

Uji Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai Antimikroba terhadap *Salmonella typhi*

*Potential Test of Lactic Acid Bacteria Isolates from Palm Sap (*Borassus flabellifer* L.) as Antimicrobial against *Salmonella typhi**

Muhammad Fajrul Falakh*, Mahanani Tri Asri

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: muhammadfajrul.18013@mhs.unesa.ac.id

Abstrak. *Salmonella typhi* merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit demam tifoid pada manusia. Penyakit ini dapat diatasi menggunakan antibiotik. Namun, pemakaian antibiotik secara terus menerus berpotensi menimbulkan efek samping bagi tubuh dan memicu terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Oleh sebab itu, perlu adanya alternatif lain dengan memanfaatkan Bakteri Asam Laktat (BAL) sebagai antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi BAL dari nira siwalan sebagai antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*. Penelitian ini dilakukan dengan tahap isolasi dan karakterisasi BAL lalu dilanjutkan dengan pengujian terhadap bakteri *S. typhi* menggunakan metode sumuran dengan 3 perlakuan yaitu isolat BAL nira siwalan, kontrol negatif (DMSO 10%), dan kontrol positif (*amoxicillin* 10 µg/ml) dengan 4 kali pengulangan. Hasil pengujian dianalisis dengan uji Kolmogorov-Smirnov, uji *One-way* ANOVA, dan uji DMRT. Berdasarkan hasil uji, keempat isolat BAL yang diperoleh menghasilkan zona hambat dengan zona hambat tertinggi pada isolat L10⁵A sebesar 8,75±7,25 mm. Pada kontrol positif *amoxicillin* juga menghasilkan zona hambat yang tinggi yaitu sebesar 11,50±0,57 mm, sehingga lebih efektif dibandingkan perlakuan isolat BAL. Meskipun demikian, isolat BAL yang diperoleh dari nira siwalan memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* dan dapat dijadikan sebagai probiotik.

Kata Kunci: antimikroba; bakteri asam laktat; *Salmonella typhi*; zona hambat

Abstract. *Salmonella typhi* is a bacterium that causes typhoid fever in humans. This disease can be treated by using antibiotics. However, continuous use of antibiotics has the potential to cause side effects for the body and trigger bacterial resistance to these antibiotics. Therefore, it is necessary to have another alternative by utilizing Lactic Acid Bacteria (LAB) as an antimicrobial to inhibit the growth of *S. typhi* bacteria. This study aimed to determine the potential of LAB from palm sap as antimicrobia in inhibiting the growth of *S. typhi* bacteria. This research was carried out with the isolation and characterization stages of LAB and then continued with testing of *S. typhi* bacteria using well method with 3 treatments, namely isolates of LAB of palm sap, negative control (DMSO 10%), and positive control (*amoxicillin* 10 µg/ml) with 4 repetitions. The test results were analyzed by Kolmogorov-Smirnov test, *One Way* ANOVA test, and DMRT test. Based on the test results, the four LAB isolates obtained can produced an inhibition zone with the highest inhibition zone in isolate L10⁵A of 8.75±7.25 mm. In the positive control, *amoxicillin* also produced a high inhibition zone of 11.50±0.57 mm, so that it was more effective than the LAB isolates treatment. However, the LAB isolates obtained from palm sap have the potential to inhibit the growth of *S. typhi* bacteria and can be used as probiotics.

Key words: antimicrobial; lactic acid bacteria; *Salmonella typhi*; inhibition zone

PENDAHULUAN

Berbagai macam penyakit endemik di Indonesia disebabkan oleh mikroorganisme patogen. Salah satu mikroorganisme patogen tersebut adalah *Salmonella typhi* yang merupakan spesies bakteri penyebab masalah kesehatan pada manusia. Bakteri ini menyebabkan penyakit tifus atau dikenal dengan sebutan demam tifoid. Demam tifoid merupakan penyakit epidemi di berbagai belahan dunia dan diketahui sebagai problematika kesehatan paling besar di negara berkembang dan wilayah tropis seperti Afrika, Asia Tenggara, dan Amerika Latin (Imara, 2020). Penyakit ini menyebabkan sejumlah kasus yang tergolong sangat tinggi, dengan perkiraan 21 juta kasus dan lebih dari 700 kasus di antaranya berakibat fatal hingga menyebabkan kematian (Imara, 2020). Data yang diperoleh dari WHO

(World Health Organization) menyebutkan bahwa insiden demam tifoid di seluruh dunia berkisar antara 11-21 juta kasus dengan angka kematian sebesar 128.000 hingga 161.000 per tahun. Sebagian besar kasus terjadi di Asia Selatan/Tenggara dan Afrika Sub-Sahara (World Health Organization, 2018).

Berbagai macam pengobatan dilakukan untuk menyembuhkan demam tifoid. Salah satunya adalah menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik dalam pengobatan demam tifoid memiliki beberapa kriteria, di antaranya yaitu antibiotik yang diberikan pada penderita mampu ditoleransi, memperoleh kadar yang cukup dalam usus, serta mempunyai jangkauan yang terbatas bagi bakteri tertentu. Jenis antibiotik yang sering digunakan antara lain yaitu *amoxicillin*, *chloramphenicol*, *ciprofloxacin*, *gentamicin* dan *cotrimoxazole*. *Amoxicillin* adalah salah satu jenis antibiotik yang direkomendasikan untuk mengobati demam tifoid karena sifatnya yang toleran, efek yang ditimbulkan pada penderita lebih cepat dan harganya terjangkau. *Amoxicillin* memiliki mekanisme dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui pencegahan pada proses pembentukan membran sel bakteri sehingga mengakibatkan terjadinya lisis dan materi genetik dalam sel bakteri akan terurai keluar (Sandika dan Suwandi, 2017).

Antibiotik yang digunakan harus memiliki kesesuaian dalam indikasi, kesesuaian terhadap penderita, kesesuaian obat, kesesuaian kadar/dosis, serta kewaspadaan dari dampak yang ditimbulkan obat. Ketidakesesuaian dalam penggunaan antibiotik dapat mengakibatkan timbulnya berbagai macam efek samping dan memicu terbentuknya resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut (Salima, 2015). Menurut Lugito dan Cucunawangsih (2017), bakteri *S. typhi* memiliki resistensi rendah terhadap antibiotik *ampicillin*, *ciprofloxacin*, *ceftriaxone*, *levofloxacin* dan *trimethoprim-sulfamethoxazole*. Oleh sebab itu, perlu adanya alternatif lain yaitu dengan menggunakan kemampuan bakteri menguntungkan seperti Bakteri Asam Laktat (BAL) untuk menghasilkan senyawa antimikroba yang bermanfaat untuk menekan pertumbuhan bakteri *S. typhi*.

Salah satu pemanfaatan BAL untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen adalah dengan menjadikannya sebagai produk bahan pangan fungsional yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat seperti yoghurt, minuman fermentasi sari buah, dan sebagainya (Rizal *et al.*, 2016). Penelitian sebelumnya pernah dilakukan oleh Riadi *et al.*, (2017), yang menyatakan bahwa isolat BAL yang terkandung dalam yoghurt dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. typhi*. Adanya mekanisme penghambatan tersebut dikarenakan senyawa antimikroba yang diproduksi oleh BAL. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri ini dapat berupa asam organik (asam laktat, asam asetat dan asam propionat), bakteriosin, hidrogen peroksida, diasetil, dan protein bakterisidal (Saranraj *et al.*, 2013).

Isolasi BAL dilakukan agar isolat yang didapatkan dapat dimanfaatkan sebagai probiotik. Menurut Maunatin dan Khanifa (2012), probiotik adalah mikroorganisme menguntungkan yang memiliki manfaat baik terhadap kesehatan manusia dengan cara membentuk koloni pada saluran pencernaan (usus) serta mempunyai daya lekat (adhesi) yang kuat pada permukaan epitel usus (mukosa). Mengonsumsi produk makanan atau minuman probiotik yang didalamnya terkandung BAL, dapat memberikan manfaat bagi kesehatan manusia karena potensinya yang mampu meningkatkan sifat mikroflora usus (Yuliana dan Dizon, 2011). Pada umumnya, BAL digunakan sebagai probiotik karena sebagian besar strainnya bersifat non-patogen serta memiliki status *Generally Recognized as Safe* (GRAS), bahkan beberapa spesies BAL juga diketahui memiliki manfaat bagi kesehatan manusia (Plavec dan Berlec, 2020).

Salah satu probiotik yang mengandung BAL adalah nira siwalan. Nira siwalan dihasilkan dari tanaman siwalan (*Borassus flabellifer* L.) yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai minuman tradisional melalui proses penyadapan bunga pohon siwalan sehingga dihasilkan cairan berupa nira atau dikenal sebagai "Legen" (Hawa dan Makhfudhi, 2019). Nira siwalan dapat dimanfaatkan sebagai *carrier* probiotik (bahan pangan pembawa bakteri probiotik) karena mengandung kadar gula yang cukup tinggi serta senyawa mikronutrien esensial sehingga dalam keadaan segar nira siwalan berpotensi untuk mudah terfermentasi secara alami (Bulu *et al.*, 2019). Menurut Apriyanto *et al.*, (2016) pada fermentasi alami terdapat bakteri yang tumbuh pada hari pertama fermentasi yaitu bakteri mesofilik aerobik, koliform dan Bakteri Asam Laktat (BAL). Pada awal fermentasi alami nira siwalan (sampai 24 jam), pertumbuhan mikroba didominasi oleh BAL yang berperan penting dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik dengan substansi antimikroba yang dihasilkan (Sunaryanto dan Marwoto, 2013). Sementara itu, penelitian sebelumnya pernah dilakukan oleh Suseno *et al.*, (2012) bahwa lama penyimpanan minuman probiotik dari nira siwalan yang ditambahkan kultur bakteri *Lactobacillus casei* dan susu skim dapat mempengaruhi tingkat keasaman (pH), jumlah BAL, serta zona

hambat yang dihasilkan oleh *L. casei* terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan zona hambat terbesar pada bakteri *S. typhi*.

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan di atas, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diisolasi dari nira siwalan (legen) sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. typhi*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif jenis eksperimental yang dilakukan mulai bulan November 2021–Januari 2022. Sampel nira siwalan didapatkan dari Desa Hendrosari, Kecamatan Menganti, Kabupaten Gresik. Proses isolasi dan uji potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) sebagai antimikroba dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu cawan petri, gelas beaker, kaca objek, kaca penutup, tabung reaksi, gelas ukur 10 ml, erlenmeyer 250 ml, lampu spiritus, pinset, jarum ose, pipet tetes, mikropipet 10-200 μ l, spuit 1 mL dan 10 ml, rak tabung reaksi, batang pengaduk, *cork borer*, penggaris, mikroskop, neraca analitik, *magnetic stirrer*, *hot plate*, inkubator, LAF (*laminar air flow*), oven dan autoklaf.

Bahan yang digunakan antara lain yaitu nira siwalan (legen) yang terfermentasi alami (24 jam), media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), media SIM (*Sulfida Indole Motility*), media SSA (*Salmonella Shigella Agar*), media MRSA (*de Man Ragosa Sharpe Agar*), CaCO_3 1%, akuades steril, larutan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10%, antibiotik *amoxicillin*, larutan *crystal violet*, *iodine*, safranin, *malachite green* 5%, alkohol 96%, larutan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%, minyak emersi dan kultur murni bakteri *Salmonella typhi* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Universitas Brawijaya.

Preparasi sampel dilakukan dengan cara menyiapkan nira siwalan segar sebanyak 1 L dan dibiarkan terfermentasi secara alami dalam rentang waktu 24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya, dilakukan penyaringan pada nira siwalan yang telah terfermentasi menggunakan kertas saring dan dituang ke dalam botol steril untuk dilakukan proses isolasi (Bulu *et al.*, 2019). Isolasi BAL dilakukan dengan mengambil 1 ml nira siwalan yang telah disaring kemudian dilakukan pengenceran seri (*dilution method*) untuk mengurangi kepadatan sel dan mendapatkan koloni berbeda yang terpisah serta memudahkan penghitungan bakteri (Alfiyanti dan Putri, 2020). Proses pengenceran dilakukan melalui tahap penuangan nira siwalan sebanyak 1 ml ke dalam 9 ml akuades steril yang sebelumnya telah dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, dilakukan homogenisasi menggunakan *vortex* sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Dari pengenceran 10^{-1} tersebut, diambil sebanyak 1 ml dan dituangkan ke dalam 9 ml akuades yang terdapat pada tabung reaksi, lalu dihomogenkan dengan *vortex* sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2} . Tahap ini dilakukan berulang kali dengan cara yang sama sampai diperoleh pengenceran 10^{-5} . Selanjutnya, dari masing-masing pengenceran tadi diambil sebanyak 1 ml dan dituangkan ke dalam cawan petri steril menggunakan metode *pour plate* (Hamidah *et al.*, 2019). Setelah itu, cawan petri yang telah berisi 1 ml sampel dituangkan media MRSA yang sebelumnya telah dicampur dengan CaCO_3 1% lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C . Hal ini disesuaikan dengan suhu BAL yang berkisar antara $30\text{--}37^\circ\text{C}$ (Desniar *et al.*, 2012). Setelah proses inkubasi, dilakukan pengamatan terhadap koloni BAL yang tumbuh dengan ciri khas berupa terbentuknya zona bening di sekeliling koloni pada media MRSA (Koriasih *et al.*, 2019).

Isolat BAL yang diperoleh kemudian dilakukan seleksi awal berdasarkan karakteristik koloni yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media MRSA + CaCO_3 1%, selanjutnya dilakukan pemurnian bertahap hingga diperoleh isolat tunggal. Tahap pemurnian dilakukan dengan cara menandai koloni yang akan dimurnikan, kemudian secara aseptis koloni diambil menggunakan jarum ose dan diinokulasikan dengan teknik *streak plate* (cawan gores) secara kuadran ke dalam cawan petri yang sebelumnya telah diisi media MRSA. Setelah itu, dilakukan proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan memposisikan cawan petri secara terbalik. Selanjutnya, dilakukan pengamatan pada koloni yang terpisah (koloni tunggal yang biasanya terbentuk pada kuadran keempat) sehingga diperoleh isolat murni yang kemudian diambil dan diinokulasikan pada media MRSA miring lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Isolat BAL selanjutnya disimpan di dalam kulkas untuk digunakan pada tahap karakterisasi.

Karakterisasi BAL dilakukan agar bisa mengetahui karakteristik bakteri yang tumbuh. Proses karakterisasi dilakukan berdasarkan pengamatan secara makroskopis, mikroskopis dan fisiologis. Pengamatan makroskopis dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni untuk membedakan

karakteristik visual yang meliputi bentuk (*form*), elevasi (*elevation*), tepian (*margin*) dan warna (*colour*) (Riadi *et al.*, 2017). Pengamatan mikroskopis dilakukan melalui pewarnaan gram dan pewarnaan endospora. Pengamatan fisiologis dilakukan melalui uji katalase dan uji motilitas.

Pewarnaan gram dilakukan agar jenis gram suatu bakteri dapat dibedakan berdasarkan perbedaan struktur dinding sel (Kurnia *et al.*, 2020). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara mensterilkan kaca objek terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%, kemudian isolat BAL diambil menggunakan ose steril dan dioleskan di atas kaca objek yang sudah ditetesi akuades, lalu dihomogenkan dan difiksasi di atas lampu spiritus. Setelah kering, larutan *crystal violet* ditetaskan di atas preparat isolat BAL dan didiamkan selama 1 menit lalu dibilas secara perlahan dengan air serta dikering anginkan. Selanjutnya, larutan iodine atau lugol ditetaskan di atas preparat yang sudah kering dan didiamkan selama 1 menit lalu dibilas secara perlahan dengan air serta dikering anginkan. Setelah itu, dilakukan proses dekolorisasi dengan cara ditetesi alkohol 96% secara perlahan sampai *crystal violet* yang terdapat pada preparat tercuci, lalu dibilas dengan air dan dikering anginkan. Terakhir, larutan safranin ditetaskan di atas preparat dan didiamkan selama 1 menit lalu dibilas dengan air dan dikering anginkan. Setelah itu, dilakukan pengamatan terhadap preparat isolat BAL menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 1000x dengan minyak emersi (Ismail *et al.*, 2017).

Pewarnaan endospora pada isolat BAL dilakukan untuk mengetahui keberadaan endospora dalam sel bakteri (Sasmita *et al.*, 2018). Pewarnaan endospora dilakukan dengan cara mengambil 1 ose isolat BAL dan dihomogenkan di atas *object glass* yang sudah ditetesi akuades, lalu difiksasi di atas lampu spiritus hingga kering. Preparat kemudian ditutup dengan kertas saring dan ditetesi larutan *malachite green* sampai basah lalu didiamkan selama 5 menit. Kemudian, preparat dibilas dengan air dan kertas saring yang sebelumnya dipakai untuk penutup dilepas. Setelah itu, larutan safranin ditetaskan di atas preparat dan didiamkan selama 1 menit lalu dibilas dengan air dan dikering anginkan. Selanjutnya, dilakukan pengamatan terhadap preparat menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 1000x dengan minyak emersi (Amaliah *et al.*, 2018).

Uji motilitas pada isolat BAL dilakukan untuk mengamati pergerakan bakteri. Uji motilitas dilakukan dengan cara menuangkan media SIM (*Sulfide Indole Motility*) sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, isolat BAL diambil menggunakan ose lurus lalu diinokulasikan secara tusukan ke dalam media SIM. Kemudian, dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilakukan pengamatan terkait ada tidaknya rambatan pada bekas tusukan (Giyatno dan Retnaningrum, 2020).

Uji katalase pada isolat BAL dilakukan untuk menunjukkan adanya enzim katalase pada bakteri. Uji katalase dilakukan dengan pengambilan isolat BAL sebanyak 1 ose lalu dioleskan di atas kaca objek steril. Selanjutnya, larutan H₂O₂ 3% ditetaskan di atas isolat BAL pada kaca objek. Setelah itu, dilakukan pengamatan terhadap reaksi yang terjadi (Ibrahim *et al.*, 2017).

Peremajaan bakteri uji (*S. typhi*) dilakukan dengan pembuatan suspensi terlebih dahulu yaitu dengan cara mengambil 1 ose kultur murni bakteri *S. typhi* lalu diinokulasikan ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml media NB (*Nutrient Broth*) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C karena suhu optimum bakteri *S. typhi* berkisar antara 35-37°C (Soedjoto, 2016). Setelah itu, bakteri *S. typhi* diremajakan menggunakan metode *streak plate* dengan mengambil 1 ose bakteri *S. typhi* ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi media SSA (*Salmonella Shigella Agar*) miring lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolat tersebut akan dijadikan sebagai inokulum. Selanjutnya, dilakukan penghitungan bakteri *S. typhi* dengan tujuan untuk mengetahui jumlah bakteri yang menyebabkan infeksi pada manusia. Dosis infeksi bakteri *S. typhi* yang menyebabkan sakit pada manusia bervariasi antara 10³ sampai 10⁶ sel (Hardianto, 2019). Namun, dalam penelitian ini diambil dosis 10³ CFU/ml sebagai dosis infeksi bakteri *S. typhi* karena pada dosis ini pernah dilaporkan menjadi penyebab penyakit salmonellosis pada manusia oleh Cooper pada tahun 1994. Penghitungan bakteri *S. typhi* dilakukan menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) yang mengacu pada *Standard Plate Count* (Harti, 2015). Penghitungan dilakukan dengan pengenceran terlebih dahulu dari inokulum yang sudah dibuat pada media NB sehingga diperoleh pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻⁶. Setiap pengenceran tersebut akan diinokulasikan ke dalam cawan petri lalu media NA dituang ke dalamnya dan dihomogenkan. Setelah itu, dilakukan proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C lalu dilakukan penghitungan bakteri menggunakan rumus berikut (Nasution *et al.*, 2017):

$$\frac{\text{CFU}}{\text{ml}} = \text{Jumlah koloni pada cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}} \quad (1)$$

Setelah dilakukan penghitungan bakteri menggunakan metode TPC, maka selanjutnya dilakukan penentuan konsentrasi bakteri *S. typhi* sesuai dengan dosis infeksi pada manusia yaitu 10^3 sel/ml. Penentuan konsentrasi ini digunakan untuk tahap pengujian dengan menggunakan rumus persamaan sebagai berikut (Fadhilla *et al.*, 2012):

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2 \quad (2)$$

Keterangan:

V_1 : Volume awal

V_2 : Volume akhir yang ingin dicapai

N_1 : Konsentrasi awal

N_2 : Konsentrasi yang telah ditentukan

Pengujian potensi BAL dari nira siwalan sebagai antimikroba dilakukan menggunakan metode sumuran (Rinto *et al.*, 2012). Namun, sebelum itu dilakukan pembuatan suspensi BAL dan larutan antibiotik *amoxicillin* $10\mu\text{g/ml}$ terlebih dahulu untuk digunakan pada pengujian. Pembuatan suspensi BAL menurut Maryanty *et al.*, (2020) dilakukan dengan cara mengambil 1 ose kultur murni BAL yang telah dikarakterisasi lalu diinokulasikan ke dalam media NB sebanyak 5 ml pada tabung reaksi dan dihomogenkan dengan *vortex*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Setelah itu, pembuatan larutan *amoxicillin* $10\mu\text{g/ml}$ mengacu pada penelitian Fitriana (2018), yakni dengan cara menggerus 500 mg tablet *amoxicillin* terlebih dahulu lalu dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 100 mg/ml . Kemudian, diencerkan lagi dengan cara diambil sebanyak 1 ml dari konsentrasi 100 mg/ml tersebut lalu ditambahkan akuades steril sebanyak 9 ml hingga diperoleh konsentrasi 10 mg/ml . Selanjutnya, diencerkan lagi dengan diambil 1 ml dari konsentrasi 10 mg/ml lalu ditambahkan akuades steril sebanyak 9 ml hingga diperoleh konsentrasi 1 mg/ml yang akan dijadikan sebagai larutan stok. Proses pengenceran dilakukan dengan cara yang sama dari konsentrasi 1 mg/ml menjadi $100\mu\text{g/ml}$ dan dari $100\mu\text{g/ml}$ menjadi $10\mu\text{g/ml}$ yang akan dijadikan sebagai kontrol positif pada tahap pengujian.

Proses pengujian dilakukan dengan menuangkan $100\mu\text{l}$ suspensi bakteri *S. typhi* dari hasil penghitungan yaitu $1,26 \times 10^3$ sel/ml ke dalam cawan petri steril, lalu dituangkan media NA kedalamnya dan dihomogenkan serta didiamkan agar memadat. Setelah memadat, dibuat lubang sumuran menggunakan *cork borer* dengan diameter 6 mm. Jumlah sumuran yang dibuat dalam satu cawan petri sebanyak 3 lubang sumuran yang akan diisi dengan 3 macam perlakuan yaitu isolat BAL nira siwalan, kontrol positif (*amoxicillin* $10\mu\text{g/ml}$) dan kontrol negatif (DMSO 10%). Setiap perlakuan tersebut dituangkan ke dalam sumuran sebanyak $30\mu\text{l}$ menggunakan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C . Setelah itu, dilakukan pengamatan dan pengukuran terhadap zona hambat (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar lubang sumuran dengan menggunakan penggaris. Pengukuran diameter zona hambat menggunakan rumus sebagai berikut (Tiwa *et al.*, 2017):

$$D = \frac{D_v + D_h}{2} \quad (3)$$

Keterangan:

D : Rerata diameter zona hambat

D_v : Diameter zona hambat vertikal - Diameter sumuran

D_h : Diameter zona hambat horizontal - Diameter sumuran

Data yang diperoleh berupa data karakterisasi BAL dari nira siwalan dan data diameter zona hambat (*clear zone*) BAL terhadap bakteri *S. typhi*. Analisis data pada karakterisasi BAL dilakukan secara deskriptif dan analisis data diameter zona hambat dilakukan menggunakan *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versi 23.0 *for windows*. Data yang diuji menggunakan SPSS berupa uji normalitas Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui normalitas suatu data, setelah itu dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan isolat BAL yang diberikan terhadap zona hambat yang terbentuk pada bakteri *S. typhi*. Terakhir, dilakukan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) untuk membandingkan atau melihat beda nyata dari setiap perlakuan yang diberikan.

HASIL

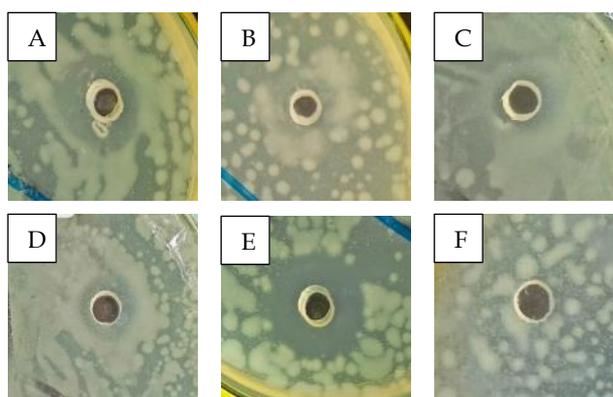
Penelitian ini berhasil mendapatkan isolat BAL dari nira siwalan sebanyak 4 isolat yang dikarakterisasi berdasarkan pengamatan makroskopis, mikroskopis dan fisiologis. Hasil karakterisasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakter isolat bakteri asam laktat dari nira siwalan

Karakterisasi	Kode Isolat				
	A	B	C	D	
Makroskopis	Form	Circular	Circular	Circular	Circular
	Elevation	Convex	Flat	Convex	Convex
	Margin	Entire	Entire	Entire	Entire
	Permukaan	Halus	Halus	Halus	Halus
	Warna	Putih	Putih	Kuning	Kuning kecoklatan
Mikroskopis	Bentuk Sel	Bacil	Bacil	Bacil	Coccus
	Gram	+	+	+	+
	Endospora	-	-	-	-
Fisiologis	Katalase	-	-	-	-
	Motilitas	-	-	-	-

Keterangan: Karakter isolat Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari nira siwalan: (A) Isolat L10⁵A; (B) Isolat L10⁵B; (C) Isolat L10⁴C; (D) Isolat L10⁴D.

Hasil uji potensi BAL sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. typhi* dapat diketahui dari pengamatan mengenai ada tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dari keempat isolat BAL yang diujikan, semuanya menghasilkan zona hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening (*clear zone*) di sekitar lubang sumuran. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Penghambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* oleh isolat BAL dari nira siwalan: (A) Perlakuan isolat L10⁵A; (B) Perlakuan isolat L10⁵B; (C) Perlakuan isolat L10⁴C; (D) Perlakuan isolat L10⁴D; (E) Perlakuan kontrol positif amoxicillin 10 µg/ml; (F) Perlakuan kontrol negatif DMSO 10%.

Tabel 2. Hasil uji potensi BAL dari nira siwalan sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

No.	Kode	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm) ± SD
1.	F	Kontrol negatif (DMSO 10%)	0,00 ± 0,00 ^a
2.	A	L10 ⁵ A	8,75 ± 1,25 ^c
3.	B	L10 ⁵ B	6,75 ± 1,70 ^b
4.	C	L10 ⁴ C	5,50 ± 1,29 ^b
5.	D	L10 ⁴ D	5,75 ± 1,70 ^b
6.	E	Kontrol positif (amoxicillin 10µg/ml)	11,50 ± 0,57 ^d

Keterangan: - Data diikuti dengan notasi huruf (a, b, c, d) untuk menunjukkan beda nyata di setiap perlakuan.
 - Data yang diperoleh sudah dikurangi dengan diameter lubang sumuran (6 mm).
 - Data yang diperoleh berasal dari rata-rata 4 kali pengulangan ± standar deviasi.

Berdasarkan hasil analisis data terkait pengujian BAL dari nira siwalan terhadap bakteri *S. typhi* menggunakan *software* SPSS, dapat diketahui bahwa hasil uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan data yang diperoleh termasuk ke dalam data yang berdistribusi normal. Hal ini ditunjukkan dengan nilai $p > \alpha$, yakni nilai p (signifikansi) sebesar 0,200 dan nilai α sebesar 0,05. Pada

uji *One Way ANOVA*, hasil data yang diperoleh menunjukkan nilai $p < \alpha$, dengan nilai p (signifikansi) sebesar 0,000 dan nilai α sebesar 0,05 sehingga, berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA*, pemberian perlakuan isolat BAL memiliki pengaruh terhadap terbentuknya zona hambat pada bakteri *S. typhi*. Pada uji DMRT, hasil data menunjukkan bahwa perlakuan isolat L10⁵A dengan kontrol positif dan kontrol negatif menunjukkan hasil berbeda nyata dengan perlakuan isolat lain yang dibuktikan dengan notasi yang berbeda. Sementara itu, isolat L10⁵B, L10⁴C dan L10⁴D menunjukkan hasil tidak berbeda nyata yang ditunjukkan dengan notasi yang sama. Hasil uji DMRT dapat dilihat pada Tabel 2.

PEMBAHASAN

Berdasarkan data yang diperoleh, hasil isolasi Bakteri Asam Laktat dari nira siwalan didapatkan sebanyak 4 isolat yang diindikasikan dengan terbentuknya zona bening pada media MRSA + CaCO₃ 1%. Menurut Aritonang *et al.*, (2017) penambahan senyawa CaCO₃ pada media MRSA digunakan untuk menyeleksi bakteri yang menghasilkan asam laktat, sehingga zona bening yang terbentuk pada media MRSA tersebut disebabkan adanya reaksi asam organik yang dihasilkan oleh BAL dengan senyawa yang terkandung di dalam media (Lawalata dan Satiman, 2015). Pada umumnya, senyawa CaCO₃ digunakan untuk isolasi BAL karena sifatnya yang mampu bereaksi dengan asam laktat dan membentuk senyawa baru yaitu kalsium laktat (C₆H₁₀CaO₆) sehingga menimbulkan warna bening pada media (Sari, 2018).

Karakterisasi BAL yang dilakukan berdasarkan pengamatan makroskopis, mikroskopis dan fisiologis dilakukan untuk membuktikan bahwa isolat-isolat bakteri yang diperoleh dari nira siwalan merupakan BAL dengan berdasarkan sifat-sifat umumnya seperti berbentuk bulat atau batang, gram positif, bersifat non-motil, tidak menghasilkan spora dan katalase negatif (Marco *et al.*, 2017). Pada pewarnaan gram, keempat isolat BAL termasuk ke dalam bakteri gram positif yang dibuktikan dengan warna ungu yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena bakteri gram positif mempunyai peptidoglikan yang lebih tebal daripada peptidoglikan pada bakteri gram negatif, sehingga pada proses pewarnaan, zat warna *crystal violet* tetap dipertahankan walaupun telah didekolorisasi menggunakan alkohol (Hamidah *et al.*, 2019). Sementara itu, pada pewarnaan endospora, keempat isolat BAL tidak menghasilkan spora yang ditunjukkan dengan sel yang berwarna merah. Hal ini dikarenakan isolat BAL tidak membentuk spora sehingga akan terlihat sel vegetatif yang ditunjukkan dengan warna merah setelah dilakukan pewarnaan akhir menggunakan safranin (Laily *et al.*, 2013). Pada uji motilitas, keempat isolat BAL menunjukkan hasil non-motil yang diketahui dari bekas tusukan inokulum pada media SIM dengan indikator tidak terbentuk rambatan-rambatan di sekitar bekas tusukan sehingga menandakan bahwa isolat BAL tidak memiliki flagela (Amaliah *et al.*, 2018). Pada uji katalase, keempat isolat BAL menunjukkan hasil katalase negatif yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gelembung O₂ setelah ditetesi dengan H₂O₂ 3%. Hal ini disebabkan karena BAL tidak memproduksi enzim katalase yang memiliki kemampuan untuk memecah H₂O₂ (Suhaeni dan Syakur, 2016).

Pengujian potensi BAL sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. typhi* dilakukan dengan metode sumuran karena kapasitas tampung yang dimiliki metode ini lebih besar daripada metode difusi cakram sehingga dapat menghindari terjadinya pelebaran zona hambat yang berlebihan (Rinto *et al.*, 2012). Hasil uji potensi BAL dari nira siwalan sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. typhi* menunjukkan bahwa isolat BAL dari nira siwalan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*. Hal ini ditunjukkan dengan zona hambat (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar lubang sumuran.

Terbentuknya zona hambat tersebut, dikarenakan adanya berbagai macam senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh BAL seperti asam laktat, bakteriosin, hidrogen peroksida, reutrin, diasetil dan asam-asam organik lainnya seperti asam lemak pendek atau *Short Chain Fatty Acid* (SCFA) berupa asam asetat, propionat dan butirat (Lacob *et al.*, 2019). Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri patogen sehingga asam akan terurai menjadi ion hidrogen dan anion toksik yang dapat mengakibatkan disfungsi pada fisiologis sel dan kestabilan protein sel bakteri (Theron dan Luwes (2011). Senyawa bakteriosin yang dihasilkan BAL juga berperan dalam menghambat bakteri *S. typhi* karena bakteriosin bersifat "*single hit inactivation*" yang memiliki mekanisme untuk membunuh satu sel bakteri target dengan satu molekul bakteriosin (Kasi *et al.*, 2017). Hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh BAL akan berperan dalam proses aktivitas antibakteri tipe bakterisidal dengan cara merusak protein, lipid dan asam nukleat (Murphy dan Friedman, 2019). Reuterin berfungsi sebagai penghambat aktivitas enzim reduktase ribonukleotida, sehingga dapat mencegah terjadinya replikasi DNA pada bakteri *S. typhi* (Prayoga *et al.*, 2021). Diasetil memiliki peran dalam menekan pertumbuhan bakteri *S. typhi* dengan cara membentuk reaksi pada protein pengikat arginin sehingga berdampak pada pemanfaatan arginin oleh bakteri *S. typhi* (Singh, 2018).

Selain asam laktat, bakteriosin, hidrogen peroksida, diasetil dan reutrin, adanya asam lemak rantai pendek (SCFA) seperti asam asetat, asam propionat dan asam butirat juga memiliki peranan yang sangat penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* melalui pengaturan pH sehingga dapat mengganggu keberlangsungan hidup bakteri *S. typhi* dan menghindari terjadinya kolonisasi yang berlebihan pada epitel usus jika dikonsumsi oleh manusia (Prayoga *et al.*, 2021).

Adanya senyawa bakteriosin yang merupakan senyawa metabolit sekunder hasil sintesis BAL di dalam ribosom mengakibatkan terjadinya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi* (Firdaus *et al.*, 2020). Hal ini dikarenakan bakteri *S. typhi* termasuk kelompok bakteri gram negatif sehingga cenderung mudah dihambat oleh senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh BAL serta sensitif terhadap pH rendah akibat adanya asam organik yang diproduksi oleh BAL (Manalu *et al.*, 2020). Mekanisme bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* adalah melalui pembentukan pori pada dinding dan membran sel bakteri *S. typhi* untuk memudahkan masuk sehingga dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sel (Aslam *et al.*, 2011). Adanya lipid pada membran sel yang memiliki muatan negatif dijadikan sebagai reseptor utama oleh bakteriosin selama proses pembentukan pori, sehingga mengakibatkan terjadinya interaksi elektrostatik bakteriosin yang bermuatan positif dan bersifat hidrofobik terhadap gugus fosfat yang memiliki muatan negatif pada membran sel bakteri *S. typhi*. Terbentuknya interaksi tersebut merupakan langkah awal penetrasi bakteriosin melalui dinding sel dengan mengikat bakteriosin ke membran sel bakteri *S. typhi* (Firdaus *et al.*, 2020). Proses ini menyebabkan sel bakteri *S. typhi* menjadi tidak kuat karena adanya gangguan potensial membran berupa ketidakstabilan membran sitoplasma sehingga mengakibatkan terbentuknya pori pada membran sel bakteri *S. typhi*. Pori yang terbentuk akan menimbulkan kebocoran sel dan berpengaruh pada penurunan pH sel akibat efek yang ditimbulkan oleh bakteriosin yang mengubah gradien potensial membran dan pelepasan molekul intraseluler serta masuknya substansi ekstraseluler. Hal tersebut dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *S. typhi* dan berpotensi menimbulkan kematian sel bakteri yang sensitif terhadap bakteriosin (Usmiati, 2012).

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. Selain itu, sumber nutrisi seperti karbon dan nitrogen yang terkandung dalam media pertumbuhan bakteri juga berperan penting terhadap laju pertumbuhan sel BAL sehingga akan mempengaruhi laju metabolisme produksi bakteriosin.

Hasil uji statistik mengenai pengujian perlakuan isolat BAL dari nira siwalan terhadap bakteri *S. typhi* menunjukkan bahwa keempat isolat BAL berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* dengan isolat L10⁵A berbeda nyata dengan ketiga isolat lainnya yaitu L10⁵B, L10⁴C dan L10⁴D. Berdasarkan kriteria zona hambat menurut Pan *et al.*, (2009) isolat L10⁵A dan L10⁵B dikategorikan sebagai kategori "kuat" dengan zona hambat yang dihasilkan sebesar 8,75 mm dan 6,75 mm, sedangkan isolat L10⁴C dan L10⁴D dikategorikan sebagai kategori "sedang" dengan zona hambat yang dihasilkan sebesar 5,50 mm dan 5,75 mm. Diameter zona hambat BAL dikategorikan sebagai kategori lemah jika berdiameter 0-3 mm, kategori sedang jika berdiameter 3-6 mm dan kategori kuat jika berdiameter > 6 mm (Pan *et al.*, 2009). Sementara itu, pada perlakuan kontrol terbagi menjadi dua bagian yaitu kontrol negatif dan kontrol positif. Pada perlakuan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%, tidak menunjukkan respon zona hambat. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan DMSO 10% sebagai kontrol negatif tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* karena kontrol negatif berfungsi sebagai indikator untuk memastikan bahwa terbentuknya diameter zona hambat merupakan murni dari hasil aktivitas senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh isolat BAL nira siwalan serta tidak dipengaruhi oleh pelarut (Savira dan Trimulyono, 2021). Pada perlakuan kontrol positif menggunakan amoxicillin 10 µg/ml menunjukkan respon zona hambat sebesar 11,5 mm. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kontrol positif amoxicillin 10 µg/ml lebih efektif dibandingkan perlakuan isolat BAL nira siwalan karena amoxicillin memiliki mekanisme kerja dengan cara menekan pertumbuhan bakteri dan menghambat biosintesis dinding sel bakteri (Rupiniasih *et al.*, 2019). Berdasarkan kriteria menurut CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) (2016), standard zona hambat amoxicillin 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 ≥ 17mm. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif amoxicillin 10 µg/ml dikategorikan sebagai zona hambat "sensitif" karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.*

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

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh 4 isolat Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari nira siwalan yaitu isolat L10⁵A, L10⁵B, L10⁴C dan L10⁴D. Keempat isolat tersebut memiliki karakteristik yang menunjukkan ciri-ciri BAL pada umumnya yakni memiliki bentuk sel *bacil/coccus*, gram positif, non-motil, katalase negatif dan tidak membentuk endospora. Hasil uji *One Way ANOVA*, menunjukkan bahwa keempat isolat tersebut 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.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfiyanti E dan Putri DH, 2020. Precision Enumeration of The Number of Bacterial Cells with The Spread Plate Method Using Diluton. *Serambi Biologi*; 5(1): 7-10.
- Amaliah ZZN, Bahri S, dan Amelia P, 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*; 5(1): 253-257.
- 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.
- Aritonang SN, Roza E, Rossi E, Purwati E, dan Husmaini H, 2017. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Okara and Evaluation of Their Potential as Candidate Probiotics. *Pakistan Journal of Nutrition*; 16(8): 618-628.
- Artati A, Armah Z, dan Anwar AY, 2021. Uji sensitivitas Berbagai Jenis Antibiotik Terhadap *Salmonella* sp. yang Diisolasi dari Penderita Demam Typhoid. *Jurnal Media Analis Kesehatan*; 12(1): 25-34.
- Aslam M, Shahid M, Rehman FU, Naveed NH, Batool AI, Sharif S, dan Asia A, 2011. Purification and Characterization of Bacteriocin Isolated from *Streptococcus thermophilus*. *African Journal of Microbiology Research*; 5(18): 2642-2648.
- Bulu S, Ledo ME, dan Rupidara AD, 2019. Identifikasi Morfologi Bakteri Asam Laktat Pada Nira Segar (*Borassus flabellifer* Linn). *Jambura Edu Biosfer Journal*; 1(2): 47-52.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2016. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility*. 26 Edition. USA: Pennsylvania.
- Desniar D, Rusmana I, Suwanto A, dan Mubarik NR, 2012. Senyawa Antimikroba yang Dihasilkan Oleh Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. *Jurnal Akuatika*; 3(2): 135-145.
- Fadhilla R, Iskandar EA, dan Kusumaningrum HD, 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Lumut Hati (*Marchantia paleacea*) Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*; 23(2): 126-131.
- Fauziah PN dan Nurhajati J, 2015. Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* KS1 dalam Menghambat Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* Strain ATCC 700603, CT1538 dan S941. *Majalah Kedokteran Bandung*; 47 (1): 35-41.
- Firdaus MR, Putra AE, dan Abdiana A, 2020. Potensi Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus Gasseri* Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*; 1(3): 314-320.
- 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.
- Giyatno DC dan Retnaningrum E, 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Sains Dasar*; 9(2): 42-49.
- Hamidah MN, Rianingsih L, dan Romadhon R, 2019. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*; 1(2): 11-21.
- Hardianto D, 2019. Telaah Metode Diagnosis Cepat dan Pengobatan Infeksi *Salmonella typhi*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBB)*; 6(1): 149-158.
- Harti AS, 2015. *Mikrobiologi Kesehatan: Peran Mikrobiologi dalam Bidang Kesehatan Edisi I*. Yogyakarta: Andi Publisher.
- Hawa LC dan Makhfudhi MY, 2019. Studi Proses Termal dalam Pengolahan Nira Siwalan Menjadi Minuman Sinom Legen di PT. Petrokimia Gresik Jawa Timur. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*; 7(1): 20-27.
- Ibrahim A, Firdayanti A, dan Delvia F, 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*; 1(2): 159-163.
- Imara F, 2020. *Salmonella typhi* Bakteri Penyebab Demam Tifoid. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi*; 6(1): 1-5.
- Ismail YS, Yulvizar C, dan Putriani P, 2017. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Bioleuser*; 1(2): 45-53.
- Kasi PD, Ariandi A, dan Mutmainnah H, 2017. Uji Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Limbah Cair Sagu terhadap Bakteri Patogen. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*; 5(3): 97-101.

- Koriasih P, Jannah SN, dan Raharjo B, 2019. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Tape Ketan dan Potensinya Sebagai Agen Antikapang terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus*. *NICHE Journal of Tropical Biology*; 2(2): 7-13.
- Kurnia M, Amir H, dan Handayani D, 2020. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Tradisional Suku Rejang di Provinsi Bengkulu: "Lemea". *Alotrop*; 4(1): 25-32.
- Lacob S, Diana GL, dan Luminata M, 2019. Intestinal Microbiota as a Host Defense Mechanism to Infectious Threats. *Front Microbial*; 9(1): 2-9.
- Laily IN, Utami R, dan Widowati E, 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*; 2(4): 179-184.
- Lawalata JH dan Satiman U, 2015. Identification of Lactic Acid Bacteria Proteolytic Isolated from an Indonesian Traditional Fermented Fish Sauce Bakasang by Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA). *International Journal of ChemTech Research*; 8(12): 630-636.
- Lugito NPH dan Cucunawangsih, 2017. Antimicrobial Resistance of *Salmonella enterica* Serovars Typhi and Paratyphi Isolates from a General Hospital in Karawaci, Tangerang, Indonesia: A Five Year Review. *International Journal of Microbiology*; 2017: 1-7.
- Manalu RT, Bahri S, Melisa M, dan Sarah S, 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Feses Manusia Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Sainstech Farma Jurnal Ilmu Kefarmasian*; 13(1): 55-59.
- Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligne B, Ganzle M, Kort R, Pasin G, Pihlanto A, dan Smid EJ, 2017. Health Benefits of Fermented Foods: Microbiota and Beyond. *Current Opinion in Biotechnology*; 44: 94-102.
- 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.
- Murphy EC dan Friedman AJ, 2019. Hydrogen Peroxide and Cutaneous Biology: Translational Applications, Benefits and Risks. *Journal of The American Academy of Dermatology*; 81(6): 1379-1386.
- Nasution APA, Erina E, Darmawi D, Darniati D, Ismail I, dan Thasmi CN, 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.
- Plavec TV dan Berlec A, 2020. Safety Aspects of Genetically Modified Lactic Acid Bacteria. *Microorganisms*; 8(2): 297.
- Prayoga IPA, Ramona Y, dan Suaskara IBM, 2021. Bakteri Asam Laktat Bermanfaat dalam Kefir dan Perannya dalam Meningkatkan Kesehatan Saluran Pencernaan. *Symbiosis*; 9(2): 115-130.
- Riadi S, Situmeang SM, dan Musthari M, 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yoghurt dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Biosains*; 3(3): 144-152.
- Rinto R, Sasanti AD, dan Fitria K, 2012. Aktivitas Penghambatan Isolat Bakteri Asam Laktat Ikan Nila dan Tongkol Terhadap Bakteri Merugikan Produk Perikanan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*; 15(2): 94-100.
- Rizal S, Erna M, Nurainy F, dan Tambunan AR, 2016. Karakteristik Probiotik Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas dengan Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*; 18(1): 63-71.
- Rupiniasih NN, Indriani I, Syamsuddin S, dan Razak AR, Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Kloroform, Etil Asetat Bunga Kamboja (*Plumeria alba*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*; 5(2): 173-181.
- Salima J, 2015. Antibacterial Activity of Garlic (*Allium sativum* L.). *Jurnal Majority*; 4(2): 30-39.
- Sandika J dan Suwandi JF, 2017. Sensitivitas *Salmonella typhi* Penyebab Demam Tifoid Terhadap Beberapa Antibiotik. *Jurnal Majority*; 6(1): 41-45.
- Saranraj P, Naidu MA, dan Sivasakthivelan P, 2013. Lactic Acid Bacteria and its Antimicrobial Properties: A Review. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*; 4(6): 1124-1133.
- Sari M, 2018. Kemampuan Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Bekasam dalam Menghambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella* sp. Tesis. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Sasmita AH, Sapriati AN, dan Kursia S, 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Liur Basa (Limbah Sayur Bayam dan Sawi). *As-Syifaa*; 10(2): 141-151.
- Savira HG dan Trimulyono G, 2021. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri dari Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *LenteraBio*; 10(3): 347-355.
- Singh VP, 2018. Recent Approaches in Food Bio-Preservation – A Review. *Open Veterinary Journal*; 8(1): 104-111.
- 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.
- Suhaeni S dan Syakur A, 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dangka Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*; 4(2): 79-83.
- Sunaryanto R dan Marwoto B, 2013. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih Susu Kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*; 14(3): 228-233.

- Suseno TIP, Surjoseputro S, dan Anita K, 2012. Minuman Probiotik Nira Siwalan: Kajian Lama Penyimpanan Terhadap Daya Anti Mikroba *Lactobacillus casei* pada Beberapa Bakteri Patogen. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi*; 1(1): 1-13.
- Theron MM dan Lues JFR, 2011. Mechanisms of Microbial Inhibition. *Organic Acids and Food Preservation*; 117-150.
- Tiwa FG, Homenta H, dan Hatugalung B, 2017. Uji Efektivitas Daya Hambat Getah Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Pharmacon*; 6(4): 192-200.
- Usmiati S, 2012. Daging Tahan Simpan dengan Bakteriosin. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*; 34(2): 12-14.
- World Health Organization, 2018. *Weekly Epidemiological Record*. Geneva: WHO.
- 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.

Article History:

Received: 16 Februari 2022

Revised: 14 Maret 2022

Available online: 16 Agustus 2022

Published: 30 September 2022

Authors:

Muhammad Fajrul Falakh, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: muhammadfajrul.18013@mhs.unesa.ac.id

Mahanani Tri Asri, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: mahananiasri@unesa.ac.id

How to cite this article:

Falakh MF dan Asri MT, 2022. Uji Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai Antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. *LenteraBio*; 11(3): 514-524.