

KARYA TULIS ILMIAH
SKRINING ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM
LAKTAT ASAL TUAK NIRA TERHADAP
Salmonella typhi



NOVELA CHINTYANA S
P07534020143

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

KARYA TULIS ILMIAH
SKRINING ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM
LAKTAT ASAL TUAK NIRA TERHADAP
Salmonella typhi

Sebagai syarat Menyelesaikan Pendidikan Program Studi
Diploma III



NOVELA CHINTYANA S
P07534020143

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

LEMBAR PERSETUJUAN

JUDUL : **Skrining Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat
Asal Tuak Nira Terhadap *Salmonella typhi***
NAMA : **Novela Chintyana S**
NIM : **P07534020143**

Telah Diterima dan Disetujui Untuk Diseminarkan Dihadapan Penguji
Medan, 2 Maret 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 : **Skrining Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat
Asal Tuak Nira Terhadap *Salmonella typhi***
NAMA : **Novela Chintyana S**
NIM : **P07534020143**

Karya Tulis Ilmiah ini Telah Diuji pada Sidang Ujian Akhir Program Jurusan
Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Medan
Medan, 15 Juni 2023

Penguji I



Suryani Situmeang, S.Pd, M.Kes
NIP. 196609281986032001

Penguji II



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

Ketua Penguji

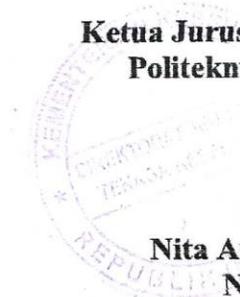


Febri Sembiring, S.Si, M.Si, M.Sc
NIP. 199202102022031002

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



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



PERNYATAAN

SKRINING ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL TUAH NIRA TERHADAP *Salmonella typhi*

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah ini benar-benar hasil karya tulis saya sendiri dengan melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Medan. Selain itu sumber dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dilampirkan di dalam daftar pustaka. Demikian pernyataan ini saya menyatakan secara benar dengan penuh tanggung jawab.

Medan, 15 Juni 2023

Yang menyatakan

Novela Chintyana S

NIM P07534020143

**MEDAN HEALTH POLYTECHNICS OF MINISTRY OF HEALTH
ASSOCIATE DEGREE PROGRAM OF MEDICAL LABORATORY TECHNOLOGY**

Scientific Writing, 15 JUNE 2023

Novela Chintyana S

Antibacterial Screening of Lactic Acid Bacteria Isolate from Palm Wine Against Salmonella typhi

viii + 36 Pages, 5 Figures, 2 Tables, 8 Attachments

ABSTRACT

Indonesia is famous for having fermented traditional drinks, one of which is palm wine. Salmonella typhi is a pathogenic bacterium that is excreted from the digestive tract of animals and humans along with faeces. This disease can be treated with antibiotics. However, continuous use of antibiotics has the potential to cause side effects for the body and trigger bacterial resistance to antibiotics. Therefore, there is a need for another alternative by utilizing Lactic Acid Bacteria (LAB) as an antibacterial in inhibiting the growth of Salmonella typhi. This research started from the isolation stage and characteristics of Lactic Acid Bacteria and testing of Salmonella typhi using the agar spot plate method with 4 treatments, isolates of Lactic Acid Bacteria from tapai yam and palm wine, positive control (amoxicillin), negative control (sterile aquades), Lactobacillus casei, and treatment. Based on the test results, the ten isolates of Lactic Acid Bacteria produced an inhibition zone, and the highest was in the palm wine isolate, which reached 8.23 mm. The positive control of amoxicillin also produced a high inhibition zone, reaching 15.10 mm, and L. casei was 13.37 mm, making it more effective when compared to the treatment of lactic acid bacteria isolates. Lactic acid bacteria isolates obtained from palm wine have the potential to inhibit the growth of Salmonella typhi bacteria and can be used as probiotics.

Keywords: Antibacterial, Inhibition Zone, Lactic Acid Bacteria, Salmonella typhi



**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
KTI, 15 JUNI 2023**

Novela Chintyana S

**Skrining Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Tuak Nira Terhadap
*Salmonella typhi***

viii + 36 Halaman, 5 Gambar, 2 Tabel, 8 Lampiran

ABSTRAK

Indonesia terkenal dengan minuman tradisional hasil fermentasi salah satunya minuman tuak nira. *Salmonella typhi* merupakan bakteri patogen yang dikeluarkan dari saluran pencernaan hewan dan manusia bersama dengan feses. Penyakit ini dapat diatasi dengan menggunakan antibiotik. Namun, pemakaian antibiotik secara terus menerus berpotensi menimbulkan efek samping bagi tubuh dan memicu terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Oleh karena itu, perlu adanya alternatif lain dengan memanfaatkan Bakteri Asam Laktat (BAL) sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Penelitian ini dilakukan dengan tahap isolasi dan karakteristi BAL serta pengujian terhadap *Salmonella typhi* menggunakan metode agar spot plate dengan 4 perlakuan yaitu isolat BAL tape ubi dan tuak nira, kontrol positif (amoksilin), kontrol negatif (*aquades steril*), *Lactobacillus casei*, dan perlakuan. Berdasarkan hasil uji, kesepuluh isolat BAL yang diperoleh menghasilkan zona hambat dengan zona hambat tertinggi pada isolat BAL.TN.M3 sebesar 8,23 mm. Pada kontrol positif amoksilin juga menghasilkan zona hambat yang tinggi yaitu sebesar 15,10 mm, serta pada *L.casei* sebesar 13,37 mm, sehingga lebih efektif dibandingkan perlakuan isolat BAL. Namun demikian, isolat BAL yang diperoleh dari tuak nira memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan dapat dijadikan sebagai probiotik.

Kata Kunci: Antibakteri, Bakteri Asam Laktat, *Salmonella typhi*; Zona hambat

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkatnya selalu senantiasa menyertai penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan judul “Skrining Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Tuak Nira Terhadap *Salmonella typhi*”. Dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini disusun untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan Program Studi Diploma III di Poltekkes Kemenkes Medan Jurusan D-III Teknologi Laboratorium Medis.

Dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini penulis banyak menerima bimbingan, bantuan, arahan, serta dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu RR. Sri Arini Winarti Rinawati, SKM, M.KEP selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes RI Medan, atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Ahli Teknologi Laboratorium Medis.
2. Ibu Nita Andriani Lubis, S.Si, M.Biomed selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Medan.
3. Bapak Febri Sembiring, S.Si, M.Si, M.Sc selaku pembimbing dan ketua penguji yang memberikan arahan, dorongan semangat, waktu serta tenaga dalam membimbing penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Ibu Suryani M. F Situmeang, S.Pd, M.Kes selaku penguji I yang telah memberikan masukan berupa kritik dan saran bagi penulis untuk kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Bapak Selamat Riadi, S.Si, M.Si selaku penguji II yang telah memberikan masukan berupa kiritikan dan saran bagi penulis untuk kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Seluruh Dosen dan Staff Pegawai di Jurusan D-III Teknologi Laboratorium Medis Medan.
7. Teristimewa untuk kedua Orang tua tercinta, Ayah saya Jarapen Situngkir, AMK, Ibu saya Rita Dewi Simanjuntak, S.Si, kakak dan adik saya yang telah memberikan doa, nasehat, serta dukungan, kasih sayang kepada saya, baik itu secara moral serta material selama menempuh pendidikan di Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
8. Kepada sahabat dan seluruh teman-teman seperjuangan jurusan Teknologi Laboratorium Medis angkatan 2020 yang selalu memberikan dukungan dan semangat serta doa kepada penulis.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan maupun dalam pemilihan kalimat dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini. Oleh Karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca sebagai penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhir kata kiranya Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi penulis maupun pembaca khususnya Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis. Atas perhatiannya penulis mengucapkan terima kasih.

Medan, 15 Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN

LEMBAR PENGESAHAN

LEMBAR PERNYATAAN

ABSTRACT	i
ABSTRAK	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tuak Nira	4
2.2 Bakteri Asam Laktat	5
2.3 Uji Aktivitas Bakteri	6
2.4 Morfologi <i>Salmonella typhi</i>	7
2.5 Uji Biokimia Dari BAL	7
2.6 Kerangka Konsep	9
2.7 Defenisi Operasional	9
BAB III METODE PENELITIAN	10
3.1 Jenis Penelitian	10
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	10
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	10
3.4 Jenis dan Cara Pengumpulan Data	10
3.5 Metode Penelitian	10
3.6 Prosedur Kerja	11
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Hasil Penelitian	14
4.2 Pembahasan	15
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	18
5.1 Kesimpulan	18
5.2 Saran	18
DAFTAR PUSTAKA	19
DAFTAR LAMPIRAN	24

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori Zona Hambat.....	6
Tabel 4.1 Hasil Uji Skrining Isolat Tuak Nira Terhadap <i>Salmonella typhi</i>	15

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Minuman Fermentasi Tuak Nira Aren	4
Gambar 2.2 Morfologi <i>Salmonella typhi</i>	7
Gambar 2.3 Kerangka Konsep	9
Gambar 3.1 Rumus Perhitungan Diameter Zona Bening.....	13
Gambar 4.1 Zona bening isolat tuak nira; Keterangan; 1 (Kontrol positif), 2 (Kontrol negatif, 3 (Perlakuan), 4 (<i>L.casei</i>)	14

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I	Scan Surat Izin Penelitian	24
Lampiran II	Scan Surat Ethical Clarence	25
Lampiran III	Skema Prosedur Kerja	26
Lampiran IV	Pembuatan Media	27
Lampiran V	Gambar Hasil Proses Dan Hasil Penelitian	30
Lampiran VI	Daftar Riwayat Hidup	33
Lampiran VII	Lembar Konsultasi	34
Lampiran VIII	Surat Bebas Laboratorium	36

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia terkenal dengan ragam minuman fermentasi yang tersedia di pasar tradisional dan modern. Kebanyakan minuman tradisional fermentasi ini dibuat dalam skala kecil atau di rumah. Minuman ini banyak dijumpai dan diolah melalui proses fermentasi salah satunya tuak nira. Nira aren merupakan cairan yang keluar dari hasil penyadapan tandan bunga aren baik jantan maupun betina. Hasil sadapan nira yang diolah menjadi gula aren memiliki daya simpan sekitar 3 jam sebelum terfermentasi dan menimbulkan rasa asam (Admoko, 2017). Perubahan rasa ini disebabkan oleh adanya bakteri *Acetobabacter* sp. dan asam laktat yang mengubah gula menjadi asam (Mussa, 2014).

Pada fermentasi alami terdapat bakteri yang tumbuh pada hari pertama yaitu bakteri mesofilik aerob, bakteri koliform dan Bakteri Asam Laktat (BAL). Pada awal fermentasi alami nira, pertumbuhan bakteri didominasi oleh BAL yang berperan dalam mencegah pertumbuhan bakteri enteropatogen yang dihasilkan oleh zat antibakteri (Apriyanto, dkk, 2016). Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif berbentuk basil dan kokus, katalase negatif, dapat memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat sebagai produk utamanya, dan umumnya dianggap aman untuk dikonsumsi. Karena termasuk dalam kategori *Generally Recognized as Safe* (GRAS). Beberapa strain BAL menghasilkan senyawa antibakteri bagi industri pangan, terutama untuk mengawetkan atau memperpanjang masa simpan pangan (Djadouni dan Kihal, 2012; Galvez, dkk. Saranya dan Hemashenpagam, 2011).

Efek dari antibakteri pada BAL, terutama asam laktat yang dihasilkan yaitu dapat menurunkan derajat keasaman (pH). Selain itu, BAL memproduksi berbagai macam senyawa antibakteri seperti hidrogen peroksida (H₂O₂), karbon dioksida (CO₂), diasetil (2.3-butanedione) dan bakteriosin. Semua senyawa tersebut bersifat antagonis terhadap pertumbuhan beberapa bakteri patogen serta pembusuk pada makanan (Saranya dan Hemashenpagam, 2011). Isolasi BAL dilakukan agar isolat dimanfaatkan sebagai probiotik (Maunatin dan Khanifa,

2012). Probiotik adalah mikroorganisme menguntungkan yang memiliki manfaat baik terhadap kesehatan manusia dengan membentuk koloni pada saluran pencernaan serta mempunyai daya lekat (adhesi) yang kuat pada permukaan epitel usus (mukosa) (Yuliana N dan Dizon EI, 2011).

Salmonella sp salah satu kelompok bakteri patogen yang menyerang sistem pencernaan yang ditularkan melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi atau melalui penderita bersama dengan fases. *Salmonella typhi* menyebabkan penyakit tifus atau demam tifoid (Imara, 2020). Sebagian besar kasus terjadi di Asia Selatan (*World Health Organization*, 2018). Penelitian sebelumnya pernah dilakukan oleh Riadi, dkk, (2017), yang menyatakan bahwa isolat BAL yang terkandung dalam yoghurt dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Adanya mekanisme penghambatan tersebut dikarenakan senyawa antimikroba yang diproduksi oleh BAL. Penelitian sebelumnya pernah dilakukan oleh Fera Santika (2019), yang menyatakan bahwa air kelapa tidak mengandung senyawa kimia flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid. Hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa air kelapa tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*.

Berdasarkan penelitian sebelumnya telah dilakukan oleh Muhammad Fajrul Falakh dkk, (2022), diperoleh 4 isolat Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari nira siwalan yaitu isolat L105A, L105B, L104C dan L104D. Keempat tersebut memiliki karakteristik yang menunjukkan ciri-ciri BAL yang umumnya memiliki bentuk sel basil/kokus, gram positif, non-motil, katalase negatif. Hasil uji One Way ANOVA, menunjukkan keempat isolat berpengaruh terhadap terbentuknya zona hambat pada bakteri *Salmonella typhi*, sehingga keempat isolat BAL berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* dengan daya hambat paling tinggi dihasilkan oleh isolat L105A sebesar $8,75 \pm 1,25$ mm. Berdasarkan uraian tersebut adanya kemampuan bakteri dalam menghambat pertumbuhan maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul “Potensi Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Tuak Nira Terhadap *Salmonella typhi*”.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana Potensi Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Tuak Nira terhadap *Salmonella typhi*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui kemampuan potensi antibakteri isolat bakteri asam laktat asal tuak nira terhadap *Salmonella typhi*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengukur daya hambat isolat bakteri asam laktat asal tuak nira terhadap *Salmonella typhi*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Untuk menambah informasi dan pengetahuan bagi penulis.
2. Untuk menambah referensi bagi pembaca khususnya mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis.
3. Untuk memberikan sebuah informasi kepada masyarakat mengenai potensi antibakteri isolat bakteri asam laktat asal tuak nira terhadap *Salmonella typhi*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tuak Nira

2.1.1 Fermentasi

Tuak aren dihasilkan dari nira aren (*Arenga pinnata*) yang difermentasikan, memiliki warna jernih, berbau khas serta memiliki rasa manis (Solang, dkk, 2020). Tuak dibuat dari hasil sadapan dari air bunga pohon aren, kelapa, dan lontar. Tuak aren yang dikonsumsi masyarakat hanya dalam waktu yang singkat selama 1-2 hari yang digunakan sebagai minuman segar dan dimanfaatkan sebagai cuka. Selama pendiaman proses fermentasi akan menyebabkan sukrosa di dalam nira akan berubah menjadi alkohol dan asam asetat (Sihombing, 2019), tidak memerlukan penambahan mikroba dan kamir karena pada proses fermentasi yang dibantu oleh udara (Kanino, 2019). Bakteri yang terdapat di nira aren seperti, *Acetobacter*, *Sarcian*, *Leuconostoc*, dan khamir. (Titilayo dan Temitope, 2019).



Gambar 2.1 Minuman Fermentasi Tuak Nira Aren
(Titilayo dan Temitope, 2019)

2.1.2 Komposisi

Komponen utama dalam nira aren yaitu karbohidrat dalam bentuk sukrosa. Komposisinya mengandung air 87,66%, gula 12,04%, protein 0,36%, lemak 0,36% dan abu 0,21%, memiliki pH sekitar 6-7. Nira aren yang sudah mengalami proses fermentasi menjadi tuak mengandung 88,4% air, protein sebanyak 0,2%, lemak 0,02%, mineral 7%, dan 4% alkohol (Hesty, 2016).

2.2 Bakteri Asam Laktat

2.2.1 Defenisi

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif yang tidak menghasilkan spora, kelompok anaerob fakultatif, koloni berbentuk basil dan kokus memiliki kemampuan menghasilkan karbohidrat dan mampu menghasilkan asam laktat (Widodo, 2019). Contoh kelompok bakteri asam laktat dan sering dimanfaatkan dalam industri makanan seperti, *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, dan *Streptococcus* (Aloysius, dkk, 2019).

2.2.2 Manfaat

Pemanfaatan BAL selain dalam industri makanan sebagai sintesa bakteriosin dalam biopreservatif yang memberikan kontribusi di bidang kesehatan seperti pengobatan mikroorganisme yang membentuk biofilm penyebab utama penyakit kronis (Hamzah, dkk, 2020) dengan berperan sebagai antibiotik alami serta pangan probiotik (Surbakti & Hasanah, 2019).

Peranan bakteri asam laktat sebagai probiotik bagi kesehatan yaitu menurunkan kadar serum kolesterol, mengurangi frekuensi terjadinya penyakit diare, menstimulasi sistem imunitas tubuh, mengendalikan infeksi patogen, mampu berperan sebagai pengganti antibiotik, serta mampu menekan terjadinya tumor dan kanker sistem pencernaan dengan cara memelihara keseimbangan mikroba dalam sistem pencernaan (Manalu, dkk, 2020).

2.2.3 Potensi

Potensi BAL sebagai probiotik, aktifitas mutagen mencegah terjadinya kanker saluran pencernaan serta mencegah terjadinya diare (Tambunan, 2016).

Secara umum potensi BAL antara lain:

1. Sebagai starter (inoculin) pada fermentasi makanan
2. Sebagai probiotik yang banyak dimanfaatkan pada bidang kesehatan.
3. Sebagai pengawetan makanan (biopreservasi), seperti komponen bakteriosin atau biokontrol (biomassa) (Rahayu, dkk, 2019).

2.2.4 Efek

BAL merupakan salah satu dari organisme yang menghasilkan asam di industri makanan serta berperan dalam fermentasi makanan. Pembentukan asam laktat dan asam asetat disertai adanya penurunan pH merupakan efek antibakteri yang dimiliki oleh BAL (Edalati, dkk, 2019). Selain itu, BAL memproduksi senyawa penghambat mikroba seperti hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida, reuterim, dan bakteriosin. Bakteriosin adalah senyawa berupa protein yang diproduksi oleh bakteri yang sifatnya sebagai penghambat terhadap pertumbuhan bakteri lain. Beberapa bakteriosin yang mempunyai aktivitas penghambatan beberapa bakteri patogen makanan (Riadi, dkk, 2020).

2.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu (Yanuhar, 2016):

1. Konsentrasi zat.
2. Jenis, jumlah, serta tempat hidup mikroba.
3. Sifat fisika (pH, kadar air, dan tegangan permukaan) dan kimia substrat (jenis zat terlarut, koloid, dan senyawa-senyawa lainnya).

Zat antibakteri dapat digolongkan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu bakterisid dan bakteristatis. Bakterisid merupakan zat yang mampu mematikan bakteri, sedangkan bakteristatis merupakan zat yang dapat menghentikan aktivitas bakteri (Tjay dan Rahadja, 2008).

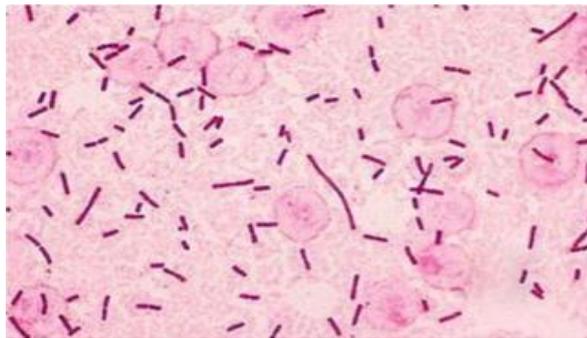
Tabel 2.1 Kategori Zona Hambat (Surjowardojo, dkk., 2015).

Diameter	Kekuatan Daya Hambat
≤ 5 mm	Lemah (<i>weak</i>)
6–10 mm	Sedang (<i>moderate</i>)
11–20 mm	Kuat (<i>strong</i>)
≥ 21 mm	Sangat Kuat (<i>Very Strong</i>)

2.4 Bakteri *Salmonella typhi*

2.4.1 Morfologi

Salmonella typhi merupakan bakteri patogenik enterik dan penyebab utama penyakit bawaan dari makanan (foodborne disease). *Salmonella typhi* merupakan bakteri batang, bersifat fakultatif, tidak berspora, besar koloni rata-rata 2-4 mm memiliki ukuran $1 - 3,5 \times 0,5 - 0,8 \mu\text{m}$, bersifat gram negatif, memiliki kapsul, serta bergerak dengan flagel.



Gambar 2.2 *Salmonella typhi* pewarnaan gram secara mikroskopis
(Kuswiyanto, 2017).

2.4.2 Klasifikasi

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Salmonella*

Spesies : *Salmonella typhi* (Murwani, 2017).

2.5 Uji Biokimia dari BAL

Isolat yang diperoleh dari MRSA kemudian dilakukan identifikasi dan beberapa pengujian untuk mengetahui karakteristik bakterinya. Diantaranya pewarnaan gram, pengujian katalase, uji motilitas, uji indol, uji H₂S, uji oksidasi dan uji reduksi nitrat.

a. Pewarnaan gram dan bentuk sel

Satu ose isolat diambil secara aseptis dan diletakkan diatas objek glass dan di ratakan seluas $\pm 1 \text{ cm}^2$ sehingga terbentuk lapisan sel tipis, kemudian preparat difiksasi dengan cara pemanasan diatas nyala spritus dengan jarak $\pm 30 \text{ cm}$, kemudian ditetesi dengan kristal ungu, didiamkan selama 60 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di suhu ruang. Selanjutnya setelah preparat kering, ditetesi iodin dan didiamkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di suhu ruang. Ditetesi dengan alkohol 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 negatif jika sel berwarna merah. Jika BAL maka berbentuk sel kokus dan basil (Ernawati, 2012).

b. Uji Katalase

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

c. Uji Motilitas

Dengan membuat media NA. Tunggu beberapa saat, lakukan proses penanaman bakteri. Ambil sampel dari dari media yang telah diisolasi secara aseptis. Tusukkan ose kedalam media nutrient agar, tutup dengan kapas. Lalu inkubasi pada suhu 37°C selama semalam. Parameter hasil, jika hasil positif ditunjukkan adanya pergerakan bakteri yang menyebar pada media dan hasil negatif tidak mengalami penyebaran pada media atau tidak adanya pergerakan.

d. Uji Indol

Siapkan medium Tryptono borth. Ambil bakteri yang akan diinokulasi menggunakan ose secara aseptis. Lalu inokulasikan ke dalam medium, tutup dengan kapas, inkubasi pada suhu 37°C selama 1-2 hari. Setelah di inkubasi, teteskan reagen kovacs secara hati-hati lewat dinding tabung. Lalu amati reaksi.

Parameter hasil, positif adanya cincin merah pada reaksi uji indol, dan negatif tidak ada cincin merah.

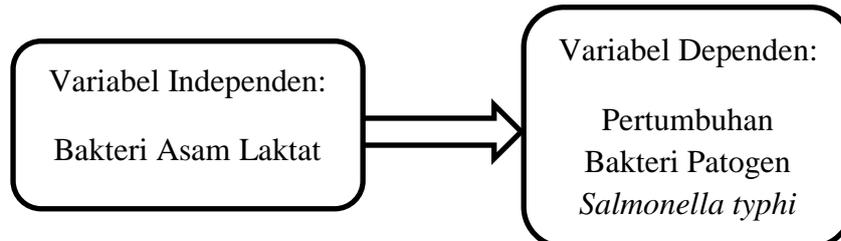
e. Uji Reduksi Nitrat

Siapkan medium NB Ambil bakteri yang akan diinokulasi menggunakan ose secara aseptis. Lalu inokulasikan kedalam medium NB. Lalu inkubasi selama dua malam pada suhu 37⁰C. Setelah diinkubasi tambahkan larutan asam sulfanilate sebanyak 1 ml, kemudian tambahkan larutan alfanaphthylamine sebanyak 1 ml dan homogenkan. Parameter hasil, positif terjadi perubahan warna medium menjadi merah, dan negatif tidak terjadi perubahan warna pada medium.

f. Uji H₂S, Fermentasi Glukosa dan Pembentukan Gas

Siapkan media TSIA. Ambil bakteri yang akan diinokulasikan menggunakan ose secara aseptis lalu goreskan pada media agar miring TSIA, dan tusukkan pada bawah agar. Setelah itu inkubasi pada suhu 37⁰C selama 2 hari.

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka Konsep

2.7 Defenisi Operasional

1. Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif yang tidak menghasilkan spora, memiliki kemampuan menghasilkan karbohidrat serta menghasilkan asam laktat.
2. Potensi BAL merupakan probiotik mencegah terjadinya kanker pada saluran pencernaan serta mencegah terjadinya diare.
3. *Salmonella typhi* adalah kelompok bakteri patogen yang menyerang sistem pencernaan yang ditularkan melalui konsumsi makanan/minuman yang terkontaminasi atau melalui penderita.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental yaitu Skrining Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Tuak Nira Terhadap *Salmonella typhi*.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.2.1 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Poltekkes Kemenkes Medan, Kec. Medan Tuntungan, Kota Medan untuk dilakukan pemeriksaan sampel lebih lanjut.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – Juni 2023.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah Bakteri Asam Laktat Asal Tuak Nira yang merupakan koleksi dari Laboratorium Terpadu.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel yang diambil dalam penelitian ini adalah 10 Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Tuak Nira yang merupakan koleksi dari Laboratorium Terpadu.

3.4 Jenis dan Cara Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dan dikumpulkan dengan cara menghitung zona bening dari bakteri *Salmonella typhi* pada media NA.

3.5 Metode Penelitian

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu, cawan petri, gelas kimia, gelas ukur, erlenmeyer, lampu spiritus, tabung ulir, ose cicin, pinset, spatula, mikropipet 100-2000 μ l, penggaris, jangka sorong, neraca analitik, hot plate, inkubator, dan autoklaf.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu, 10 Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Tuak Nira yang merupakan koleksi dari Laboratorium Terpadu. media *Nutrient Borth* (NB), media *Nutrient Agar* (NA), media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), media *de Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), ethanol, aquades steril, antibiotik amoksilin, kultur murni *Salmonella typhi* dan kultur murni *Lactobacillus casei* yang merupakan koleksi dari Laboratorium Terpadu.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Persiapan Bakteri Patogen

Membuat media SSA dengan cara menimbang 1,5 gr bubuk media SSA dalam aquades sampai volume 25 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer, panaskan menggunakan hot plate sampai larut dan tuang ke dalam cawan petri serta tunggu media memadat. Bakteri *Salmonella typhi* dibiakan menggunakan metode gores (*streak plate*) dengan mengambil 1 ose *Salmonella typhi* ke dalam cawan petri media SSA kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama semalam (Hardianto, 2019).

Pembuatan suspensi yaitu dengan cara mengambil 1 ose kultur murni bakteri *Salmonella typhi* lalu diinokulasikan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama semalam pada suhu 37°C (Soedjoto, 2016).

3.6.2 Persiapan *Lactobacillus casei*

Pembuatan media MRSA dengan cara menimbang 1,55 gr bubuk media MRSA dalam aquades sampai volume 25 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer,

panaskan menggunakan hot plate sampai larut lalu sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C. Kemudian tuang ke cawan petri dan tunggu hingga memadat media tersebut. Ambil satu koloni *L.casei* lalu gores ke media MRSA kemudian inkubasi selama semalam pada suhu 37°C (Desniar, dkk, 2012).

Pembuatan media MRSB dengan cara menimbang 0,26 gr bubuk media MRSB dalam aquades sampai 5 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer, panaskan menggunakan hot plate sampai larut, kemudian masukkan 5 mL ke dalam tabung ulir lalu sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C. Ambil 1 koloni lalu diinokulasikan menggunakan tip kuning yang direkatkan dengan pinset dan tanam ke tabung media cair MRSB, dihomogenkan dengan *vortex*, kemudian diinkubasi selama semalam pada suhu 37°C (Maryanty, dkk, 2020).

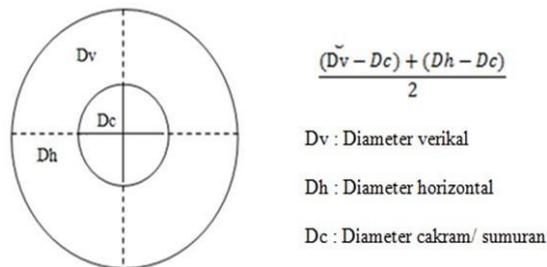
3.6.3 Persiapan Isolat Tuak Nira

Pembuatan media MRSA dengan cara menimbang 1,55 gr bubuk media MRSA dalam aquades sampai volume 25 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer, panaskan menggunakan hot plate sampai larut lalu sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C. Kemudian tuang ke cawan petri dan tunggu hingga memadat media tersebut. Ambil 5 isolat tuak nira lalu gores pada 5 juring menggunakan ose cincin ke media MRSA kemudian inkubasi selama semalam pada suhu 37°C.

Pembuatan media MRSB dengan cara menimbang 1,30 gr bubuk media MRSB dalam aquades sampai 25 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer, panaskan menggunakan hot plate sampai larut, kemudian masukkan 5 mL ke dalam tabung ulir lalu sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C. Ambil 1 koloni tiap juring lalu diinokulasikan menggunakan tip kuning yang direkatkan dengan pinset dan tanam ke tabung media cair MRSB, dihomogenkan dengan *vortex*, kemudian diinkubasi selama semalam pada suhu 37°C.

3.6.7 Uji Daya Hambat

Proses pengujian dengan membuat 4 juring menggunakan penggaris. Jumlah juring yang dibuat dalam satu cawan petri sebanyak 4 juring yang akan diisi dengan 4 macam yaitu isolat BAL tuak nira, kontrol positif (amoksilin 10 µg/ml) dan kontrol negatif (*aquades steril*), dan perlakuan. Dengan menuangkan 200 µl suspensi bakteri *Salmonella typhi* yang sudah ditanam ke media NB lalu dipipet ke dalam media NA dihomogenkan serta didiamkan 30 menit agar memadat. Setiap perlakuan, kontrol negatif, dan BAL dipipet sebanyak 10 µl menggunakan mikropipet lalu dimasukkan ke media NA kemudian masukkan ke dalam inkubator selama semalam pada suhu 37⁰C. Setelah itu, dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran diameter zona hambat menggunakan rumus sebagai berikut (Tiwa, dkk, 2017):

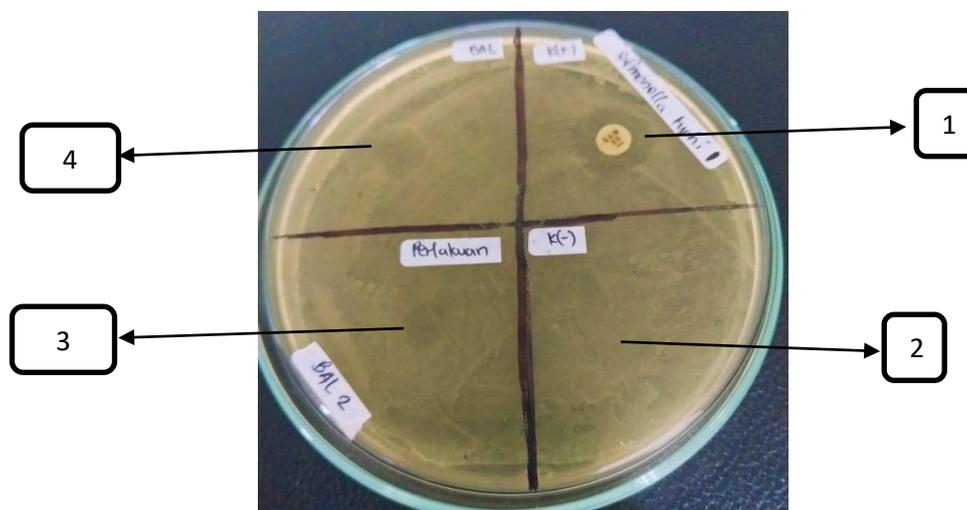


Gambar 3.1 Rumus Perhitungan Diameter Zona Bening (Tiwa, dkk, 2017).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil uji skrining BAL sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dapat diketahui dari pengamatan mengenai ada tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekitar juring. Berdasarkan gambar 4.1 hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dari kesepuluh isolat BAL yang diujikan, sebagian menghasilkan zona hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening (*clear zone*) di sekitaran juring pada media NA.



Gambar 4.1 Zona bening Isolat Tuak Nira, Keterangan; 1 (Kontrol positif), 2 (Kontrol negatif), 3 (Perlakuan), 4 (*L.casei*)

Berdasarkan Tabel 4.1. Hasil Uji Skrining Isolat Tuak Nira Terhadap *Salmonella typhi*, zona hambat paling besar dari kontrol positif amoksilin sekitar 18,50 mm diikuti dengan zona hambat isolat BAL sebesar 13,35 mm. sementara itu, kesepuluh isolat tuak nira memiliki zona hambat yang bervariasi yaitu TN.M2 sebesar 6,35 mm, BAL.TN.M3 sebesar 8,23 mm, BAL.TN.M4 dan BAL.TN.M5 tidak membentuk zona hambat, BAL.TN.F1 sebesar 6,21 mm, BAL.TN.F2 sebesar 5,52 mm, BAL.TN.F3 tidak membentuk zona hambat, BAL.TN.F4

sebesar 3,22 mm, dan BAL.TN.F5 tidak membentuk zona hambat. Sementara itu, kontrol negatif (*aquades steril*) tidak membentuk zona hambat sama sekali.

Hasil uji skrining menunjukkan zona hambat BAL asal tuak nira jauh lebih kecil daripada kontrol positif amoksilin karena amoksilin memiliki kemampuan yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Daya hambat BAL.TN.M3 merupakan paling besar di antara isolat yang lain.

Tabel 4.1 Hasil Uji Skrining Isolat Tuak Nira Terhadap *Salmonella typhi*

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori Zona Hambat
BAL.TN.M1	0,0	-
BAL.TN.M2	6,35	Sedang
BAL.TN.M3	8,23	Sedang
BAL.TN.M4	0,0	-
BAL.TN.M5	0,0	-
BAL.TN.F1	6,21	Sedang
BAL.TN.F2	5,52	Lemah
BAL.TN.F3	0,0	-
BAL.TN.F4	3,22	Lemah
BAL.TN.F5	0,0	-
Kontrol positif (amoksilin)	15,10	Kuat
Kontrol negatif (<i>aquades steril</i>)	0,0	-
<i>L.casei</i>	13,37	Kuat

4.2 Pembahasan

Hasil uji skrining BAL asal tuak nira sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* menunjukkan bahwa isolat BAL dari tuak nira mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona hambat (*clear zone*) yang terbentuk disekitar juring pada media NA. Terbentuknya zona hambat dikarenakan adanya berbagai macam senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh BAL seperti asam laktat, bakteriosin, dan lain-lain (Lacob, dkk, 2019). Hasil pengujian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ukuran daerah zona hambat yang dihasilkan oleh BAL. Menurut Fauziah dan Nurhajati (2015), menyatakan bahwa perbedaan ukuran zona hambat yang terbentuk dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor seperti pH, sumber karbon, temperatur dan fase pertumbuhan bakteri yang berpengaruh terhadap aktivitas bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL, serta sumber nutrisi seperti

karbon dan nitrogen yang terkandung berperan penting dalam laju pertumbuhan sel BAL sehingga memengaruhi laju metabolisme dan produksi bakteriosin.

Hasil uji mengenai pengujian perlakuan isolat BAL dari tuak nira terhadap bakteri *Salmonella typhi* menunjukkan bahwa kesepuluh isolat BAL berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan isolat BAL.TN.M1 berbeda nyata dengan kesembilan BAL lainnya. Berdasarkan kriteria zona hambat Menurut Pan, dkk (2009), isolat BAL.TN.M3, BAL.TN.M2, BAL.TN.F1 dan BAL.TN.F2 dikategorikan sebagai kategori “sedang” dengan zona hambat yang dihasilkan 8,23 mm, 6,35 mm, 6,21 mm, dan 5,52 mm. Diameter zona hambat BAL dikategorikan sebagai kategori lemah jika berdiameter ≤ 5 mm dan kategori kuat jika 11-20 mm dan kategori paling kuat jika ≥ 21 mm. Pada perlakuan kontrol negatif (*aquades steril*) tidak menunjukkan respon zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan *aquades steril* sebagai kontrol negatif tidak berpengaruh dan kontrol negatif berfungsi sebagai indikator untuk memastikan bahwa terbentuknya zona hambat merupakan murni dari hasil aktivitas senyawa antibakteri yang dihasilkan isolat BAL tuak nira serta tidak dipengaruhi oleh pelarut (Savira dan Trimulyono, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian amoksilin lebih efektif dibandingkan perlakuan isolat BAL tuak nira karena amoksilin memiliki mekanisme kerja dengan menekan pertumbuhan bakteri dan menghambat biosintesis dinding sel (Rupiniasih, dkk, 2019).

Pada perlakuan positif amoksilin menunjukkan respon zona hambat sebesar 15,10 mm. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian amoksilin lebih efektif dibandingkan perlakuan isolat BAL tuak nira karena amoksilin memiliki mekanisme kerja dengan cara menekan pertumbuhan bakteri dan menghambat biosintesis dinding sel (Rupiniasih, dkk, 2019). Berdasarkan kriteria menurut CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2016), standard zona hambat amoksilin terhadap bakteri gram negatif (*enterobacteriaceae*) dikategorikan sensitif jika zona hambat berdiameter ≤ 14 mm, intermediet jika zona hambat berdiameter 14-16 mm dan resisten jika zona hambat berdiameter ≥ 17 mm. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif amoksilin 10 μ g/ml dikategorikan sebagai zona hambat “sensitif” karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri

Salmonella typhi sehingga menimbulkan sensitivitas terhadap bakteri tersebut dengan cara menghambat sintesis peptidoglikan yang menyebabkan terjadinya lisis osmotik pada bakteri *Salmonella typhi* (Artati, dkk., 2021).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa Isolat BAL asal tuak nira memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dengan nilai zona hambat yang bervariasi, sehingga isolat BAL berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dengan daya hambat paling tinggi dihasilkan oleh isolat BAL.TN.M3 sebesar 8,23 mm dan untuk nilai kontrol positif daya hambat paling tinggi yang dihasilkan sebesar 15,10 mm, serta nilai *L.casei* sebesar 13,35 mm. Nilai zona hambat isolat BAL asal tuak nira lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif amoksilin.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian mengenai potensi antibakteri isolat bakteri asam laktat asal tuak nira terhadap *Salmonella typhi* penulis memberikan saran untuk penelitian selanjutnya diharapkan melanjutkan penelitian potensi antibakteri isolat asal tuak nira terhadap bakteri patogen spesies lainnya dan fermentasi isolat lainnya serta menjadi tambahan pengetahuan dan referensi penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Admoko, A.D. 2017. *Analisa Pengembangan Produk Gula Aren di Kabupaten Purworejo*. *Jurnal Dinamika Sosial Ekonomi*, 6(1):15-28.
- Alfiyanti E dan Putri DH. 2020. *Precision Enumeration of The Number of Bacterical Cell with The Spread Plate Methode Using Dilution*. *Serambi Biologi*; 5(1): 7-10.
- Aloysius, A., Ulfa, A., Situmorang, Harmileni, H., dan Fachrial, E. 2019. *Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi dari Makanan Tradisional Fermentasi Khas Batak "Naniura"*. *Biolink: Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan*, 6(1), 8-15.
- Apriyanto M, Sutardi S, Harmayani E, dan Supriyanto S. 2016. *Perbaikan Proses Fermentasi Biji Kakao Non Fermentasi dengan Penambahan Biakan Murni Saccharomyces cerevisiae, Lactobacillus lactis dan Acetobacter aceti*. *Agritech*; 36(4): 410-415.
- Artati A, Armah Z, dan Anwar AY, 2021. *Uji Sensitivitas Berbagai Jenis Antibiotik Terhadap Salmonella sp. yang Diisolasi dari Penderita Demam Typhoid*. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*;12(1): 25-34.
- Berlian Z, Aini F, dan Ulandari R. 2016. *Uji Kadar Alkohol pada Tapai Ketan Putih dan Singkong Melalui Fermentasi dengan Dosis Ragi yang Berbeda*. *Jurnal Biota*; 2(1): 106–111.
- Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI), 2016. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility*. 26 Edition. USA: Pennsylvania.
- Djadouni F and M Kihal. 2012. *Antimicrobial Activity of Lac-tic Acid Bacteria and The Spectrum of Their Biopeptides Against Spoiling Germs in Food*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 55(3), 435-443.
- Edalati E, Saneei B, Alizadeh M, Hosseini SS, Zahedi Bialvaei A, dan Taheri K. 2019. *Isolation of Probiotic Bacteria from Raw Camel's Milk and Their Antagonistic Effects on Two Bacteria Causing Food Poisoning*. *New Microbes and New Infections*; Elsevier Ltd. 27: 64–68.
- Ernawati. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Pada Susu Kambing Segar*. Universitas Islam Negeri Malang: Malang. Diakses pada tanggal 29 Februari 2012.
- Fadhilla R, Iskandar EA, dan Kusumaningrum HD. 2012. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Lumt Hati (Marchantia paleacea) Terhadap Bakteri*

- Patogen dan Perusak Pangan. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*; 23(2): 126-131.
- Fathnur. 2019. *Uji Kadar Alkohol pada Tapai Ketan Putih (Oryza sativa L. var glutinosa) dan Singkong (Manihot sp.) melalui Fermentasi dengan Dosis Ragi yang Berbeda. Jurnal Agrisistem*; 15(2): 71–79.
- Fauziah PN dan Nurhajati J, 2015. Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus Gasseri* Terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* Strain AT 7006, T1538 dan S941. *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(1): 35-41
- Fera Santika. 2019. *Daya Hambat Air Kelapa (Cocos nucifera) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhi dan Escherichia coli*. Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. Palangkaraya. *Jurnal Surya Medika*.
- Fitriana GAV. 2018. *Uji Efek Kombinasi Antibiotik Amoksisilin Dengan Ekstrak Metanol Daun Sirih (Piper betle L) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Hamzah, H., Hertiani, T., Pratiwi, S.U.T., dan Nuryastuti, T. 2020. *Efficacy of Quercetin against Polymicrobial Biofilm on Catheters*, *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(11), 5277-5282.
- Hardianto D. 2019. *Telaah Metode Diagnosis Cepat dan Pengobatan Infeksi Salmonella typhi*. *Jurnal Bioteknologi Biosains Indonesia (JBBI)*; 6(1): 149-158.
- Harti AS. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan: Peran Mikrobiologi Dalam Bidang Kesehatan Edisi*. Yogyakarta: Andi Publisher.
- Hesty, H. 2016. *Keutamaan Gula Aren dan Strategi Pengembangan Produk*. [http://eprints.ulm.ac.id/1606/7/Buku%20Keutamaan%20Gula%20Aren%200&%20Strategi%20Pengembangan%20Produk%20\(Bu%20Hesty\).pdf](http://eprints.ulm.ac.id/1606/7/Buku%20Keutamaan%20Gula%20Aren%200&%20Strategi%20Pengembangan%20Produk%20(Bu%20Hesty).pdf)
- Imara F. 2020. *Salmonella typhi. Bakteri Penyebab Demam Tifoid*. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi*; 6(1): 1-5.
- Kanino, D. 2019. *Pengaruh konsentrasi ragi pada pembuatan tape ketan*. *J. Unhas*, 1(1), 64–71.
- Koriasih, P., dan Jannah, S. N. 2019. *Isolasi bakteri asam laktat dari tape ketan dan potensinya sebagai agen antikapang terhadap pertumbuhan Aspergillus flavus*. *NICHE Journal of Tropical Biology*, 2(10): 7–13.
- Kuswiyanto. 2017. *Bakteriologi Buku Ajar Analisis Kesehatan*. Jakarta.

- Lacob S, DianaGL, dan Luminita M, 2019. *Intestinal Microbiota as a Host Defense Mechanism to Infectious Threats. Front Microbial*; 9(1): 2-9.
- Manalu, R. T., Bahri, S., dan Sarah, S. 2020. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat asal Feses Manusia sebagai Antibakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*, Sainstech Farma, 13(1): 55–59.
- Maryanty Y, Saputra FLW, dan Prasetyo R. 2020. *Pembuatan Asam Laktat dari Selulosa oleh Bakteri Lactobacillus delbrueckii dengan Selulase dari Bakteri Bacillus subtilis dan Bacillus circulans. Jurnal Teknik Kimia dan Lingkungan*; 4(2): 153-161.
- Maunatin A dan Khanifa K. 2012. *Uji Potensi Probiotik Lactobacillus plantarum Secara in Vitro. Alchemy*; 2(1): 26-34.
- Mussa, R. 2014. *Kajian tentang lama fermentasi nira aren (Arenga pinnata) terhadap kelimpahan mikroba dan kualitas organoleptic tuak. Jurnal Biopendix*. 1(1).
- Murwani, S., Qosimah, D., dan Amri, I. A. 2017. *Penyakit Bakterial Pada Ternak Hewan Besar dan Unggas*. Malang: UB Press.
- Nasution APA, Erina E, Darmawi D, Darniati D, Ismail I, dan Thasmi N. 2017. *Total Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Caecum Puyuh (Coturnix japonica). Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*; 1(4): 774-779.
- Pan X, Chen F, Wu T, Tang H, dan Zhao Z, 2009. *The Acid, Bile Tolerance and Antimicrobial Property of Lactobacillus acidophilus NIT. Food Control*; 20(6): 598-602.
- Rahayu, Endang S dan Tyas utami. 2019. *Probiotik dan gut mikrobiota: serta manfaatnya pada kesehatan*. Yogyakarta: PT Kanisius Retnowati, Pratiwi Anggun. 2014. *Pembuatan minuman probiotik sari buah kurma (Phoenix dactylifera) dengan isolat Lactobacillus casei dan Lactobacillus plantarum. Jurnal pangan dan agroindustri*. Vol 2. No 2: 70-81.
- Riadi S, Setiyawati D, dan Situmeang S. 2020. *Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Kimchi dan The Kombicha dalam Menghambat Bakteri Patogen. Jurnal Kesmas Prima Indonesia*; 2(1): 25–29.
- Riadi S, Situmeang SM, dan Musthari M. 2017. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yogurt dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli dan Salmonella typhi. Jurnal Biosains*; 3(3): 144-152.

- Rinto R, Sasanti AD, dan Fitria K. 2012. *Aktivitas Penghambat Isolat Bakteri Asam Laktat Ikan Nila dan Tongkol Terhadap Bakteri Merugikan Produk Perikanan. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*; 15(2): 94-100.
- Rupiniasih NN, Indriani I, Syamsuddin S, dan Razak AR, Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Kloroform, Etil Asetat Bunga Kamboja (*Pulmeria alba*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. KOVALEN: *Jurnal Riset Kimia*;5(2): 173-181.
- Saranya S and N Hemashenpagam. 2011. *Antagonistic Activity and Antibiotic Sensitivity of Lactic Acid Bacteria from Fermented Dairy Product. Pelagia Research Library Advances in Applied Science Research* 2(4), 528-534.
- Savira HG dan Trimulyono G, 2021. Aktivitas Antibakteri Isolat dan Identifikasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Didih Susu Kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*; 14(3): 228-233.
- Sihombing, M. T. N. 2019. *Gambaran Peminum Tuak Dan Tidak Peminum Tuak Terhadap Erosi Gigi Pada Masyarakat Lingkungan X Kelurahan Mangga Medan Tuntungan.*
- Solang, YNN Ismail, WD Uno. 2020. *Komposisi Proksimat dan Indeks Glikemik Nira Aren. Biospecies*, 13(2): 1-9.
- Soedjoto L. 2016. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Cacing Tanah (Lumbricus Rubellus) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhi. The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist Back Issue*; 2(2): 40-49.
- Surbakti, F. H., dan Hasanah, U. 2019. *Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Acar Ketimun (Cucumis sativus L.) sebagai Agensi Probiotik, Jurnal Teknologi Pangan Keseheatan*, 1: 31–37.
- Surjowardojo, P., Tri, E.S., & Gabriel, R. B. S. 2015. Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas sp.* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. *Jurnal Ternak Tropika*, 16(2), 40-48.
- Tambunan, A.R. 2016. *Karakteristik Probiotik Berbagai Jenis Bakteri Asam Laktat pada Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas.* Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Titilayo, F., dan Temitope, A. 2019. *Microbiological and Physicochemical Changes in Palm Wine Subjected to Spontaneous Fermentation During Storage. International Journal of Biotechnology*, 8(1): 48-58.

- Tiwa FG Homenta H, dan Hutagalung B. 2017. *Uji Efektivitas Daya Hambat Getah Daun Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Terhadap Streptococcus mutans*. *Pharmacon*; 6(4): 192-200.
- Tjay, T.H., dan Rahadja K, 2018. *Obat-obat Penting: Khasiat, penggunaan, dan efek-efek sampingnya*. ned.5. Jakarta: PT. Elex Media Computindo, pp:312-334.
- Widodo. 2019. *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal*. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- World Health Organization. 2018. *Weekly Epidemiological Record*. Geneva: WHO.
- Yanuhar, U. 2016. *Mikroalga Laut*. UB Press.
- Yuliana N dan Dizon EI. 2011. *Phenotypic Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Tempoyak (Fermented Durian) Made in The Philippines*. *International Journal of Biology*; 3(2): 145.

LAMPIRAN I

Scan Surat Permohonan Penelitian

Surat Permohonan Penelitian

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Novela Chintyana S
NIM : P07534020143
Judul : Potensi Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)
Asal Tape Ubi Dan Tuak Nira Terhadap *Salmonella typhi*
Semester : VI

Memohon kepada jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Medan untuk membuat surat permohonan izin untuk dapat melakukan penelitian di Laboratoium Terpadu dalam menyelesaikan Tugas Akhir. Demikianlah surat permohonan ini saya sampaikan atas keizinan ibu ketua jurusan saya ucapkan terimakasih.

Mengetahui
Dosen Pembimbing



(Febri Sembiring, S.Si, M.Si, M.Sc)
NIP. 19920210 202203 1 002

Medan, 28 Maret 2023
Mahasiswa



(Novela Chintyana S)
NIM : P07534020143

LAMPIRAN II

Scan Surat *Ethical Clearance*

 KEMENKES RI	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 : kep.k.poltekkesmedan@gmail.com	
--	---	---

PERSETUJUAN KEPK TENTANG
PELAKSANAAN PENELITIAN BIDANG KESEHATAN
Nomor: 01/061 /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 :

“Potensi Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Tape Ubi dan Tuak Nira Terhadap Salmonella typhi”

Yang menggunakan manusia dan hewan sebagai subjek penelitian dengan ketua Pelaksana/ Peneliti Utama : **Novela Chintyana S**
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.

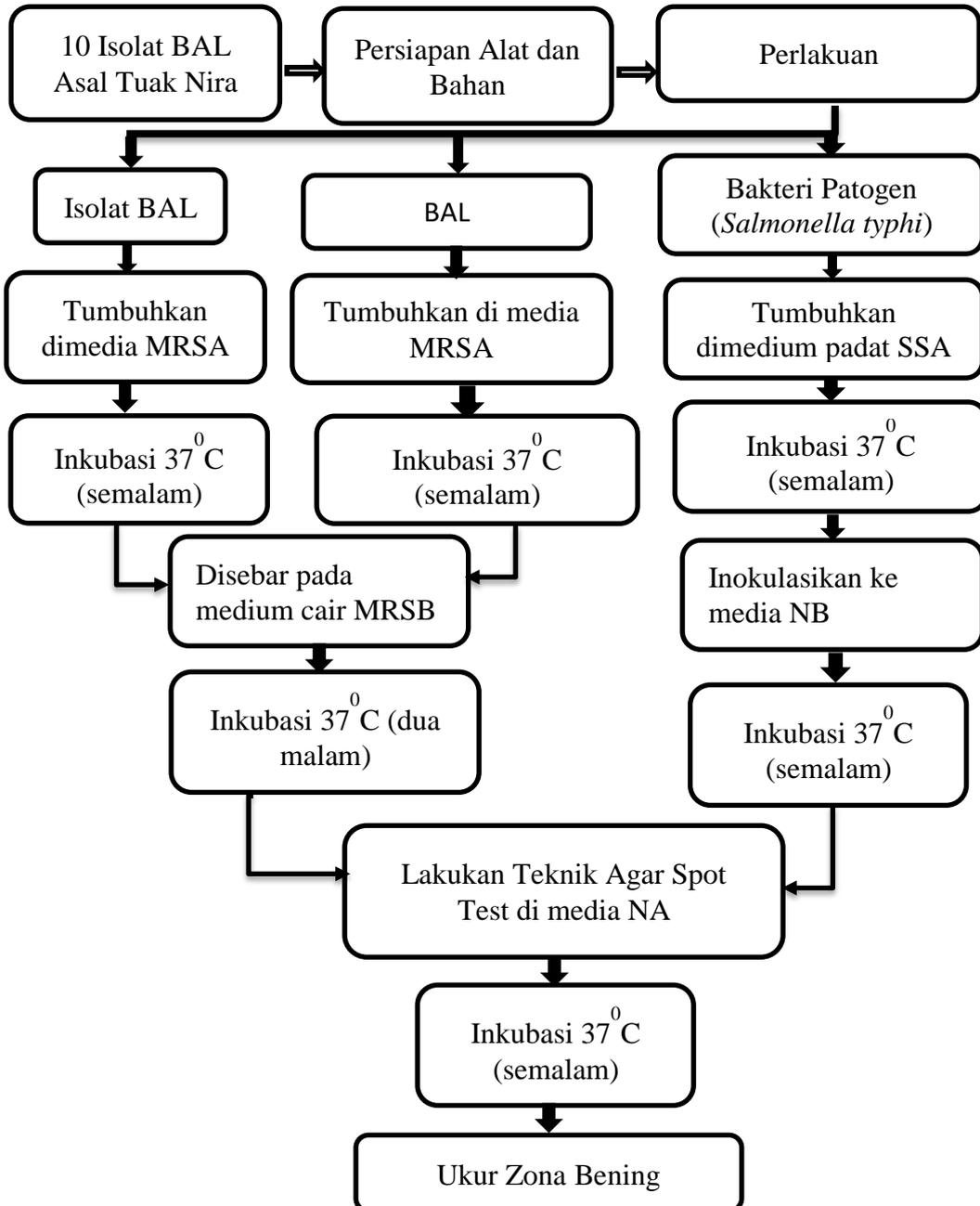
Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol dengan masa berlaku maksimal selama 1 (satu) tahun.

Medan, Mei 2023
Ketua,
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Poltekkes Kemenkes Medan


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

LAMPIRAN III

SKEMA PROSEDUR KERJA



LAMPIRAN IV

PEMBUATAN MEDIA

1. Media *Salmonella Shigella* Agar (SSA)

Komposisi :

- Ekstrak adding sapi : 5 gr
- Laktosa : 10 gr
- Gram sodium sitrat : 8,5 gr
- Neutral Red : 0,0025
- Gram polipepton : 5 gr
- Gram garam empedu : 8,5 gr
- Gram sodium thiosulfat : 8,5 gr
- Gram agar : 13,5 gr
- Brilliant Green : 0,33 gr

Prosedur Kerja :

Timbang 1,5 gr bubuk SSA dan larutkan dalam 25 mL aquades sampai homogen menggunakan hot plate. Tuang media ke cawan petri sebanyak \pm 25 mL secara aseptis dengan menggunakan lampu bunsen. Setelah media membeku simpan media ke dalam lemari pendingin sampai digunakan.

2. Media *de Man Rogosa Sharpe* Agar (MRSA)

Komposisi :

- Dextrose : 20 gr
- Bacteriological peptone : 10 gr
- Gram beef extract : 8 gr
- Gram sodium acetate : 5 gr
- Gram yeast extract : 4 gr
- Gram dipotasium phosphate : 2 gr
- Gram ammonium citrate : 2 gr
- Gram tween 80 : 1 gr

- Gram magnesium sulfate : 0,2 gr
- Gram manganese sulfate : 0,05 gr
- Gram bacteriological agar : 10 gr

Prosedur Kerja :

Pembuatan media MRSA dengan cara menimbang 1,55 gr bubuk media MRSA dalam aquades sampai volume 25 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer, panaskan menggunakan hot plate sampai larut lalu sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C. Kemudian tuang ke cawan petri dan tunggu hingga media membeku tersebut. Setelah itu, simpan media ke dalam lemari pendingin sampai digunakan.

3. Media *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB)

Komposisi :

- Gram kasein/daging pepton : 10 gr
- Gram ekstrak daging : 8 gr
- Gram ekstrak yeast : 4 gr
- D(+) glucose : 20 gr
- Garm dipotassium hydrogen phosphate : 2 gr
- Tween 800 : 1 ml
- Gram di-ammonium hydrogen citrate : 2 gr
- Gram sodium asetat : 5 gr
- Gram magnesium sulfat : 0,2 gr
- Gram mangan sulfat : 0,04 gr

Prosedur Kerja :

Pembuatan media MRSB dengan cara menimbang 0,26 gr bubuk media MRSB dalam aquades sampai 5 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer, panaskan menggunakan hot plate sampai larut, kemudian masukkan 5 mL ke dalam tabung ulir lalu sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C. Setelah media dingin simpan media ke dalam lemari pendingin sampai digunakan.

4. Media *Nutrient Agar* (NA)

Komposisi :

- Tepung agar : 15 gr
- Pepton : 10 gr
- NaCl : 5 grm
- Beef ekstrat : 3 gr

Prosedur Kerja:

Pembuatan media NA dengan cara menimbang 2,5 gr bubuk media MRSA dalam aquades sampai 125 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer, panaskan menggunakan hot plate sampai larut, kemudian masukkan ke dalam lalu sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C. Tuang ke petridish ± 25/petridish sampai membeku dengan aseptis di dekat lampu bunsen. Setelah media dingin simpan media ke dalam lemari pendingin sampai digunakan.

5. Media *Nutrient Broth* (NB)

Komposisi:

- Pepton : 10 gr
- NaCl : 5 gr
- Beef extract : 3 gr

Prosedur Kerja :

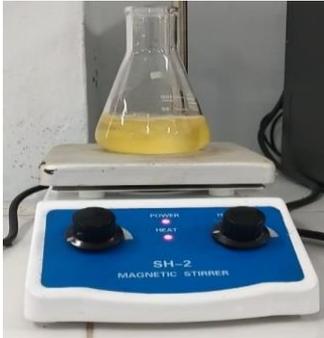
Pembuatan media NB dengan cara menimbang 0,04 gr bubuk media NB dalam aquades sampai 5 ml lalu masukkan ke dalam erlenmeyer, panaskan menggunakan hot plate sampai larut, kemudian masukkan 5 mL ke dalam tabung ulir lalu sterilisasi menggunakan autoklaf selama 1 jam pada tekanan 1 atm dengan suhu 121°C. Setelah media dingin simpan media ke dalam lemari pendingin sampai digunakan.

LAMPIRAN V

GAMBAR PROSES DAN HASIL PENELITIAN

Proses Pembuatan Media

Media MRSA



Media SSA



Hasil Peremajaan *Salmonella typhi*



Hasil Inokulasi *Salmonella typhi*
pada media cair di NB



Hasil Peremajaan *L.casei*



Hasil Inokulasi *L.casei* pada media
cair MRSB



Hasil Isolat Tuak Nira



Hasil Peremajaan Isolat Tuak Nira
Di Media MRSA



Isolat tuak Nira diinokulasikan ke
media cair MRSB



Hasil inokulasi Isolat Tuak Nira
pada media cair MRSB



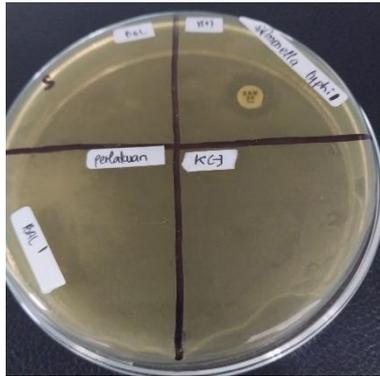
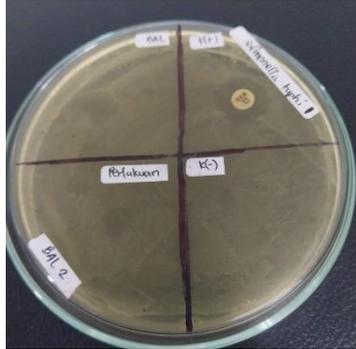
Di inkubasi pada suhu 37°C.



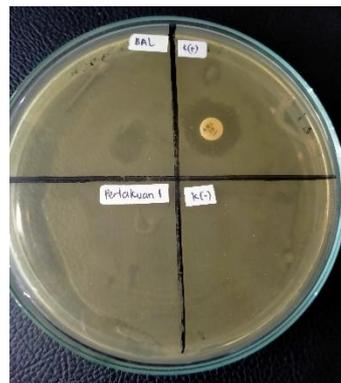
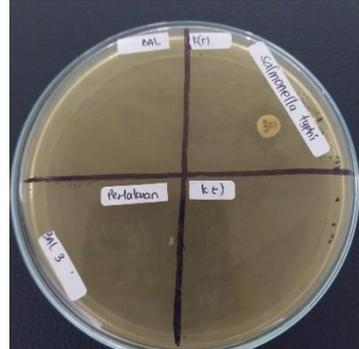
Hasil inokulasi Isolat Tuak Nira
pada media cair MRSB



Hasil Zona Hambat



Hasil Zona Hambat



LAMPIRAN VI

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Nama : Novela Chintyana S
NIM : P07534020143
Tempat, Tanggal Lahir : Medan, 15 November 2001
Agama : Kristen protestan
Status Dalam Keluarga : Anak ke-2 dari 3 bersaudara
Alamat : Jl. Bunga Terompet II A No.3 Lk
XIV Medan Selayang II
No. Telepon/HP : 0853-5959-1109
Pendidikan
1. Tahun 2007-2013 : SD Negeri 066656
2. Tahun 2013-2016 : SMP Swasta Putri Cahaya
3. Tahun 2016-2019 : SMA Swasta Methodist 8

IDENTITAS ORANG TUA

NAMA

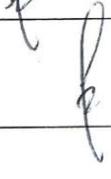
Ayah : Jarapen Situngkir, AMK
Ibu : Rita Dewi Simanjuntak, S.Si

LAMPIRAN VII

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

Judul Proposal : SKRINING ANTIBAKTERI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) ASAL TUAK NIRA TERHADAP *Salmonella typhi*

No.	Hari, Tanggal	Masalah	Masukan	TTD Dosen Pembimbing
1.	Kamis, 27-Okto-2022	Konsultasi Judul KTI	Mencari data terbaru dan masalah	
2.	Selasa, 14-Nov-2022	ACC Judul KTI	Skrining Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Tuak Nira Terhadap <i>Salmonella typhi</i>	
3.	Rabu, 16-Nov-2022	BAB I Latar Belakang	Tambahkan daftar pustakannya	
4.	Jumat, 18-Nov-2022	BAB I Latar Belakang	Tambahkan jurnal penelitian terdahulu	
5.	Senin, 21-Nov-2022	BAB II Tinjauan Pustaka	Sesuaikan teori Bab II dengan judul	
6.	Jumat, 2-Des-2023	BAB III Metode Penelitian	Tambahkan sumber pada prosedur kerja	
7.	Jumat, 13-Jan-2023	BAB I,II, dan III Latar Belakang, Tinjauan Pustaka, dan Metode Penelitian	Tambahkan sumber terbaru untuk prosedur kerja	
8.	Senin, 30-Jan-2023	BAB III Metode Penelitian	Membahas populasi dan sampel penelitian sesuaikan dengan judul	
9.	Jumat, 17-Feb-2023	BAB III Metode Penelitian	Tambahkan perhitungan koloni	
10.	Sabtu, 25-Feb-2023	BAB I, II, dan, III Latar Belakang, Tinjauan Pustaka, dan Metode Penelitian	Hapus alur penelitian dan sesuaikan dengan panduan.	

11.	Senin, 27-Feb- 2023	ACC	Persetujuan Proposal	
12.	Rabu, 12-Apr- 2023	Konsultasi Penelitian	Membahas prosedur kerja BAB III	
13.	Selasa 9-Mei- 2023	BAB IV-BAB V	Penambahan dan Pembahasan BAB IV dan membuat kesimpulan dan saran	
14.	Jumat, 12-Mei- 2023	BAB IV-BAB V	Penambahan dan Pembahasan Hasil Pada BAB IV	
15.	Selasa, 16-Mei- 2023	BAB IV-BAB V, Abstrak dan Kata Pengantar	KTI di ACC	

Medan, 15 Juni 2023

Dosen Pembimbing


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

LAMPIRAN VIII

Scan Surat Keterangan Bebas Laboratorium



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL TENAGA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
Jl. Jamin Ginting KM. 13,5 Kel. Laucih 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. 31/LT/VII/2023

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

Nama : Novela Chintyana S
NIM : P07534020143
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:

"Skринing Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Tape Ubi Dan Tuak Nira Terhadap *Salmonella typhi*"

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