008. *Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu, dan Potensinya dalam Penurunan Kadar Kolesterol Secara In Vitro*. *Majalah farmasi dan Farmakologi*.
- Dwyana, Z. 2006. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Fardiaz. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fung, D.Y.C. 1986. *Types of microorganisms. ch.2. Di dalam: Cunningham, F.E. & Cox, N.A. The Microbiology of Poultry Meat Product*. New York: Academic Press Inc
- Ginandjar, Indrawati dkk. 2006. *Mikrobiologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Garver KI, Muriana PM. 1993. *Detection, Identification, and Characterization of Bacteriocin Producing lactic Acid Bacteria from Retail Food Products*. *Int J Food. Micro-biol.* 19: 241-258.
- Hidayat, Prabowo, Rahmadi, Marwati, Emmawati. 2020. *Teknologi Fermentai*. Bogor: Jalan Taman Kencana No.3.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins.
- Khedid. K dan Faid, M. 2006. *Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from the One Humped Camel Milk Produced in Morocco*. *Microbiology Reseach*. Vol. 164: 81-91
- Lasekan, O., Buettner, A., &Christlbauer, M. (2007). *Investigation of important odorants of palm wine (Elaeisguineensis)*. *Food Chemistry*, Vol. 105(1):1523.
- Lie, Saw. 1995. *Isolasi dan seleksi BAL yang bersifat antimikroba dari pikel ketimun dan acar*. *Fakultas teknologi pertanian*. Bogor.

- Lingga, A. 2008. *Pengaruh Perbedaan Lama Penyimpanan Nira Terhadap Kadar Alkohol Yang Dihasilkan*.
- Lay BW, Hastowo S. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Press.
- Mussa, R. 2014. *Kajian tentang lama fermentasi nira aren (Arenga Pinnata) terhadap kelimpahan mikroba dan kualitas organoleptik tuak*. Biopendix 1 (1): 54-58.
- Prescott, H. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology*. 5 th ed. Mc Graw-Hill Companies. Boston
- Putri, B.S.P., S. Suwasono dan M. Choiron. 2015. *Identifikasi bakteri asam laktat sebagai anti kapang dari fermentasi kakao di Gunung Kidul Yogyakarta*. Jurnal Berkala Ilmiah Pertanian.
- Putri, Kusdiyantini. 2018. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Pangan Fermentasi Berbasis Ikan (Inasua) yang Diperjualbelikan di Maluku-Indonesia*. Diponegoro.
- Saxelin, M. 1997. *Lactobacillus GG-a Human Probiotic Strain with Through Clinical Documentation*. Food Rev Int. Vol. 13: 293-313
- Santiago-Urbina. J. A., and Ruíz-Terán. F. (2014). *Microbiology and biochemistry of traditional palm wine produced around the world*. International Food Research Journal. Vol. 21(4): 1261-1269.
- Stamer, J.R. 1979. *The Lactic Acid Bacteria. Microbes of Diversity*. J. Food Technol. 1: 60 – 65.
- Widodo. 2019. *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal*. Yogyakarta: Gadjra Mada University Press.
- Whitman, William B. 2009. *Bergey's Manual Trust Department Of Microbiology Second Edition*. USA : University Of Georgia Athens.

LAMPIRAN I

Surat Permohonan Penelitian

Kepada :
Yth Direktur Poltekkes Kemenkes Medan
Di tempat
Dengan Hormat,

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Miranda Efrikayana Sinaga
NIM : P07534020028
Judul : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Pada
Minuman Fermentasi Tuak Nira Daerah Batang Kuis Deli
Serdang
Semester VI

Dengan ini Saya memohon izin kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Medan untuk difasilitasi penelitian di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Medan dalam menyelesaikan Tugas Akhir di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Tahun Akademik 2022/2023.

Demikianlah surat permohonan ini saya sampaikan, atas perhatiannya saya ucapkan terimakasih.

Mengetahui
Dosen Pembimbing



(Febri Sembiring, S.Si, M.Si, M.Sc)
NIP : 199202102022031002

Medan, 04 Maret 2023
Mahasiswa



(Miranda Efrikayana Sinaga)
NIM : P07534020028

LAMPIRAN II

ETHICAL CLEARANCE (EC)



**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN**

Jl. Jamin Ginting Km. 13,5 Kel. Lau Cih Medan Tuntungan Kode Pos 20136
Telepon: 061-8368633 Fax: 061-8368644
email : kepk.poltekkesmedan@gmail.com



**PERSETUJUAN KEPK TENTANG
PELAKSANAAN PENELITIAN BIDANG KESEHATAN
Nomor: 01.1700/KEPK/POLTEKKES KEMENKES MEDAN 2023**

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian usulan penelitian yang berjudul :

**“Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Minuman Fermentasi
Tuak Nira Daerah Batang Kuis, Deli Serdang”**

Yang menggunakan manusia dan hewan sebagai subjek penelitian dengan ketua Pelaksana/
Peneliti Utama : **Miranda Efrikayana Sinaga**
Dari Institusi : **Prodi D-III Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Medan**

Dapat disetujui pelaksanaannya dengan syarat :
Tidak bertentangan dengan nilai – nilai kemanusiaan dan kode etik penelitian..
Melaporkan jika ada amandemen protokol penelitian.
Melaporkan penyimpangan/ pelanggaran terhadap protokol penelitian.
Melaporkan secara periodik perkembangan penelitian dan laporan akhir.
Melaporkan kejadian yang tidak diinginkan.

Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol dengan masa berlaku maksimal selama 1 (satu) tahun.

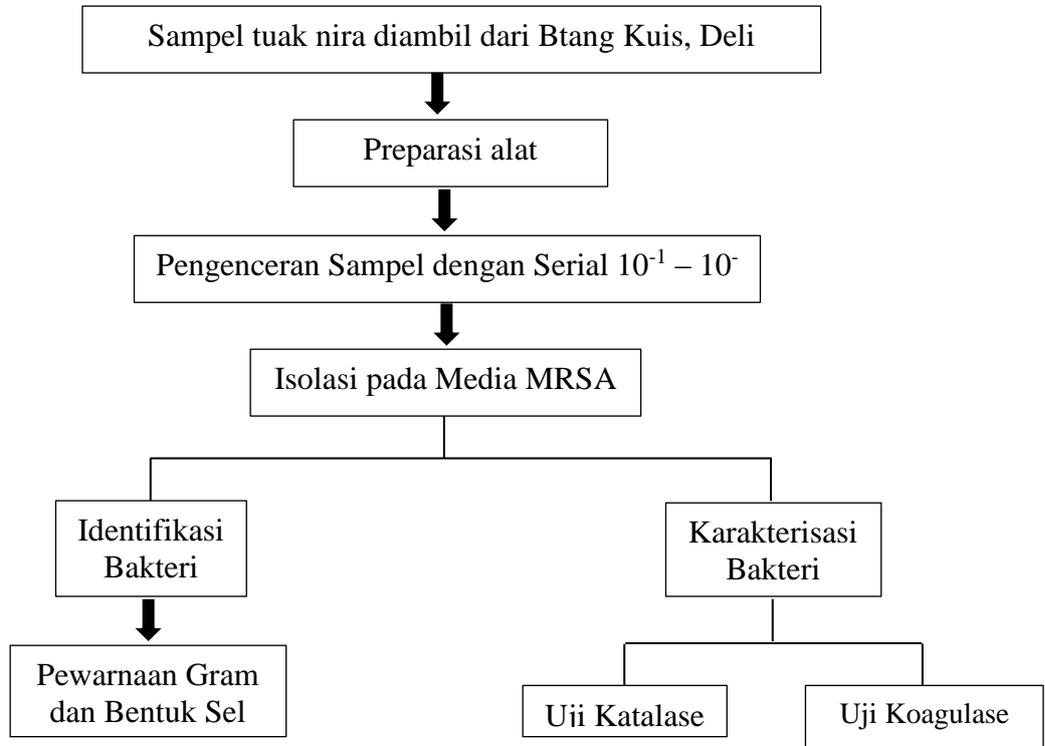
Medan, April 2023
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Poltekkes Kemenkes Medan



Dr. Jhonson P. Sihombing, MSc, Apt.
NIP. 196901302003121001

LAMPIRAN III

ALUR PENELITIAN



LAMPIRAN IV

PEMBUATAN MEDIA DAN REAGENSIA

A. Pembuatan Media

1. Media MRSA

Komposisi :

- Pepton 10 gram
- Ekstrak daging sapi 10 gram
- Ekstrak ragi 5 gram
- K_1HPO_4 2 gram
- Ammonium sitrat 2 gram
- Glukosa 2 gram
- Natrium asetat 20 gram
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,58 gram
- $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0,28 gram
- Agar 15 gram
- Aquadest 1 liter

Prosedur :

Timbang media MRSA sebanyak 13,64 gram lalu tambahkan aquadest hingga 200 ml. lalu masak media diatas hot plae sampai media jernih. Setelah media jernih tutup dengan kapas dan aluminium foil lalu masukkan kedalam autoclave dengan suhu 121° Celcius selama 20 menit. Setelah selesai di autoclave, media di ambil lalu dituangkan pada petridish sebanyak 25 ml, lalu biarkan hingga media menjendal. Setelah menjendal media siap digunakan

B. Pembuatan Reagensia

1. NaCl 0,85%

Komposisi

- Kristal NaCl : 1,7 gram
- Aquadest : 200 ml

Prosedur :

Timbang Kristal NaCl sebanyak 1,7 gram lalu tambahkan aquadest hingga 200 ml. setelah itu pipet sebanyak 9 ml ke masing masing tabung reaksi, tutup

dengan kapas dan aluminium foil. Lalu masukkan kedalam autoclave dengan suhu 121° celcius selama 20 menit. Setelah 20 menit, ambil reagensia dan reagensia siap digunakan.

2. Plasma Citrat

Alat dan bahan :

- Vacun tube sodium citrat
- Vacuum
- Darah 3 cc

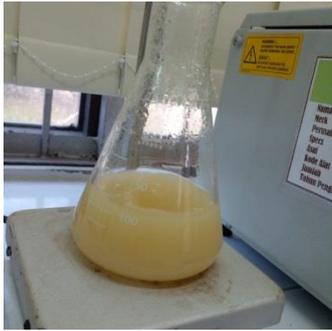
Prosedur

Darah diambil menggunakan vakum dan dialirkan ke vacuum tube citrat hingga 3 cc. lalu darah di centrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Setelah itu plasma citrat siap digunakan untuk reagensia pada uji koagulase.

LAMPIRAN V

DOKUMENTASI KEGIATAN

- a. Proses membuat media
MRSA + CaCO₃ 1%



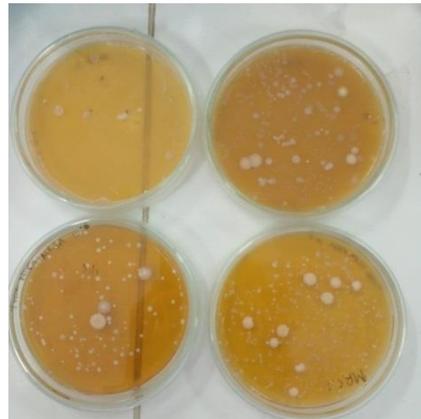
- b. Pengenceran bertingkat pada
sampel 10⁻¹ – 10⁻⁶



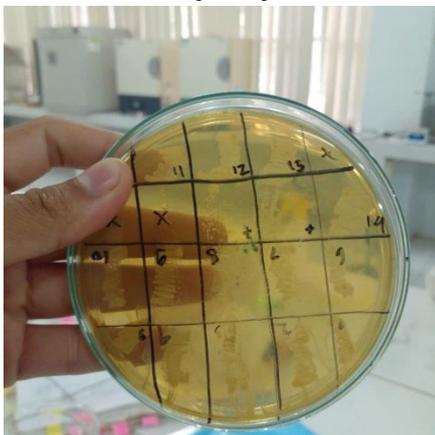
- c. proses isolasi BAL
asal Tuak Nira



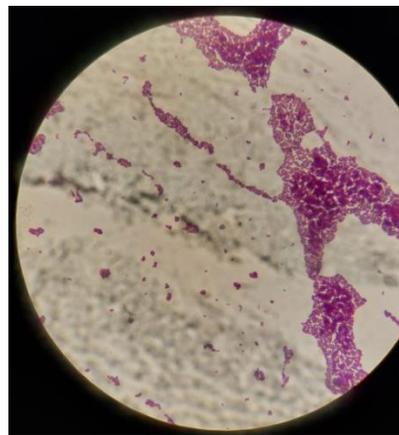
- d. hasil isolasi BAL asal Tuak Nira



- e. hasil isolasi, diremajakan
untuk uji lanjutan



- f. hasil pewarnaan gram



g. hasil uji Katalase



h. hasil uji motilitas



i. hasil uji Koagulase



j. Pohon penghasil Nira Aren



LAMPIRAN VI

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



DATA PRIBADI

Nama : Miranda Efrikayana Sinaga

NIM : P07534020028

Tempat, Tanggal Lahir : Sei Garo, 27 Januari 2002

Jenis Kelamin : Perempuan

Kewarganegaraan : Indonesia

Agama : Kristen Protestan

Alamat : Dusun II Kota Batak

Pendidikan

2008-2014 : SD Negeri 032 Sei Garo

2014-2017 : SMP Swasta Assisi Kota Batak

2017-2020 : SMA Negeri 1 Pangururan

2020-2023 : Menyelesaikan Pendidikan Diploma III di
Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan
Teknologi Laboratorium Medis

Nama Orang Tua

Ayah : Esron Sinaga

Ibu : Jusniar Pasaribu

LAMPIRAN VII

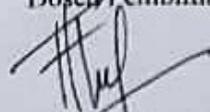
LEMBAR KONSULTASI KARYA TULIS ILMIAH JURUSAN D-III TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS POLTEKESKEMENKES MEDAN 2023

Nama : Miranda Efrikayana Sinaga
Nim : P07534020028
Dosen Pembimbing : Febri Sembiring, S.Si, M.Si, M.Sc
Judul Proposal : Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Minuman Fermentasi Tuak Nira Daerah Batang Kuis, DeliSerdang

No	Hari/ Tanggal	Masalah	Masukan	TTD Dosen Pembimbing
1.	Selasa, 01 November 2022	Konsultasi Judul KTI	Sebelum menentukan judul tentukan masalah terlebih dahulu	f
2.	Senin, 14 November 2022	Pengajuan Judul	Judul disetujui, cari jurnal pendukung sebanyak mungkin sesuai judul dan mencari jurnal internasional	f
3.	Rabu, 16 November 2022	BAB I	Disikusi BAB I merperdalam masalah dan menyusun latar belakang	f
4.	Jum'at, 18 November 2022	BAB I	Perbaikan penulisan dan memperbanyak jurnal	f
5.	Selasa, 22 November 2022	BAB II	Diskusi isi BAB II dan mencari jurnal- jurnal	f
6.	Jumat, 02 Desember 2022	BAB III	Diskusi penyusunan BAB III dan perbaikan	f

7.	Senin, 13 Februari 2023	BAB I – BAB III	Perbaikan penulisan	f
8	Jumat, 17 Februari 2023	BAB I – BAB III	Persetujua Proposal	f
9	Senin, 29 Mei 2023	BAB IV dan BAB V	Penulisan hasil dan pembahasan serta perbaiki kesimpulan	f
10	Senin, 05 Juni 2023	BAB IV dan BAB V	Penulisan hasil dan pembahasan	f
11	Jumat, 09 Juni 2023	BAB IV dan BAB V	Persetujuan KTI	f

Medan, 05 Juni 2023
Dosen Pembimbing



Febri Sembiring, S.Si, M.Si
NIP. 199202102022031002

Lampiran VIII

Surat Keterangan Bebas Laboratorium



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL TENAGA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
Jl. Jamin Giring KM. 13,5 Kel. Lauch Medan Tuntungan Kode Pos :20136
Telepon : 061-8368633 - Fax : 061-8368644
Website : www.poltekkes-medan.ac.id, email : poltekkes_medan@yahoo.com



SURAT KETERANGAN BEBAS LABORATORIUM

No. 30/LT/VIII/2023

Kepala unit Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Medan dengan ini menerangkan bahwa:

Nama : Miranda Etikayana Sinaga
NIM : P07534020028
Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis
Perguruan Tinggi : Poltekkes Kemenkes Medan

Benar yang namanya tersebut diatas telah menggunakan fasilitas Laboratorium Terpadu dan telah menyelesaikan tanggungan biaya fasilitas laboratorium dalam rangka melaksanakan penelitian karya tulis ilmiah dengan judul:

"Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat asal minuman fermentasi tuak nira daerah Batang Kuis, Deli Serdang"

Dibawah bimbingan/pengawasan :

Pembimbing I: Febri Sembiring, S.Si, M.Si, M.Sc

Demikian surat keterangan ini dibuat, agar dapat digunakan semestinya.

Medan, 31 Juli 2023

Kepala unit Laboratorium Terpadu

(Gabriella Septiani Nasution, SKM, M.Si)
NIP. 198809122010122002