

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).

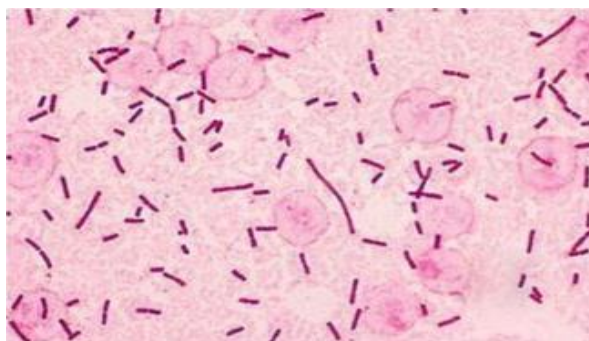
Tabel 2.1 Kategori Zona Hambat (Surjowardojo, dkk., 2015).

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 $1 - 3,5 \times 0,5 - 0,8 \mu m$, 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 : Enterobacterialis

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 karakterisasi bakteri nya. 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 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 broth. 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.

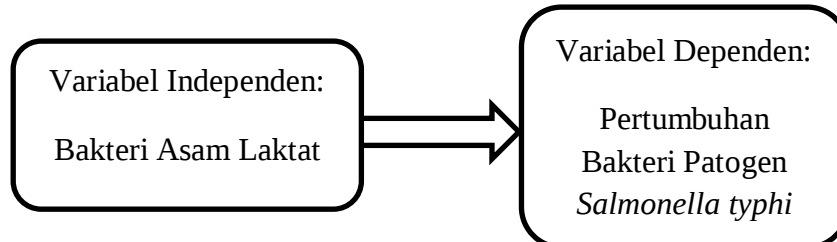
e. Uji Reduksi Nitrat

Siapkan medium NB. Ambil bakteri yang akan diinokulasi menggunakan ose secara aseptis. Lalu inokulasikan kedalam medium NB. Lalu inkubasi selama dua malam pada suhu 37°C. 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 37°C 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.