

KARYA TULIS ILMIAH

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
(BAL) ASAL TAPE UBI**



**ANDINI AMELIA SAPITRI HARAHAH
P075340200444**

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
TAHUN 2023**

KARYA TULIS ILMIAH

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM
LAKTAT (BAL) ASAL TAPE UBI**

Sebagai Syarat Menyelesaikan Pendidikan Program Studi
Diploma III Teknologi Laboratorium Medis



**ANDINI AMELIA SAPITRI HARAHAH
P075340200444**

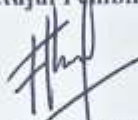
**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MEDAN
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
TAHUN 2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

JUDUL : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Tape Ubi
Nama : Andini Amelia Sapitri Harahap
Nim : P07534020044

Telah Diterima dan Disetujui Untuk Diseminarkan Dihadapan Penguji
Medan, 17 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 Tape Ubi
Nama : Andini Amelia Sapitri Harahap
Nim : P07534020044

Karya Tulis Ilmiah ini Telah diuji pada Sidang Ujian
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan
Medan, 31 Mei 2023

Penguji I


Dewi Setiyawati, SK.M, M.Kes
NIP 196705051986032000

Penguji II


Suryani MF Situmeang S.Pd M.Kes
NIP 196609281986032001

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

LEMBAR PERNYATAAN

UJI DAYA ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL TAPE UBI

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

Medan, 15 Juni 2023

**Andini Amelia Sapitri Harahap
P07534020044**

**POLYTECHNIC OF HEALTH KEMENKES MEDAN DEPARTMENT OF
MEDICAL LABORATORY TECHNOLOGY**
Scientific Writing, JUNE 2023

Andini Amelia Sapitri Harahap

Isolation and characterization of lactic acid bacteria of yam tape origin

ix + 29 pages, 1 tables, 2 pictures, 3 attachments

ABSTRACT

Lactic Acid Bacteria are bacteria that are beneficial to the human digestive system because they can inhibit the growth of pathogenic bacteria and can maintain the balance of microflora in the digestive tract. This study aims to determine the BAL isolate from yam tape fermentation and find out the characteristics of the BAL isolate obtained. BAL isolation was carried out by stratified dilution using physiological NaCl 0.85%. The sample was diluted to 10^{-7} then grown on MRS Agar which was added with 1% CaCO₃ and incubated at 37°C for 2 nights. Characterization of BAL isolates is carried out based on morphological, physiological, and biochemical characteristics. Based on the results of the study showed that 40 BAL isolates were obtained from fermented yam tape with positive gram, negative catalase, negative coagulase. Such results are common characteristics of BAL. In morphological characterization results, 40 isolates were obtained round and white, gram positive, non-motile, non-spore. The results of physiological and biochemical characterization show that all isolates have the characteristics of catalase, negative coagulase and are homofermentative. Based on the results of characterization, it can be concluded that all isolates obtained belong to the lactobacillus sp.

Keywords : Lactic Acid Bacteria, Isolation, tape

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

Andini Amelia Sapitri Harahap

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Tape Ubi

ix + 29 pages, 1 tables, 2 pictures, 3 attachments

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang bermanfaat bagi sistem pencernaan manusia karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan dapat menjaga keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui isolat BAL dari fermentasi tape ubi dan mengetahui karakteristik isolat BAL yang diperoleh. Isolasi BAL dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan NaCl fisiologis 0,85% . Sampel disencerkan hingga 10^{-7} kemudian ditumbuhkan pada media MRSA yang ditambahkan dengan CaCO_3 1% selama 2 malam. Karakterisasi isolat BAL dilakukan berdasarkan pada karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh 40 isolat yang terisolasi. Hasil uji biokimia yaitu pewarnaan gram, diperoleh hasil 40 isolat gram positif dengan warna ungu dan bentuk sel bulat. Pada uji Katalase diperoleh 40 isolat katalase negatif. Pada uji motilitas 40 isolat non motil, uji Koagulase 40 isolat koagulase negatif. Berdasarkan hasil isolasi dan karakterisasi BAL asal tape ubi merupakan bakteri asam laktat golongan lactobacillus yang dibuktikan dengan hasil pewarnaan gram positif dan isolat berbentuk bulat.

Kata kunci : BAL, Isolasi, tape

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Tape Ubi”**.

Karya Tulis Ilmiah ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Diploma III di Poltekkes Kemenkes Medan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini penulis banyak mendapat bimbingan, bantuan, saran, pengarahan, serta doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu RR. Sri Arini Winarti Rinawati, SKM, M.Kep selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Medan.
2. Ibu Nita Andriani Lubis, S.Si, M.Biomed selaku Ketua Jurusan Poltekkes Kemenkes Medan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
3. Bapak Febri Sembiring S.Si, M.Si selaku Dosen Pembimbing dan Ketua Penguji yang telah memberikan waktu serta tenaga dalam membimbing, memberi dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Ibu Dewi Setiyawati selaku Penguji I dan Ibu Suryani MF Situmeang selaku penguji II yang telah memberikan masukan berupa kritik dan saran untuk kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Seluruh Dosen dan Staff Pegawai Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang telah membimbing penulis selama mengikuti perkuliahan di Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

6. Teristimewa untuk kedua orang tua sekaligus keluarga yang saya sayangi dan cintai dengan sepenuh hati yaitu bapak Dian Sugandi Harahap dan Ibu Habibah Pulungan, yang selalu mendoakan penulis tiada henti dan mendukung penulis sekaligus berjuang dengan pengorbanan yang tidak terbatas untuk selalu memberikan yang terbaik dalam hidup penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Kepada kakak dan abang kandung saya Anita Salsabilah Harahap dan Wildan Sabri Harahap yang selalu mengingatkan dan menyemangati penulis untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini serta dukungan dan doa.
8. Juga kepada semua rekan yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan proposal ini.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kata sempurna dan masih banyak terdapat kekurangan dari segi penyajian materi maupun pengetikan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dan penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini. Akhir kata penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi penulis dan para pembaca.

Medan, 15 Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| LEMBAR PERSETUJUAN | |
| LEMBAR PENGESAHAN | |
| LEMBAR PERTANYAAN | |
| ABSTRACT | i |
| ABTRAK..... | ii |
| KATA PENGANTAR | iii |
| DAFTAR ISI | v |
| DAFTAR TABEL | vii |
| DAFTAR GAMBAR | viii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | ix |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 2 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 2 |
| 1.3 Manfaat Penelitian | 2 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 Bakteri Asam Laktat | 4 |
| 2.2 Tape Ubi | 5 |
| 2.3 Isolasi BAL | 6 |
| 2.4 Identifikasi dan Karakterisasi..... | 7 |
| 2.5 Kerangka Konsep Penelitian..... | 8 |
| 2.6 Defenisi Operasional..... | 8 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 10 |
| 3.1 Alur Penelitian | 10 |
| 3.2 Jenis Penelitian | 11 |
| 3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian | 11 |
| 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian | 11 |
| 3.5 Jenis dan Cara Pengumpulan Data | 11 |
| 3.6 Prosedur Kerja..... | 12 |

| | |
|--|-----------|
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 16 |
| 4.1 Hasil Penelitian | 16 |
| 4.2 Pembahasan..... | 18 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 22 |
| 5.1 Kesimpulan | 22 |
| 5.2 Saran..... | 22 |
| DAFTAR PUSTAKA | 23 |
| LAMPIRAN..... | 26 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 4.1 Karakteristik Isolat BAL..... | 16 |
|---|----|

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar 2.1 Kerangka Konsep Penelitian..... | 8 |
| Gambar 4.1 Zona Bening | 14 |
| Gambar 4.2 Hasil Pewarnaan Gram | 15 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| LAMPIRAN I <i>Ethical Clearance (EC)</i> | 21 |
| LAMPIRAN II Surat Permohonan Penelitian | 22 |
| LAMPIRAN III Surat Keterangan Bebas Laboratorium..... | 23 |
| LAMPIRAN III Dokumentasi Penelitian..... | 24 |
| LAMPIRAN IV Perhitungan Media..... | 25 |
| LAMPIRAN V Lembar Konsultasi Karya Tulis Ilmiah..... | 27 |
| LAMPIRAN VI Daftar Riwayat Hidup..... | 29 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif, dapat memproduksi BAL dengan cara memfermentasi karbohidrat, tidak berspora, berbentuk bulat atau batang, katalase negatif, tersusun berpasangan atau berbentuk rantai, tidak bergerak, tidak berspor, anaerob fakultatif, non motil, mesofil.. BAL termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambah dalam bahan pangan dan pembuat anti toksin, atau dikenal sebagai mikroorganisme yang Generally Recognized As Safe (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan selain membuat bakteriosin juga memberikan efek fisiologis terhadap Kesehatan (DeVuys dan Leroy, 2007).

Tape ubi merupakan jenis kuliner tradisional yang menggunakan proses fermentasi dari suatu substrat atau bahan pangan sumber pati seperti ubi atau singkong menggunakan ragi khamir dan kapang yang termasuk bakteri asam laktat (BAL) di dalam proses pembuatannya. Pada fermentasi alami tape ubi, bakteri yang tumbuh yaitu bakteri mesofili, anaerob, serta BAL. Ubi yang diolah menjadi tape adalah ubi yang manis biasanya berwarna kuning atau putih. Kandungan yang ada di dalam ubi yaitu karbohidrat, protein, serat, lemak, kalium, kalsium, vitamin C. Makanan fermentasi memang mengandung bakteri baik yang bermanfaat untuk tubuh, namun kebanyakan memakan makanan fermentasi dapat membahayakan bagi kesehatan, karena penumpukan bakteri baik dalam tubuh dapat menyebabkan perut mudah bergas dan kembung.

Fermentasi spontan alami pada tape ubi yaitu pertumbuhan bakteri yang didominasi oleh BAL yang berperan penting dalam pertumbuhan bakteri patogen enterik dengan substansi antibakteri yang dihasilkan. Proses fermentasi yang tepat akan menghasilkan tape yang rasanya manis sedikit asam dan beraroma alkohol. Rasa manis tape berasal dari ragi yang memecah karbohidrat dalam singkong menjadi gula sederhana, hal tersebut membuat tape berasa manis, meski tidak diberi gula.

Isolasi bakteri dilakukan untuk dimanfaatkan sebagai agen probiotik yang merupakan mikroorganisme yang memiliki manfaat baik bagi kesehatan dengan membentuk koloni di saluran pencernaan yaitu pada usus, serta mempunyai adhesi yang kuat pada permukaan epitel usus yaitu pada mukosa. Peranan BAL menjadi probiotik bagi kesehatan diantaranya, menurunkan kadar intoleransi laktosa, menurunkan kadar serum kolestrol, mengurangi frekuensi terjadinya penyakit diare, menstimulasi sistem imunitas tubuh, mengendalikan infeksi patogen mampu berperan menjadi pengganti antibiotik, dan mampu menekan terjadinya tumor dan juga kanker sistem pencernaan (Manalu dkk, 2021).

Pada penelitian sebelumnya pernah dilakukan (Rahmah dkk, 2021) bahwa isolasi BAL dari makanan fermentasi tape ubi menunjukkan semua isolat positif bakteri probiorik. Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Tape Ubi”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka dirumuskan suatu permasalahan yaitu apakah tape ubi mengandung BAL?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum pada penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah tape ubi mengandung BAL.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus pada penelitian adalah untuk mengidentifikasi isolat dan karakter BAL.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini adalah :

1. Bagi Penulis, untuk menambah wawasan dan pengetahuan tentang isolasi dan karakterisasi BAL asal tape ubi.
2. Bagi Institusi Pendidikan, sebagai bahan bacaan, informasi, dan masukan dalam meningkatkan mutu pendidikan bagi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis terutama di bidang bakteriologi.
3. Bagi Masyarakat, sebagai bahan bacaan, informasi, dan masukan terkait makanan fermentasi tape ubi sebagai probiotik atau memberikan efek kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Asam Laktat

BAL merupakan bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, antimikroba, dan hasil metabolisme lain yang memberikan pengaruh positif bagi tubuh. Di dalam makanan fermentasi tape ubi terdapat jenis BAL yaitu, *Lactobacillus* yang berfungsi pada pembentukan aroma dan *Pediococcus pentosaceus* dapat memperpanjang masa kadaluarsanya.

Lactobacillus memiliki beberapa karakter yaitu termasuk bakteri gram positif, berbentuk basil/batang, non-motil, bakteri ini mampu tumbuh di media agar MRSA pada pH 4,4. Genus ini memiliki kelebihan sebagai agen probiotik, karena dapat bertahan pada pH rendah, garam empedu, bisa tumbuh di media sederhana, mampu menghambat bakteri patogen dan mampu menghasilkan komponen bakteriosin. Beberapa spesies yang digunakan sebagai probiotik dalam produk komersial yaitu, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. cellobiosus*, *L. bulgaricus* (Hidayat, 2018).

Pediococcus berbentuk *coccus*, termasuk bakteri gram positif tidak membentuk spora, non-motil, tergolong BAL karena proses akhir metabolismenya berupa asam laktat. *Pediococcus* tumbuh pada suhu 25-40°C, pH 4,2 dan media yang mengandung 6,5% NaCl. Jenis *Pediococcus* yang berada dalam tape yaitu *Pediococcus pentosaceus* dengan menambahkan bakteriosin pada tape hingga dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen, serta dapat memperpanjang masa kadaluarsa (Rahayu dan Tyas, 2019).

BAL juga disebut sebagai biopreservatif karena berkontribusi dalam menghambat pertumbuhan bakteri lainnya khususnya bakteri patogen dan mampu membawa dampak positif bagi kesehatan manusia. Preservatif yang dilakukan oleh BAL disebabkan oleh asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri tersebut selama fermentasi pangan akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam, hal ini juga menghambat

pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme lainnya. Beberapa BAL berkontribusi dalam pengawetan pangan karena kemampuannya memproduksi bakteriosin. Kemampuan bakteriosin dalam melakukan aktivitas sebagai biopresevatif dicapai oleh efek penghambatannya terhadap mikroorganisme patogen yang berbahaya.

Pemanfaatan BAL pada proses fermentasi akan menghilangkan aroma prengus yang tak di inginkan di suatu produk (Setyawardani, 2017). Manfaat mengonsumsi makanan yang terdapat di dalam peranan BAL, dapat meningkatkan kesehatan saluram pencernaan, sistem imun, menurunkan gejala *lactose intolerance*, menurunkan prevelensi alergi di individu yang rentan alergi dan bisa menurunkan resiko kanker kolon (Widodo, 2019). Banyak sekali jenis mikroba yang dapat dimanfaatkan manusia sebagai probiotik antara lain BAL, *Bifidobacterium sp* dan *Lactobacillus bulgaricus* pada yogurt, *Lactococcus lactis* pada olahan susu, *Streptococcus* pada keju (Rahmah dkk, 2021). Bakteri yang banyak dipergunakan sebagai probiotik yaitu jenis BAL dan bifidobacterium karena keduanya merupakan golongan organisme GRAS (Generally Recognized as safe) (Hidayat 2018). BAL memiliki peranan sebagai antimikroba yang sering dianggap sebagai bakteriosin, yang peranannya bisa memperpanjang masa simpan makanan dan bisa menghambat mikroorganisme yang tidak diinginkan bagi kesehatan jika dikonsumsi serta tidak beracun. Jika BAL dimasukkan kedalam kuliner tradisional akan memberikan nilai rasa, aroma, sehingga diperoleh bentuk makanan yang baik, adanya BAL bisa mempertinggi nilai gizi dan senyawa fungsional pada suatu produk itu sendiri (Yudianti, 2020).

2.2 Tape Ubi

Ubi merupakan sumber karbohidrat yang merupakan bahan baku paling potensial yang dapat diolah. Ubi juga merupakan tanaman perdu penghasil umbi atau akar pohon dengan fisik rata rata bergaris tengah 2-3 cm dan Panjang 50 hingga 80 cm, tergantung dari jenis yang ditanam.

Tape merupakan suatu produk fermentasi dari bahan pangan berbasis pati, seperti singkong atau ubi dan ketan menggunakan ragi yang mengandung khamir

dan kapang dalam proses fermentasinya. Tape ubi merupakan produk pangan olahan tradisional yang sudah menjadi makanan khas Indonesia. Tape ubi sudah banyak di produksi di beberapa tempat di Indonesia khususnya di Sumatera Utara. Proses pembuatan tape dilakukan secara tradisional dan prosesnya memerlukan waktu sekitar 2-3 hari . Salah satu upaya untuk mempercepat proses fermentasi tape ubi yaitu dengan menjaga kestabilan suhu optimum pada saat proses dengan menggunakan sistem pengontrol suhu (Hidayat dkk, 2006).

Kandungan tape ubi yaitu air 61.4 gram, karbohidrat 36.8 gr, energi 154 kal, protein 1.0 gr, serat 0.9 gr, lemak 0.3 gr, kalium 394 mg, kalsium 77 mg, vitamin C 31 mg, fosfor 24 mg (Rahmah dkk, 2021).

Pengendalian pada proses pertumbuhan khamir dan kapang dilakukan dengan mengatur kondisi optimal untuk pertumbuhan khamir dan kapang. Khamir dapat hidup dalam bahan pangan yang mempunyai kadar air yang cukup. Pada awal fermentasi khamir bersifat anaerob dengan menghasilkan alkohol dan bersifat fermentatif. Kapang dapat tumbuh dalam kondisi optimum dalam bahan pangan dengan suhu 25-27°C. Produk fermentasi tape dapat memberikan efek menyehatkan bagi tubuh, terutama sistem pencernaan, karna meningkatkan jumlah bakteri baik dalam tubuh dan dapat mengurangi jumlah bakteri jahat. Aflatoksin merupakan zat toksik atau racun yang dihasilkan kapang terutama *Aspergillus flavus*. Toksik ini banyak dijumpai dalam kebutuhan pangan sehari-hari. Konsumsi tape dalam batas normal dapat mereduksi aflatoksin tersebut.

2.3 Isolasi BAL

MRS ialah media khusus yang dipakai untuk menumbuhkan beberapa kelompok BAL (Widodo, 2019). BAL pada umumnya dapat tumbuh di media *de Mann Rogose and Sharpe Agar* (MRSA) (Safitri, 2016). Faktor-faktor yang harus diperhatikan pada proses isolasi mikroorganisme, yaitu: sifat mikroorganisme, media pertumbuhan, wajib sesuai cara menginokulasi mikroorganisme, cara pengujian mikroorganisme yang telah diisolasi disesuaikan menggunakan apa yang akan di ujikan dan cara memelihara mikroorganisme yang sudah diisolasi agar menjadi kultur murni. Koloni yang menghasilkan zona bening diambil, zona

bening tadi didapatkan dari produksi asam organik sehingga CaCO_3 hilang terhidrolisis dari MRSA.

Isolasi mikroba adalah upaya dalam menumbuhkan suatu mikroorganisme di luar lingkungan alaminya, untuk mendapatkan kultur bakteri murni. Hal yang penting dalam tahap ini yaitu satu jenis mikroba dipisahkan menggunakan mikroba lainnya yang tidak sinkron. Mikroorganisme dengan mudah beredar pada lingkungan bebas seperti air, minuman, makanan, udara, tanah maupun tubuh. CaCO_3 berfungsi sebagai penyangga dan untuk menyeleksi terkait bakteri yang mengandung asam laktat (Aritonang, 2017). Zona bening yang terbentuk di isolat sebab terbentuknya Ca-laktat, yang menandakan bahwa asam laktat yang didapat oleh BAL di media MRSA telah bereaksi dengan CaCO_3 . Zona jernih ini merupakan hasil reaksi asam yang diproduksi oleh koloni bakteri dengan CaCO_3 yang terdapat di medium isolasi (Subagiyo dkk, 2017). Dibubuhi CaCO_3 untuk menghasilkan asam laktat lebih banyak mengatur derajat keasaman (pH) medium (Pramudyanti dkk, 2004).

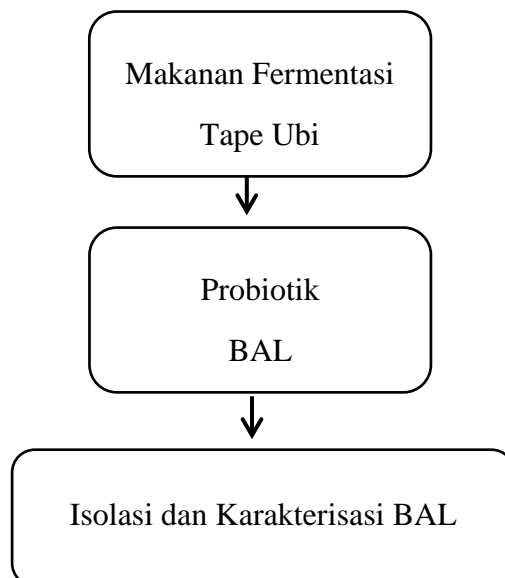
2.4 Identifikasi dan Karakterisasi

Identifikasi artinya suatu tahapan dari karakterisasi yang diawali dengan pengamatan bentuk morfologinya. Identifikasi mikroba dilakukan untuk melihat karakter mikroba baik secara morfologi, biokimia dan molekuler asal bakteri yang dituju. Identifikasi bakteri baik secara makroskopis dan mikroskopis untuk menentukan ciri-ciri dan karakter morfologis. Pengamatan secara morfologi diamati terkait bentuk, tepi, warna, elevasi, permukaan koloni yang dapat ditinjau secara makroskopis. Sedangkan secara mikroskopis pengamatan dengan cara pewarnaan gram, untuk melihat warna serta bentuk sel untuk dapat digolongkan (Dewi, 2019). Identifikasi yang dilakukan pada isolasi BAL yaitu uji katalase yang bertujuan untuk membuktikan adanya enzim katalase pada suatu isolat terpilih, uji motilitas untuk mengetahui bahwa bakteri mempunyai pergerakan atau tidak, uji indol untuk mengetahui bakteri memiliki enzim triptophanase sehingga bakteri tersebut mampu mengoksidasi asam amino triptophan membentuk indol, uji H_2S untuk mengamati kemampuan bakteri dalam mengubah

asam amino alanine dan H₂S, uji oksidasi untuk mengidentifikasi kelompok bakteri dengan kemampuan bakteri melakukan oksidasi.

Karakterisasi terkait bakteri telah dilakukan sejak tahun 1980 menggunakan cara identifikasi dengan metode fenotip pengamatan bentuk, ukuran serta susunan organisme reaksi pewarnaan gram, motilitas dan penampilan koloni bakteri (Patantis dan Yusro, 2009). Pengecatan gram merupakan proses terpenting supaya dapat memilih isolat tadi apakah merupakan jenis BAL atau bukan. Bakteri gram negatif ketika ditetesi pewarnaan Gram akan berwarna merah sehingga tidak termasuk dalam syarat BAL. Bila menghasilkan warna ungu pada selnya dalam pewarnaan gram maka dapat digolongkan menjadi bakteri gram positif (Amaliah dkk, 2018). Karakterisasi dalam isolasi BAL yaitu pewarnaan gram dan bentuk sel untuk mengamati karakteristik secara mikroskopis, uji reduksi nitrat untuk mengetahui karakter biokimia biakan bakteri dalam mereduksi nitrat, uji karakterisasi pH dan uji karakterisasi suhu.

2.5 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.1 Kerangka Konsep

2.6 Defenisi Operasional

Defenisi operasional merupakan seperangkat petunjuk tentang apa yang harus diamati dan diukur suatu variable atau konsep defenisi operasional tersebut bertujuan untuk mengklasifikasi variable. Defenisi operasional dalam penelitian ini adalah :

1. Bakteri Asam Laktat adalah kelompok bakteri gram positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat.
2. Ubi adalah jenis tanaman budidaya yang akarnya dimanfaatkan untuk membentuk umbi dengan kadar gizi atau karbohidrat yang tinggi.
3. Tape Ubi merupakan makanan tradisional yang terbuat dari ubi menggunakan proses fermentasi.
4. Fermentasi (peragian) adalah proses produksi energi dalam sel dengan keadaan anaerobik (tanpa oksigen) yang menghasilkan perubahan biokimia organik melalui aksi enzim.
5. Isolasi merupakan populasi campuran dari berbagai jenis, baik mikroorganisme pada tanah, air, udara, tanaman, maupun yang terdapat pada tubuh hewan dan tumbuhan.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif kualitatif yang bertujuan untuk menganalisis isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat asal tape ubi

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.2.1 Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di pabrik Tape Wilopo Jl.Besar Tj.Anom, Namorih, Kec Pancur Batu, Kab Deli Serdang dan dilanjutkan di Laboratorium Mikrobiologi, laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Medan untuk dilakukan pemeriksaan sampel lebih lanjut.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dimulai dari bulan Januari hingga Juni 2023.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi penelitian

Populasi adalah keseluruhan objek peneliti atau objek yang akan diteliti. Populasi yang diambil dalam penelitian ini adalah Tape ubi yang ada di Pabrik tape Wilopo Jl.Besar Tj.Anom, Namorih, Kec Pancur Batu, Kab Deli Serdang.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah suatu proses untuk menyeleksi sampel dari populasi untuk dapat mewakili populasi. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah tape ubi sebanyak 500 gram yang ada di Pabrik Tape Wilopo Jl.Besar Tj.Anom, Namorih, Kec Pancur Batu, Kab Deli Serdang.

3.4 Jenis dan Cara Pengumpulan Data

3.4.1 Jenis Pengumpulan Data

Jenis data yang digunakan adalah data primer yaitu mengumpulkan data utama dengan cara pemeriksaan sampel yang dilakukan penelitian secara langsung terkait isolasi dan karakterisasi BAL asal tape ubi.

3.4.2 Cara Pengumpulan Data

Dalam penelitian ini, data di peroleh melalui observasi pada isolasi dan karakterisasi BAL dari tape ubi.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, neraca analitik, inkubator, *anaerobic jar*, kulkas, tabung vial, ose jarum, ose bulat, batang pengaduk, batang penyebar, cawan petri, pipet tetes, mikropipet, tips putih dan kuning, gelas kimia, tabung reaksi, labu erlenmeyer, corong kaca, mikroskop, gelas objek, bunsen spirtus, hotplate, sentrifuge, tabung sentrifuge, korek api.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 500 gr tape ubi, media MRSA, NaCl fisiologis 0,85%, CaCO₃, H₂O₂, serum darah manusia, kristal violet, lugol, safranin, aquades steril, alcohol 95%, alcohol 70% dan kapas, *aluminium foil*, *emersi oil*.

3.5.3 Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini yaitu tape ubi yang dibungkus sesuai dengan karakteristik yang dinamakan *Purposive Sampling* (Sugiono, 2010).

3.5.4 Preparasi Alat dan Bahan

Semua alat harus dalam keadaan steril menggunakan autoklaf dengan memanfaatkan uap air selama 15 menit dalam suhu 121°C sehingga terjadi koagulasi yang lebih cepat dalam keadaan basah dan dapat membunuh bakteri endospora. Cawan petri dibungkus dengan kertas dan dimasukkan kedalam oven menggunakan suhu 180°C. Lalu tabung reaksi diisi dengan aquades dan ditutup dengan kapas.

3.5.5 Pengenceran Sampel

Sampel tape ubi tersebut ditimbang sebanyak 1 gr menggunakan timbangan analitik lalu dimasukkan kedalam botol pengencer dan ditepatkan serial pengenceran 1 gr suspensi sampel kedalam 9 ml larutan garam fisiologis atau NaCl 0,85% yang berfungsi untuk menjaga keseimbangan ion didalam sampelnya, lalu dihomogenkan dengan automatic mixer dan diencerkan dari 10⁻¹ hingga 10⁻⁷, pengenceran ini bertujuan untuk mengurangi padatan bakteri yang ditanam (Rahmah dkk, 2021).

3.5.6 Isolasi Bakteri Asam Laktat

Dalam Isolasi BAL siapkan media MRSA dan sampel yang telah diencerkan, lalu pipet 200 µl pengenceran sampel 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} secara aseptis, setelah itu suspensi sampel yang telah disiapkan masukkan kedalam cawan petri steril lalu tuang 9 ml MRSA dan sebarkan kultur bakteri secara merata. BAL termasuk bakteri anaerob maka media yang sudah disebar kultur bakteri dimasukkan kedalam anaerobic jar yang telah dinyalakan api selama 2 malam. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C (Susilawati, 2016).

3.5.7 Identifikasi dan Karakterisasi BAL

Dari hasil isolat yang diperoleh dari MRSA kemudian dilakukan identifikasi pewarnaan gram, uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji H_2S , uji oksidasi, uji pH, uji reduksi nitrat, serta uji suhu untuk mengetahui karakter bakteri tersebut.

A. Pewarnaan gram dan bentuk sel

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengamati karakteristik mikroskopis. Pewarnaan gram dilakukan pada kultur bakteri umur 2x 24 jam yang diambil dari isolat bakteri murni. Pertama-tama bakteri biakan diambil dan diratakan pada objek glass yang terlebih dahulu yang telah dibersihkan, kemudian difiksasi diatas api bunsen sapaui mengering. Kemudian ditetesi pewarnaan kristal violet dan biarkan selama satu menit, setelah itu cuci dengan air mengalir, kemudian tetesi lugol biarkan selama satu menit dan kembali dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya tetesi alkohol 96% biarkan selama 30 detik, cuci dengan air mengalir dan tambahkan safranin biarkan selama 30 detik kemudian cuci lagi dengan air mengalir. Bila hasil pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan bila diperoleh bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut adalah gram positif (Pelczar dan Chan, 2008).

B. Uji katalase

Uji katalase berguna dalam mengidentifikasi kelompok bakteri yang dapat menghasilkan uji katalase. Uji ini dilakukan diatas object glass ditetesi satu tetesi larutan H_2O_2 sebanyak 3%, ditambahkan koloni bakteri dan langsung diamati terjadinya penguraian hydrogen peroksida. Dinyatakan positif bila menghasilkan

enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara dan negatif bila tidak ada gelembung udara (Susilawati, 2016).

C. Uji Koagualse

Uji koagulase berguna dalam mengidentifikasi kelompok bakteri yang dapat menghasilkan enzim koagulase. Uji ini dilakukan diatas object glass ditetesi satu tetesi serum darah manusia diatas koloni bakteri. Dinyatakan positif bila menghasilkan enzim koagulase yang ditandai dengan terbentuknya alutisasi dan negatif bila tidak ada aglutinasi.

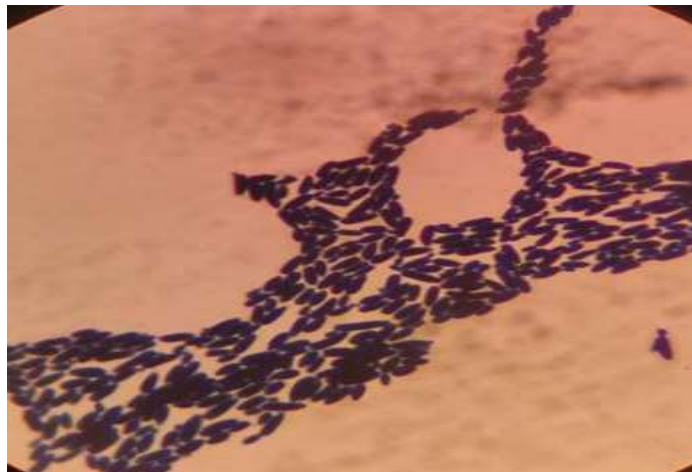
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Medan Terhadap isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) di peroleh hasil terdapat 40 isolat bakteri asam laktat yaitu isolat bakteri dipilih berdasarkan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri pada media MRSA yang telah ditambahkan CaCO_3 1%, terbentuknya zona bening tersebut menunjukkan bahwa bakteri tersebut menghasilkan metabolit utama yaitu asam laktat. Hasil menunjukkan bahwa semua isolat merupakan, gram positif, berbentuk batang, berwarna putih, non katalase, non koagulase.



Gambar 4.1 Zona bening disekitar koloni bakteri pada media MRSA yang telah ditambahkan CaCO_3 1%.



Gambar 4.2 Hasil pewarnaan gram positif isolat bakteri dari *fermentasi* tape ubi.

Tabel 4.1 Karakterisasi isolat BAL dari fermentasi tape ubi.

| Kode Isolat BAL | Pewarnaan Gram | Bentuk Sel | Warna Koloni | Uji Katalase | Uji Koagulase |
|--------------------|-------------------|---------------|-----------------|--------------|---------------|
| BAL1 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL2 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL3 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL4 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL5 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL6 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL7 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL8 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL9 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL10 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL11 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL12 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL13 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL14 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL15 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL16 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL17 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL18 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL19 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL20 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL21 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL22 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL23 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL24 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL25 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL26 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL27 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL28 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL29 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL30 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL31 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL32 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL33 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL34 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL35 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL36 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL37 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL38 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL39 | + | Batang | Putih | - | - |
| BAL40 | + | Batang | Putih | - | - |

4.2 Pembahasan

Setelah dilakukan peremajaan 40 isolat bakteri secara anaerob selama 2 malam didapatkan hasil bahwa semua isolat merupakan gram positif, berbentuk batang, sel berwarna putih, non katalase (tidak berbentuk gelembung), non koagulase (tidak ada aglutinasi/penggumpalan). Pada uji katalase dan koagulase bakteri yang digunakan sebagai kontrol positif adalah *Staphylococcus aureus* sedangkan bakteri yang digunakan sebagai kontrol negatif adalah *Lactobacillus*.

Bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna gentian violet, sedangkan bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat warna gentian violet dan hanya terwarnai safranin (Yulvizar dkk, 2013). Salah satu karakteristik umum BAL pada hasil pewarnaan gram adalah gram positif (Muzaifa, 2014).

Berdasarkan hasil pewarnaan gram dapat diamati pula bentuk sel bakteri. Bentuk sel bakteri berdasarkan hasil pengamatan yaitu semua isolat berbentuk batang dan berwarna ungu.

Uji katalase bertujuan untuk mengidentifikasi mikroba yang menghasilkan enzim katalase yang dibuktikan dengan adanya O₂ (gelembung udara) saat isolat ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3%. Berdasarkan uji katalase semua isolat positif (non katalase) ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung karena BAL tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida (Laily, 2013).

Uji koagulase terdapat semua isolat negatif koagulase yang ditandai dengan tidak terbentuknya gumpalan/aglutinas. Dilakukan dengan 1 biakan murni bakteri yang ditetesi dengan serum darah manusia, jika positif akan membentuk gumpalan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pada penelitian yang dilakukan di laboratorium terpadu poltekkes kemenkes medan didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Makanan fermentasi tape ubi mengandung bakteri asam laktat (BAL).
2. Hasil karakterisasi morfologi yang diperoleh menunjukkan bahwa semua isolat berbentuk batang, berwarna putih. Pada uji karakterisasi yaitu pewarnaan gram diperoleh semua isolat positif. Sedangkan pada uji biokimia diperoleh semua isolat katalase negatif dan koagulase negatif.
3. Bakteri Asam Laktat (BAL) dapat diisolasi dari makanan fermentasi tape ubi, dari keempat puluh isolat bakteri diperoleh 1 genus bakteri yaitu *Lactobacillus sp.*

5.2 Saran

Saran pada penelitian yang dilakukan di laboratorium terpadu poltekkes kemenkes medan yaitu sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait uji biokimia yaitu uji suhu dan uji pH.
2. Hasil penelitian ini dapat dijadikan tambahan pengetahuan bagi peneliti selanjutnya, serta pelengkap data dan referensi untuk penelitian terkait isolasi bakteri asam laktat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. 2018. Isolasi dan karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari limbah cair rendaman kacang kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253-257.
- Aritonang, S. N., Roza, E., Rossi, E., Purwati, E., & Husmaini, H. 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Okara and evaluation of their potential as candidate probiotics. *Pakistan J. Nutri*, 16, 618-628.
- DeVuyst, L., & Leroy, F. 2007. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications, *J Molec Microbiol Biotechnol*. 13: 194-199.
- Hamzah, H., Hertiani, T., Pratiwi, S. U. T., & Nuryastuti, T. (2020b). Efficacy of Quercetin against Polymicrobial Biofilm on Catheters, *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(11), 5277-5282
- Hidayat, nur, Irene Meitiniarti, Siswa Setyahadi, Usman Pato, Evi Susanti, Madiana C. Padaga, Agustin Krisna Wardani, Umi Purwandari 2018. *Mikrobiologi industri pertanian*. Malang: UB Press Himedia laboratoris.
2020. Technical data of deMan Rogosa and Sharpe Agar (MRSA).
- Ibrahim, Arsyik et al. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri asam laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangnifera indica L.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung* 1(2) : 156-163.
- Manalu, R. T., Bahri, S., & 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.
- Melliwati, Ruth et al. 2015. Seleksi Bakteri Asam Laktat Sebagai Penghasil Enzim Protease. *Prosiding Seminar nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 1(2) : 184-188.
- Muzaiifa, Murna. 2014. Identifikasi bakteri asam laktat indigenous dari belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi l.*). *Jurnal sagu* 13(1) : 8-13.

- Nur, Fatmawati, Hafsan dan Andi Wahdinar. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat Berpotensi Probiotik pada Dangke. Makanan tradisional daru Susu Kerbau di Curio Kabupaten Enrekang. *Jurnal Ilmiah Biologi BIOGENESIS* 3(1) : 60-65.
- Pelczar, M.J. dan E,C.S.Chan. (2008). Dasar-dasar Mikrobiologi, Jilid 1. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Putri, A. L., & Kusdiyantini, E. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Putri, Megananda Hiranya. 2021. *Mikrobiologi Keperawatan Gigi*. Pekalongan: PT. Nasya Expanding Management. Pagoray, H., Sulistyawati, S., & Fitriyani, F. 2021. Limbah Cair Industri Tahu dan dampaknya Terhadap Kualitas Air dan Biota Perairan. *Jurnal Pertanianpadu*, 9(1), 53-65.
- Pramudyanti, I. R., Purwoko, T. J. A. H. J. A. D. I., & Pangastuti, A. R. T. I. N. I. 2004. Pengaruh pengaturan pH dengan caco3 terhadap produksi asam laktat dari glukosa oleh *Rhizopus oryzae*. *Bioteknologi*, 1(1), 19-24.
- 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.
- Romadhon, Subagiyo dan Sebastian Margino. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin. Sebagai Agen Anti Bakteria Pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan* 8(1) : 59-64.
- Safitri, Nurlaela., Sunarti, T. C., & Meryandini, A. 2016. Formula media pertumbuhan bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* menggunakan substrat whey Tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(2).
- Setyawardani, triana. 2017. *Mudah & cepat membuat buat keju, yoghurt dan kefir dari susu kambing*. Yogyakarta: Penebar swadaya.

- Subagiyo, S., Triyanto, T., Margino, S., Setiawan, F., Setyati, W. A., & Pramesti, R. 2017. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Intestinal Udang Penaeid Tipe Liar Terhadap Bakteri *Vibrio*. *Jurnal Kelautan Tropis*, 20(1), 7-15.
- Widodo. 2019. *Bakteri asam laktat strain lokal*. Yogyakarta: UGM press
- Wulandari, D., & Purwaningsih, D. 2019. Identifikasi dan karakterisasi bakteri amilolitik pada umbi *Colocasia esculenta* L. secara morfologi, biokimia, dan molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2), 247258.
- Yanti, Dwi Indah Widya dan Dali, F. A. 2013. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat yang diisolasi Selama Fermentasi Bakasang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(2).
- Yudianti, N. F., Yanti, R., Cahyanto, M. N., Rahayu, E. S., & Utami, T. 2020. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Legume Soaking Water of Tempeh Productions. *Digital Press Life Sciences*, 2.
- Yulvizar, Cut. 2015. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Indegenous Dari Jrukek Drien, Provinsi Aceh. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia* 7(1) : 31-34.

LAMPIRAN

Lampiran 1. 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: *01.35-32* /KEPK/POLTEKES 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 (BAL) Asal Tape Ubi”

Yang menggunakan manusia dan hewan sebagai subjek penelitian dengan ketua Pelaksana/
Peneliti Utama : **Andini Amelia Sapitri Harahap**
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, 18 Juli 2023
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Poltekkes Kemenkes Medan

Ketua,

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



Lampiran 2.Surat Permohonan Penelitian

Surat Permohonan Penelitian

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

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Andini Amelia Sapitri Harahap
NIM : P07534020044
Judul : Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Tape Ubi

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)
NIP : 199202102022031002

Medan, 10 April 2023
Mahasiswa



(Andini Amelia Sapitri Harahap)
NIM : P07534020044

Lampiran 3. 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. 15/LT/VII/2023

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

Nama : Andini Amelia Sapitri Harahap
NIM : P07534020044
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 (BAL) Asal Tape Ubi"

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

Lampiran 4. Dokumentasi penelitian

1. Pembuatan Sampel



2. Pengenceran Sampel 10^{-1} hingga 10^{-7}



3. Penyebaran



4. Inkubasi Secara Anaerobik



5. Inkubasi



6. Peremajaan Bakteri



Lampiran 5. Perhitungan Media

1. *de Mann Rogose and Sharpe Agar (MRSA)*

Komposisi :

- Peptone : 10 g
- Lab-Lemco Powder : 8 g
- Yeast Extrac : 4 g
- Glucose : 20 g
- Sorbitan mono-oleate : 1 ml
- Dipotassium hydrogen Phosphate : 2 gr
- Triammonium Citrate : 2 gr
- Magnesium Sulphate 7H₂O : 0,2 gr
- Magnesium Sulphate 4H₂O : 0,05 gr
- Agar : 10 g
- Distilled Water : 1 liter
- Final pH : 6,2 ± 0,2 @ 25°

Prosedur :

Timbang 3,410 gram bahan MRSA dan larutkan dalam 50 mL aquadest sampai homogen. Masukkan larutan ke dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15-45 menit. Setelah itu tuangkan ke dalam 2 petridis yang masing-masing berisi 25 ml.

2. *de Mann Rogose and Sharpe Agar (MRSA) + C_aC_o3 1%*

Komposisi MRSA:

- Peptone : 10 g
- Lab-Lemco Powder : 8 g
- Yeast Extrac : 4 g
- Glucose : 20 g
- Sorbitan mono-oleate : 1 ml
- Dipotassium hydrogen Phosphate : 2 gr
- Triammonium Citrate : 2 gr
- Magnesium Sulphate 7H₂O : 0,2 gr
- Magnesium Sulphate 4H₂O : 0,05 gr
- Agar : 10 g
- Distilled Water : 1 liter

- Final pH : $6,2 \pm 0,2 @ 25^\circ$

Komposisi CaCO_3 1% :

- Ca : 98,49 %
- CaO : 98,73 %
- Mn : 0,16 %
- MnO : 0,13 %
- Fe : 0,12 %

Prosedur :

MRSA dicampur dengan CaCO_3 , misalnya volume larutan 100 ml, maka CaCO_3 yang ditambahkan 1 gr. Setelah itu larutan dihomogenkan menggunakan hotplate stirrer lalu disterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 15-45 menit.

Lampiran 6. Lembar Konsultasi

LEMBAR KONSULTASI

**LEMBAR KONSULTASI KARYA TULIS ILMIAH JURUSAN D-III
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS POLTEKKES KEMENKES
MEDAN 2023**

Nama : Andini Amelia Sapitri HARAHAAP

NIM : P07534020044

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

Judul Proposal : Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Tape Ubi

| No. | Hari/Tanggal | Masalah | Masukan | TTD Dosen Pembimbing |
|-----|--------------------------------|----------------------|---|----------------------|
| 1. | Selasa/ 01 November 2022 | Konsultasi Judul KTI | Mengemukakan 3 judul KTI dengan 5 Jurnal pendukung | |
| 2. | Jumat/ 04 November 2022 | Konsultasi Judul KTI | Menentukan rumusan masalah yang dan pengetahuan dasar dari judul yang ditentukan | |
| 3. | Senin/ 07 November 2022 | Konsultasi Judul KTI | Salah satu judul disetujui dengan tambahan jurnal | |
| 4. | Rabu/ 08 November 2022 | Pengajuan Judul KTI | Judul disetujui, perkuat alasan ilmiah dan jurnal pendukung | |
| 5. | Jumat/ 16 Desember 2022 | BAB I - BAB II | Perbaiki judul, mencantumkan penelitian terdahulu, dan tinjauan pustaka | |
| 6. | Kamis/ 09 Februari 2023 | BAB I – BAB II | Perbaiki penulisan keseluruhan, mengemukakan alasan memilih lokasi penelitian dan penambahan definisi operasional | |

| | | | | |
|-----|------------------------------|---|---|--|
| 7. | Rabu/ 15 Februari 2023 | BAB I – BAB III | Perbaiki sumber gambar dan daftar pustaka | |
| 8. | Senin/ 10 April 2023 | Pengajuan Judul, BAB I – BAB III, Konsultasi Penelitian | Judul di setuju, Penambahan Pembahasan pada BAB I – BAB III | |
| 9. | Jumat/ 02 Juni 2023 | BAB IV – BAB V | Penambahan Pembahasan Pada BAB IV, Perbaiki Kesimpulan dan Tata Penulisan | |
| 10. | Kamis/ 08 Juni 2023 | BAB IV – BAB V | Penambahan Pembahasan Hasil Pada BAB IV | |
| 11. | Jumat/ 09 Juni 2023 | BAB IV – BAB V, Abstrak dan Kata Pengantar | KTI di ACC | |

Medan, 15 Juni 2023

Dosen Pembimbing

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

Lampiran 7. Daftar Riwayat Hidup

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



DAFTAR PRIBADI

Nama : Andini Amelia Sapitri Harahap
NIM : P07534020044
Tempat, Tanggal Lahir : Medan, 06 Desember 2002
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan
Status Dalam Keluarga : Anak Ke-3 dari 6 bersaudara
Alamat : Batang Baruhar Julu, Kec. Padang
Bolak Kab. Padang Lawas Utara
No. Telepon/Hp : 0822-7478-9030
Email : andiniamelis@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

Tahun 2008 - 2014 : SD N 200222 Padangsidempuan
Tahun 2014 - 2017 : SMP N 1 Padang Bolak
Tahun 2017 - 2020 : SMA N 1 Lubuk Pakam
Tahun 2020 – 2023 : Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan