

**AKTIVITAS SINERGISME DAN KARAKTERISASI ISOLAT
BAKTERI ASAM ASETAT DAN KHAMIR FERMENTATIF
ASAL BUAH NIPAH (*Nypa fruticans*) DALAM UPAYA
PENGEMBANGAN STARTER LOKAL KOMBUCHA**

SKRIPSI

Diajukan Oleh:

**FEBBY YOLANDA WULANDARI
NIM. 150703049
Mahasiswa Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-raniry**



**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
BANDA ACEH
2020 M/1441 H**

PENGESAHAN PEMBIMBING SKRIPSI

**AKTIVITAS SINERGISME DAN KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI
ASAM ASETAT DAN KHAMIR FERMENTATIF ASAL BUAH
NIPAH (*Nypa fruticans*) DALAM UPAYA PENGEMBANGAN
STARTER LOKAL KOMBUCHA**

Diajukan Kepada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry
Sebagai Bebas Studi Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Dalam Ilmu Biologi

Oleh:

FEBBY YOLANDA WULANDARI
NIM.150703049
Mahasiswa Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry

Disetujui Oleh

فakultas السائنس والتكنولوجيا

AR-RANIRY

Pembimbing I,


Arif Sardi, M.Si
NIDN. 2019068601

Pembimbing II,


Diannita Harahap, M.Si
NIDN. 2022038701

**AKTIVITAS SINERGISME DAN KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI
ASAM ASETAT DAN KHAMIR FERMENTATIF ASAL BUAH
NIPAH (*Nypa fruticans*) DALAM UPAYA PENGEMBANGAN
STARTER LOKAL KOMBUCHA**

SKRIPSI

Telah Diuji Oleh Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dan Dinyatakan Lulus
Serta Diterima Sebagai Salah Satu Beban Studi Program Sarjana (S-1)
Dalam Ilmu Biologi

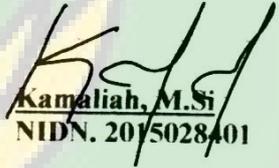
Pada Hari/Tanggal: Kamis, 30 Januari 2020
5 Jumadil Akhir 1441 H

Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi

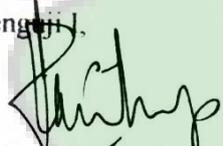
Ketua,


Arif Sardi, M.Si
NIDN. 2019068601

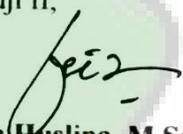
Sekretaris,


Kamaliah, M.Si
NIDN. 2015028401

Penguji I,


Diannita Harahap, M.Si
NIDN. 2022038701

Penguji II,


Feizia Huslina, M.Sc
NIDN. 2012048701

Mengetahui

~~Dekan~~ **Fakultas Sains Dan Teknologi**
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh,




Dr. Azhar Amsal, M.Pd
NIDN. 2001066802

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Febby Yolanda Wulandari
NIM : 150703049
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Aktivitas Sinergisme Dan Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Asetat Dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*) Dalam Upaya Pengembangan Starter Lokal Kombucha

Dengan ini menyatakan bahwa dalam penelitian skripsi ini, saya:

1. Tidak menggunakan ide orang lain tanpa mampu mengembangkan dan mempertanggung jawabkan;
2. Tidak melakukan plagiasi terhadap naskah karya orang lain;
3. Tidak menggunakan karya orang lain yanpa menyebutkan sumber asli atau tanpa izin pemilik karya;
4. Tidak memanipulasi dan memalsukan data;
5. Mengerjakan sendiri karya ini dan mampu bertanggung jawab atas karya ini.

Bila dikemudian hari ada tuntutan dari pihak lain atas karya saya dan telah melalui pembuktian yang dapat dipertanggung jawabkan dan ternyata memang ditemukan bukti bahwa saya telah melanggar pernyataan ini, maka saya siap dikenai sanksi berdasarkan aturan yang berlaku di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Banda Aceh, 27 Januari 2020
Yang menyatakan,



Febby Yolanda Wulandari
NIM. 150703049

ABSTRAK

Nama : Febby Yolanda Wulandari
NIM : 150703049
Program Studi : Biologi
Judul : Aktivitas Sinergisme Dan Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Asetat Dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*) Dalam Upaya Pengembangan Starter Lokal Kombucha
Kata Kunci : Starter, bakteri asam asetat, khamir, sinergisme, karakterisasi isolat, fermentasi karbohidrat oleh khamir.

Starter adalah populasi mikroba dengan jumlah dan kondisi fisiologis yang telah siap untuk diinokulasikan pada media fermentasi. Starter pada teh kombucha merupakan cairan induk yang digunakan sebagai bibit. Pada tahap inokulasi, cairan starter ini digunakan sebagai sumber keberadaan bakteri asam asetat dan khamir. Bakteri asam asetat (BAA) adalah bakteri jenis Gram negatif yang menghasilkan asam asetat dan sangat penting dalam fermentasi. Khamir (*yeast*) merupakan fungi uniseluler yang biasanya terdapat pada buah dan nektar tanaman yang terkandung karbohidrat dan banyak nutrisi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sinergisme dan karakterisasi isolat BAA dan khamir, serta untuk mengetahui jenis metabolisme khamir asal buah nipah. Pada penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, yaitu: uji sinergisme antara isolat BAA dan khamir, karakterisasi dengan mengamati morfologi koloni dan sel isolat, serta uji khamir difermentasikan dalam media yang mengandung 3 jenis karbohidrat berupa glukosa, sukrosa, dan laktosa. Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas isolat BAA dan khamir yang saling bersinergi (kompatibel). Isolat khamir asal buah nipah dengan kode isolat DFK 1, DFK 2, DFK 3 dan DFK 4 merupakan khamir fermentatif pada karbohidrat jenis glukosa. Pada karbohidrat jenis sukrosa, DFK 1, DFK 3 dan DFK 4 merupakan khamir fermentatif, sedangkan DFK 2 jenis khamir fermentatif – oksidatif. Pada karbohidrat jenis laktosa isolat DFK 3 dan DFK 4 merupakan khamir fermentatif, sedangkan DFK 1 dan DFK 2 jenis khamir fermentatif -oksidatif.

ABSTRACT

Name : Febby Yolanda Wulandari
NIM : 150703049
Study Program : Biology
Title : Synergistic Activities and Characterization of Acetic Acid Bacteria and Fermentative Yeast Isolates from Nipah Fruit (*Nypa fruticans*) in the Development Effort to Local Starter of Kombucha.
Keywords : Starter, acetic acid bacteria, yeast, synergism, isolate characterization, fermentation of carbohydrate by yeast.

A starter is a microbial population with a number and physiological conditions that are ready to be inoculated on the fermentation medium. The starter in kombucha tea is the mother liquor that is used as a seed. At the inoculation stage, this starter liquid is used as a source of the presence of acetic acid and yeast bacteria. Acetic acid bacteria (BAA) are Gram-negative bacteria that produce acetic acid and are very important in fermentation. Yeast is a unicellular fungus that is usually found in fruit and plant nectar which contains carbohydrates and many nutrients. This research aims to determine the synergistic activity and characterization of BAA and yeast isolates, as well as to determine the type of yeast metabolism from nipah. This research consisted of several stages: synergistic test between BAA and yeast isolates, characterization by observing colony morphology and isolate cells, and fermented yeast test in media containing 3 types of carbohydrates in the form of glucose, sucrose, and lactose. The results showed that the activity of BAA and yeast isolates were synergistic (compatible). Yeast isolates from nipah with codes DFK 1, DFK 2, DFK 3 and DFK 4 were fermentative yeasts on glucose. For sucrose, isolates with codes DFK 1, DFK 3 and DFK 4 were fermentative yeasts, while DFK 2 was fermentative - oxidative yeast types. Then in lactose, isolates with codes DFK 3 and DFK 4 were fermentative yeasts, while DFK 1 and DFK 2 were fermentative-oxidative yeast types.

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan petunjuk-Nya dalam menyelesaikan skripsi penelitian ini yang berjudul “**Aktivitas Sinergisme Dan Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Asetat Dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*) Dalam Upaya Pengembangan Starter Lokal Kombucha**”. Shalawat dan salam penulis tujukan kepada Nabi Muhammad SAW.

Penghargaan dan terimakasih yang setulus-tulusnya kepada Ayahanda tercinta Fauzi dan Ibunda tersayang Hermiati yang telah mencurahkan segenap cinta dan kasih sayang serta perhatian moril maupun materil. Kakak tercinta Tivany, Abang, Kakak Ipar dan Keponakan tersayang terimakasih atas do’a, dukungan dan motivasi yang tiada henti untuk penulis. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat, kesehatan, karunia dan keberkahan di dunia dan di akhirat atas budi baik yang telah diberikan kepada penulis.

Penelitian ini merupakan salah satu kewajiban untuk mengaplikasikan Tridarma Perguruan Tinggi dalam upaya pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang Sains dan melengkapi syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Biologi Fakultas Sains Teknologi UIN Ar-Raniry. Penulis menyadari, bahwa selama penelitian dan penulisan skripsi ini telah melibatkan banyak pihak yang sangat membantu berbagai hal. Oleh sebab itu, penulis menyampaikan rasa terimakasih yang tak terhingga kepada:

1. Bapak Dr. Azhar Amsal, M. Pd, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniy Banda Aceh.

2. Ibu Lina Rahmawati, M.Si, selaku Ketua Program Studi Biologi dan seluruh staff Program Studi Biologi, serta semua Dosen dan Asisten Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry.
3. Bapak Arif Sardi, M.Si, selaku Pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Diannita Harahap, M.Si, selaku Pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu untuk membimbing dan memberi arahan serta dukungan kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Ibu Kamaliah, M.Si, selaku Penasehat Akademik yang telah banyak membimbing dan memberikan nasihat kepada penulis.
6. Seluruh Dosen dan Staf Prodi Biologi yang telah mengajarkan saya ilmu pengetahuan mulai dari semester satu hingga semester terakhir dan memberi pengaruh besar pada penulis terhadap keberhasilan dalam menyusun tugas akhir.
7. Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh dan Laboratorium Mikrobiologi UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Dan Pengujian Alat Kesehatan yang telah memberikan ruang dan tempat dalam menyelesaikan penelitian sampai selesai.
8. Sahabat tercinta dan seperjuangan Ravika Nila Kandi, S.Si; Rosanti Apriyani, S.Si; Dewi Nola Nasution, S.Si; Elita Sabaria, S.Si; Dwi Yuliandhani, S.Si; Nurdila Anggresti Maulia, SKM; Sugiati, S.Si yang telah mendukung dan menyemangati penulis dalam

menyelesaikan skripsi ini sampai selesai.

9. Seluruh teman seperjuangan Biologi seangkatan 2015 yang telah mendukung dan menyemangati penulis dalam menyelesaikan skripsi ini sampai selesai.
10. Terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhirnya penulis mengucapkan banyak terimakasih, semoga segala bantuan dan dukungan dari semua pihak yang membantu mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis berharap agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca sekaligus demi menambah pengetahuan. Kemudian penulis juga menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu penulis mengahrapkan saran dan kritikan untuk perbaikan skripsi ini di masa depan.

Banda Aceh, 27 Januari 2020
Penulis,

Febby Yolanda Wulandari

DAFTAR ISI

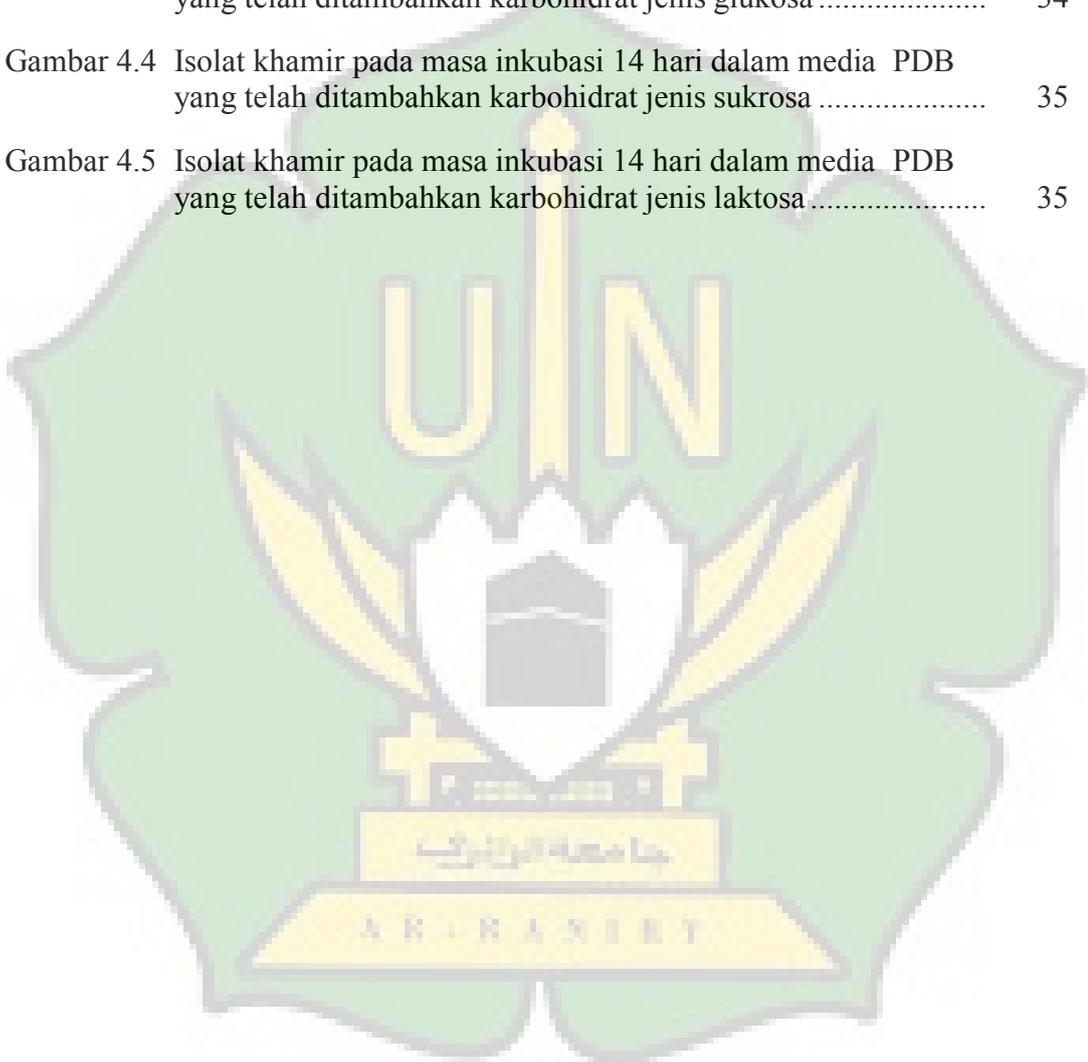
LEMBARAN PENGESAHAN PEMBIMBING SKRIPSI	i
LEMBARAN PENGESAHAN PENGUJI SKRIPSI.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Sinergisme.....	5
2.2 Bakteri Asam Asetat (BAA)	6
2.3 Khamir (<i>yeast</i>).....	7
2.4 Tanaman Nipah (<i>Nypa fruticans</i>).....	8
2.5 Starter	9
2.6 Kombucha	10
BAB III METODE PENELITIAN	13
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	13
3.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	13
3.3 Objek Dan Sampel	14
3.4 Alat dan Bahan.....	14
3.5 Metode Penelitian.....	15
3.6 Prosedur Penelitian.....	15
3.7 Analisis Data	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Hasil dan Pembahasan.....	20
4.1.1 Karakteristik Bakteri Asam Asetat Asal Buah Nipah...	20
4.1.2 Karakterisasi Khamir (<i>yeast</i>) Asal Buah Nipah	25
4.1.3 Uji Aktivitas sinergisme isolat BAA dan Khamir	30
4.1.4 Uji Fermentasi Khamir pada Karbohidrat.....	33

BAB V	PENUTUP.....	39
	5.1 Kesimpulan	39
	5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA.....		41
LAMPIRAN.....		48



DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1	Sinergi antar isolat DFA 1 dan DFA 2 dengan DFK 1, DFK 2, DFK 3 DAN DFK 4	31
Gambar 4.2	Sinergi antar isolat DFA 3 dan DFA 4 dengan DFK 1, DFK 2, DFK 3 DAN DFK 4).....	31
Gambar 4.3	Isolat khamir pada masa inkubasi 14 hari dalam media PDB yang telah ditambahkan karbohidrat jenis glukosa	34
Gambar 4.4	Isolat khamir pada masa inkubasi 14 hari dalam media PDB yang telah ditambahkan karbohidrat jenis sukrosa	35
Gambar 4.5	Isolat khamir pada masa inkubasi 14 hari dalam media PDB yang telah ditambahkan karbohidrat jenis laktosa	35



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Jadwal Penelitian.....	13
Tabel 4.1	Karakteristik isolat bakteri asam asetat asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>)	20
Tabel 4.2	Morfologi koloni isolat bakteri asam asetat asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>)	21
Tabel 4.3	Karakteristik sel isolat bakteri asam asetat asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>)	22
Tabel 4.4	Morfologi sel isolat bakteri asam asetat asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>)	23
Tabel 4.5	Karakteristik isolat khamir asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>).....	25
Tabel 4.6	Morfologi koloni isolat khamir asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>).....	26
Tabel 4.7	Karakteristik sel isolat khamir asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>).....	27
Tabel 4.8	Morfologi sel isolat khamir asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>).....	28
Tabel 4.9	Sinergi antar isolat bakteri asam asetat dan khamir asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>)	30
Tabel 4.10	Karakteristik isolat khamir asal Nipah (<i>Nypa fruticans</i>) pada karbohidrat	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Keterangan Pembimbing Skripsi.....	47
Lampiran 2	Surat Izin Penelitian.....	48
Lampiran 3	Surat Selesai Melakukan Penelitian.....	49
Lampiran 4	Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	50



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Teh kombucha merupakan teh fermentasi yang mulai dikenal di Indonesia pada tahun 1930 dan dikonsumsi oleh masyarakat sebagai minuman kesehatan. Teh kombucha dijuluki oleh banyak orang sebagai teh rahasia panjang umur (*tea of immortality*) karena masyarakat telah mengetahui banyaknya manfaat dari teh tersebut (Naland, 2008). Kombucha mengandung senyawa-senyawa organik yang bermanfaat bagi tubuh yaitu vitamin B kompleks, asam organik, antibiotik (Suhardini dan Elok, 2016), antioksidan, memperbaiki mikroflora usus dan lainnya (Wistiana dan Elok, 2015).

Akibat khasiatnya yang bermanfaat bagi kesehatan, maka Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry telah mencoba untuk mengembangkan produk teh kombucha. Pembuatan teh kombucha harus melalui proses fermentasi dengan melibatkan teh, gula dan starter kultur kombucha yang disebut scoby (*Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast*). Simbiosis kultur kombucha yaitu dari kelompok bakteri asam asetat seperti *Acetobacter xylinum*, dan dari kelompok jenis khamir yaitu *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces*, dan *Saccharomyces*. Bakteri dan khamir saling bekerja sama menghasilkan alkohol dan asam dengan merombak gula (Suhardini dan Elok, 2016).

Namun meskipun demikian, starter kombucha tersebut diperoleh dengan transaksi membeli dengan harga yang relatif mahal. Oleh karena itu alternatif lain seperti mengisolasi mikroba dari suatu tumbuhan dapat dilakukan untuk

mendapatkan starter kombucha tersebut. Hal tersebut perlu dilakukan untuk dapat mengembangkan potensi sumber daya alam yang telah diciptakan.

Pada suatu tumbuhan terdapat mikroba endofit yang merupakan organisme mikroskopis (bakteri dan jamur) yang hidup didalam jaringan tumbuhan (Putri *et al.*, 2018). Salah satu tumbuhan yang berpotensi ialah tumbuhan nipah (*Nypa fruticans*) yang hidup di tepi laut dekat daerah pasang surut (Astri, 2019). Secara tradisional, penduduk aceh memanfaatkan tumbuhan nipah dalam kehidupannya. Buah mentah, kolang-kaling dan manisan kolang-kaling merupakan olahan dari nipah yang dimanfaatkan oleh penduduk Kabupaten Aceh Barat sebagai sumber makanan. Selain itu, olahan dari nipah dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan, antara lain obat batuk, obat sariawan dan obat batu karang (Harahap, 2010). Pada olahan lain dari tanaman nipah, yaitu nira dapat disadap pada tumbuhan nipah yang berumur 5 tahun ke atas. Air nira asal buah nipah terkandung mikroorganisme, yaitu khamir dan bakteri (Yeni *et al.*, 2011).

Bakteri dan khamir pada kombucha merupakan mikroba yang saling bersimbiosis (Fajriyah, 2015). Oleh karena itu, mikroba yang diisolasi dari buah nipah juga harus bersimbiosis atau bersinergi agar tidak akan saling mengganggu, sehingga dapat menghasilkan bioselulosa dan asam-asam organik yang relatif sama sebagaimana mestinya pada proses fermentasi teh kombucha dengan menggunakan starter kultur kombucha yang diperjual belikan.

Oleh karena itu, penulis ingin isolat bakteri asam asetat dan khamir asal buah nipah dapat dikembangkan menjadi starter dalam pembuatan teh kombucha. Sehingga mudah diperoleh pada lingkungan kampus serta bermanfaat dalam pengembangan teh kombucha di daerah Aceh dengan harga yang relatif murah.

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “**AKTIVITAS SINERGISME DAN KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI ASAM ASETAT DAN KHAMIR FERMENTATIF ASAL BUAH NIPAH (*NYPA FRUTICANS*) DALAM UPAYA PENGEMBANGAN STARTER LOKAL KOMBUCHA**”.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun masalah yang akan diteliti dapat dirumuskan dalam bentuk pertanyaan-pertanyaan sebagai berikut :

1. Apakah isolat bakteri asam asetat (BAA) dan khamir yang diperoleh dari buah Nipah (*Nypa fruticans*) dapat bersinergi ?
2. Bagaimanakah karakteristik isolat bakteri asam asetat (BAA) dan khamir yang diperoleh dari buah Nipah (*Nypa fruticans*) ?
3. Apakah isolat Khamir yang diperoleh dari buah Nipah (*Nypa fruticans*) merupakan jenis khamir fermentatif ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas sinergisme dan karakteristik isolat bakteri asam asetat dan khamir fermentasi asal buah Nipah (*Nypa fruticans*) dalam upaya pengembangan starter lokal kombucha.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah :

1. Untuk dapat mengembangkan dan memanfaatkan sumber daya lokal, yaitu buah nipah (*Nypa fruticans*).

2. Untuk memberikan informasi tentang potensi mikroba yang terdapat pada buah nipah (*Nypa fruticans*).
3. Untuk menambah koleksi isolat mikroba di Laboratorium Biologi FST UIN Ar-Raniry.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

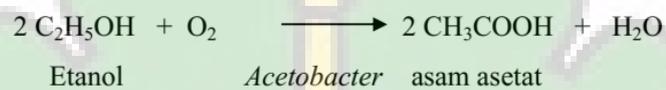
2.1 Sinergisme

Beberapa macam mikroorganisme pada suatu media atau substrat akan saling mempengaruhi dan berinteraksi antara satu sama lain (Waluyo, 2004). Sinergi atau interaksi positif dapat berlangsung pada suatu mikroorganisme seperti bakteri, dengan perilaku saling bekerja sama dalam suatu habitat pada bentuk konsorsium (Bailey *et al.*, 2006). Konsorsium merupakan gabungan beberapa jenis mikroorganisme yang dapat bekerjasama (Thompson *et al.*, 2005). Suatu konsorsium yang saling bersinergi akan saling menggunakan nutrisi yang sama dan akan menghasilkan suatu produk yang dapat menunjang pertumbuhan suatu isolat tunggal dalam artian produk tersebut dapat dimanfaatkan bersama – sama (Bailey *et al.*, 2006). Kondisi substrat yang mencukupi membuat hubungan antara mikroba konsorsium tetap saling bersinergi dan tidak saling mengganggu, sehingga perombakan nutrisi lebih efisien selama proses pengolahan (Asri dan Enny, 2016).

Mekanisme kerjasama terjadi dalam kondisi kompetisi yang seimbang antara jenis mikroorganisme pada konsorsium. Eliminasi akan terjadi apabila kompetisi tidak seimbang dalam artian terdapat jenis yang mempunyai kemampuan kompetisi yang rendah (lemah) dan tinggi (Zhang, 2003). Antagonisme akan terjadi pada interaksi yang negatif, apabila salah satu jenis mikroorganisme pada konsorsium menghasilkan suatu zat yang dapat menghambat populasi lain pada konsorsium tersebut (Atlas dan Bartha, 1998).

2.2 Bakteri Asam Asetat (BAA)

Bakteri asam asetat adalah bakteri penghasil asam asetat yang merupakan salah satu kelompok bakteri yang penting dalam fermentasi makanan. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada pH dibawah 5,0, bersifat Gram negatf, asam toleran, aerob obligat dan berbentuk batang motil. Melalui proses oksidasi etanol, bakteri asam asetat memperoleh energi. Berikut reaksi oksidasi etanol menjadi asam asetat (Kusnadi, 2018).



Genus *Acetobacter* ini masuk dalam family Acetobacteriaceae dari Alphaproteobacteria. Genus – genus dari family ini antara lain, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Kozakia*, *Swaminathania*, *Saccharibacter*, *Neoasaia*, *Granulibacter*, *Frateuria*, *Ameyamaea* dan *Tanticharoenia* (Hidayat, Nur.,dkk, 2018).

Bakteri ini terdapat di buah maupun 6rgani tanaman dari hasil etanol yang dihasilkan dari fermentasi karbohidrat oleh khamir. Asetat dapat dioksidasi oleh *Acetobacter* menjadi karbon dioksida dan air dalam proses overoksidasi. Namun, proses tersebut tidak dialami pada *Gluconobacter*. Kegiatan utama bakteri asam asetat ialah untuk menghasilkan cuka (Kusnadi, 2018).

Acetobacter xylinum dapat menghasilkan nata yang merupakan bioselulosa atau selulosa sintetik. Pembentukan bioselulosa oleh bakteri asam asetat membutuhkan tiga komponen utama yaitu, gula, asam 6rganic dan mineral. Oleh karena Itu, pada saat proses fermentasi berlangsung harus diperhatikan kandungan gula sebagai nutrisi bagi bakteri tersebut. Konsentrasi gula yang ditambahkan juga

harus diperhatikan, karena apabila gula yang ditambahkan terlalu banyak maka akan menyebabkan bakteri mengalami 7rganic7sis (kematian) (Warisno dan K. Dahana, 2009).

Bakteri asam asetat tumbuh optimal pada media yang asam, maka apabila media tumbuh seperti the kombucha yang sudah terkandung gula, asam 7rganic dan mineral memiliki pH yang masih tinggi, harus ditambahi dengan asam 7rganic lemah untuk menurunkan derajat keasaman media. Banyaknya asam 7rganic lemah yang ditambahkan tergantung pada pH media sebelumnya. Takarannya, untuk mengasamkan media sebanyak 15 – 20 liter maka dibutuhkan asam 7rganic lemah atau cuka sebanyak 100 ml (Warisno dan K. Dahana, 2009).

2.3 Khamir (*yeast*)

Jamur uniseluler disebut dengan khamir (*yeast*) (Piryadi, 2013). Khamir biasanya terdapat pada buah dan 7lcoho tanaman yang mengandung banyak nutrisi dan karbohidrat. Khamir umumnya dapat di konsumsi, sangat jarang yang bersifat 7lcohol7. Terdapat sekitar 500 spesies khamir, tetapi hanya beberapa spesies tertentu saja yang dapat dimanfaatkan untuk membuat minuman fermentasi (Kusnadi, 2018).

Jenis – jenis khamir yang berperan diantara kelompoknya antara lain, *Saccharomyces ellopsoides* yang berperan dalam proses perubahan gula menjadi 7lcohol pada cairan buah anggur (pengkhamiran). Sedangkan dalam proses fermentasi cuka (*vinegar*) dan pembentukan khamir pada roti yang berperan adalah *Saccharomyces cerevisiae* (Jaelani, 2008)

Khamir (*yeast*) *Saccharomyces cerevisiae* merupakan jenis mikroba yang dapat merombak gula menjadi 7lcohol (Suprapti, 2005). *Saccharomyces*

cerevisiae dapat memfermentasi glukosa tapi tidak dapat memfermentasi pati atau laktosa secara langsung. Produk yang dapat dihasilkan oleh khamir adalah etanol, CO₂, rasa dan aroma (Kusnadi, 2018).

2.4 Tanaman Nipah (*Nypa fruticans*)

Nipah (*Nypa fruticans*) merupakan tanaman yang terdapat di muara sungai (air payau) dan di daerah pantai. Tanaman nipah (*Nypa fruticans*) termasuk kedalam anggota tumbuhan palem (palmae). Tumbuhan nipah (*Nypa fruticans*) yang berada pada pantai akan berfungsi dalam perlindungan terhadap abrasi gelombang laut serta sebagai tempat bersarangnya biota perairan lain, ikan dan burung.

Masyarakat yang bermukim disekitar pantai masih sangat sedikit memanfaatkan tumbuhan nipah (*Nypa fruticans*). Pemanfaatannya seperti menggunakan bagian daun untuk atap rumah, tulang daun untuk sapu lidi dan pelepah untuk kayu bakar. Sedangkan buah nipah (*Nypa fruticans*) kebanyakan tidak dimanfaatkan, sering kali dibiarkan sampai rontok sendiri dan kemudian hanyut terbawa arus tanpa termanfaatkan.

Buah nipah (*Nypa fruticans*) yang bergerombol pada suatu tandan dikelompokkan menurut perkembangannya, yaitu buah putik, buah muda, buah matang dan buah tua. Buah putik berukuran sebesar kelereng (sangat kecil) sedangkan buah muda merupakan buah yang menimbun cadangan makanan (gula) pada bakal buah. Tandan buah muda umumnya disadap untuk pembuatan gula aren dan memperoleh air nira. Buah matang memiliki rasa yang manis, berwarna putih dan bertekstur liat serta umumnya diolah menjadi kolang – kaling. Buah tua

umumnya sulit dimanfaatkan dan banyak terbuang akibat kulitnya keras dan terlalu tebal. Daging buah nipah (*Nypa fruticans*) berwarna putih terbungkus kulit sabut keras berwarna coklat. Kandungan didalam daging buah nipah (*Nypa fruticans*) berupa karbohidrat berupa pati dan gula untuk bahan pangan dan pakan yang mempunyai nilai gizi tinggi (Khalil dan T. Hidayat, 2006).

2.5 Starter

Populasi mikroba dengan jumlah dan kondisi fisiologis yang telah siap untuk diinokulasikan pada media fermentasi disebut dengan starter (Fikania, 2016). Sejumlah mikroorganisme hidup yang dimanfaatkan dalam meningkatkan dan mempercepat proses fermentasi disebut dengan starter. Sebagai starter, mikroorganisme tersebut harus bermanfaat dengan aktivitas 9lcohol9c yang dapat berpengaruh dalam proses fermentasi sesuai dengan yang kita inginkan. Selain itu, starter harus dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan fermentasi, seperti halnya starter pada fermentasi asetat yang harus mampu mentoleransi kandungan asetat dan 9lcohol yang tinggi (Hidayat, 2018).

Starter mikroba dapat dijumpai dalam berbagai bentuk, seperti starter dalam pembuatan roti dan pembuatan the kombucha. Pada pembuatan roti starter yang digunakan yaitu ragi, yang umumnya terdiri dari berbagai bakteri dan fungi (khamir dan kapang) (Fikania, 2016). Sedangkan pada the kombucha starter tersebut merupakan cairan induk yang digunakan sebagai bibit. Pada tahap inokulasi, cairan starter ini digunakan sebagai sumber keberadaan bakteri asam asetat dan khamir (Naland, 2008).

2.6 Kombucha

Jamur kombucha atau disebut dengan nama SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria And Yeast*) (Sussman, 2014) merupakan membran jaringan jamur yang bersifat gelatinoid dan berbentuk piringan datar. Bersama larutan nutrisi teh dan gula kombucha tumbuh selama proses fermentasi. Piringan SCOBY kombucha awalnya akan tumbuh meluas sesuai area permukaan wadah teh, selanjutnya akan menebal apabila dirawat secara baik dan benar serta tercukupi kebutuhan nutrisi dari jamur kombucha tersebut (Hartanto, 2015).

Teh kombucha adalah minuman tradisional dari hasil fermentasi larutan teh dan gula serta membutuhkan starter jamur kombucha atau SCOBY yaitu *Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir. Proses fermentasi berlangsung selama 8-12 hari. Berbagai macam penyakit dapat diobati dengan kombucha, antara lain untuk obat sembelit, memperbaiki fungsi alat pencernaan dan kondisi tubuh, penawar racun, membantu melawan *Arteriosclerosis* dan membunuh kanker. Asam glukoronat yang terkandung pada teh kombucha dapat memperkuat imun tubuh terhadap infeksi luar, serta dapat mengikat racun dan dikeluarkan dari tubuh melalui usus (Hartanto, 2015).

Bakteri asam asetat bersama khamir (yeast) melakukan proses yang penting dalam pembuatan teh kombucha. Setelah diidentifikasi terdapat lebih kurang lima jenis bakteri asam asetat pada kombucha, yaitu *Acetobacter xylinum*, *xylinoides*, *gluconicum*, *Acetobacter ketogenum*, *Pichia fermentas*, dan *Torula variestas*. Proses fermentasi berlangsung dengan aktivitas bakteri asam asetat bersimbiosis dengan khamir (yeast) sehingga menghasilkan zat – zat yang bermanfaat untuk tubuh, antara lain seperti vitamin B1, B6, B12, asam

glukoronat, asam hyaluronic, asam kondroitin sulfat, dan beberapa enzim yang berperan baik didalam tubuh.

Kedua jenis mikroba tersebut membentuk koloni dan hidup bergantung satu sama lain. Simbiosis antara bakteri asam asetat dan khamir tersebut mengakibatkan organisme patogen sulit untuk dapat mengontaminasi relasi kedua mikroba ini. Kondisi asam hasil dari proses fermentasi lebih mempersulit lagi organisme lain yang tidak sesuai dengan kondisi pH yang rendah. Sehingga, tidak perlu khawatir untuk mengkonsumsi teh kombucha (Naland, 2008).

Bioselulosa kombucha terbentuk dari tahap awal fermentasi dengan oksigen yang sedikit. Pada proses ini enzim yang dihasilkan organisme akan merombak gula menjadi alkohol (etanol) dan gas CO₂. Apabila fermentasi berlangsung pada kondisi cukup oksigen, maka proses fermentasi tidak terjadi, sehingga etanol tidak dapat dihasilkan melainkan hanya CO₂ dan air. Selanjutnya terjadi kenaikan suhu, sehingga kondisi lingkungan panas. Khamir (*yeast*) mengawali tahap awal dengan merombak fruktosa dan sukrosa (gula) bekerja sama dengan enzim ekstraseluler sehingga yang dihasilkan bukan glukosa, melainkan alkohol (etanol) dan gas CO₂. Kemudian hasil tersebut bereaksi dengan air, lalu menghasilkan senyawa asam karbonat. Koloni khamir (*yeast*) dan bakteri asam asetat akan berkumpul pada selulosa yang terbentuk setelah beberapa hari melakukan tugasnya. Selulosa yang terbentuk berupa lapisan berwarna putih dan kenyal. Lapisan tersebut merupakan Scoby kombucha yang dapat digunakan lagi dalam proses pembentukan kombucha berikutnya (Naland, 2008).

Terdapat beberapa faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi kecepatan fermentasi asam asetat, antara lain suhu, pH, konsentrasi etanol, konsentrasi

inokulum, dan sebagainya. Suhu 30° C merupakan suhu optimal fermentasi asam asetat. *Acetobacter* sp. tumbuh dengan sangat lambat pada suhu 12° – 15°C, pada suhu 15° – 34° C tumbuh dengan normal, dan akan tumbuh optimal pada suhu 28° – 34° C. Pertumbuhan optimal berdasarkan pH yaitu 6,0 atau sekitar pH 5,0 – 7,0 serta etanol akan dioksidasi pada pH 4,5 untuk menjadi asam asetat, sedangkan konsentrasi etanol yang dibutuhkan antara 5 – 12% (Wignyanto dan N. Hidayat, 2017).



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus hingga Desember 2019. Tahap peremajaan isolat, karakterisasi morfologi, pewarnaan Gram isolat bakteri dan pewarnaan sederhana pada isolat khamir, uji sinergisme dan Analisa data dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar – Raniry Banda Aceh. Uji khamir fermentatif pada sumber karbohidrat dilakukan di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan.

3.2 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Adapun total persiapan dan pelaksanaan penelitian selama 5 bulan yang dimulai pada bulan Agustus 2019 sampai dengan Desember 2019. Jadwal dilaksanakannya penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3.1 berikut ini :

Tabel 3.1 Jadwal penelitian

No	Aktivitas	Agustus	September	Desember
1.	Persiapan alat dan bahan			
2.	Sterilisasi alat			
3.	Pembuatan media MHA, GYC dan MEA.			
4.	Peremajaan isolat BAA dan Khamir			
5.	Uji sinergisme isolat BAA dan Khamir			
6.	Peremajaan isolat BAA dan Khamir			
7.	Karakterisasi morfologi isolat BAA dan Khamir			
8.	Pewarnaan Gram isolat BAA			

9.	Pewarnaan sederhana terhadap isolat Khamir			
10.	Peremajaan isolat BAA dan Khamir			
11.	Pembuatan media PDB			
12.	Uji fermentasi 3 jenis karbohidrat pada isolat khamir			
13.	Analisa data			

3.3 Objek Dan Sampel

1. Objek

Adapun objek pada penelitian ini adalah isolat bakteri asam asetat (BAA) dan isolat khamir yang diperoleh dari buah Nipah (*Nypa fruticans*),

1. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah isolat bakteri asam asetat (BAA) dan isolat khamir yang diperoleh dari buah Nipah (*Nypa fruticans*), melalui komunikasi pribadi dengan Ibu Diannita Harahap, M.Si.

3.4 Alat dan Bahan

Alat - alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, oven, inkubator, lemari pendingin, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kertas HVS, gelas ukur, bunsen, gelas kimia, erlenmeyer, kertas label, timbangan analitik, pipet tetes, pipet ukur, jarum ose, spatula, plastic wrap, aluminium foil, botol semprot, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *waterbath*, kamera, tabung durham, gelas objek, gelas penutup, pinset, mikroskop, loop dan LAF (*Laminar Air Flow*).

Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan selama penelitian adalah isolat BAA (Bakteri Asam Asetat) dan isolat khamir yang diperoleh dari

buah Nipah (*Nypa fruticans*), media GYC (*Glucose Yeast Carbonat*), media MEA (*Malt Extract Agar*), media MHA (*Mueller Hinton Agar*), media PDB (*Potato Dextrose Broth*), indikator BCP (*Bromocresol Purple*), aquadest, kristal violet, safranin, larutan iodine kompleks, alkohol 70%, alkohol 96%, *Methylene blue*, NaCl fisiologis, glukosa, sukrosa, dan laktosa.

3.5 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini ialah menggunakan metode deskriptif dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan data yang telah terkumpul sebagaimana adanya.

3.6 Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Media

Pembuatan media MEA (*Malt Extract Agar*) dilakukan dengan menimbang media sebanyak 9,6 gr untuk selanjutnya dilarutkan dengan aquadest sebanyak 200 ml didalam erlenmeyer. Media tersebut dihomogenkan diatas *hot plate* dengan bantuan magnetic stirrer. Setelah media homogen secara merata, lalu tutup bagian atas erlenmeyer dengan *aluminium foil* dan balut kembali dengan *plastic wrap*. Selanjutnya, erlenmeyer dibungkus dalam plastik dan diikat dengan karet lalu disterilisasi dengan pemanasan basah menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Pembuatan media GYC (*Glucose Yeast Carbonat*) dilakukan dengan menimbang beberapa bahan, antara lain D-glukosa sebanyak 10 gr, *Yeast Extract* sebanyak 2 gr, agar sebanyak 4 gr dan kalsium karbonat (CaCO_3) sebanyak 1 gr.

Kemudian bahan – bahan tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, lalu dilarutkan dengan aquadest sebanyak 200 ml. Media tersebut dihomogenkan diatas *hot plate* dengan bantuan *magnetic stirrer* hingga merata, lalu tutup bagian atas erlenmeyer dengan *aluminium foil* dan balut kembali dengan *plastic wrap*. Selanjutnya, erlenmeyer dibungkus dalam plastik dan diikat dengan karet lalu disterilisasi dengan pemanasan basah menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C.

Pembuatan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) dilakukan dengan menimbang media sebanyak 4,8 gr untuk selanjutnya dilarutkan dengan aquadest sebanyak 200 ml didalam erlenmeyer. Media tersebut dihomogenkan diatas *hot plate* dengan bantuan *magnetic stirrer*. Setelah media homogen secara merata, lalu tutup bagian atas erlenmeyer dengan *aluminium foil* dan balut kembali dengan *plastic wrap*. Selanjutnya, erlenmeyer dibungkus dalam plastik dan diikat dengan karet lalu disterilisasi dengan pemanasan basah menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C.

Pembuatan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dilakukan dengan menimbang media sebanyak 7,6 gr untuk selanjutnya dilarutkan dengan aquadest sebanyak 200 ml didalam erlenmeyer. Media tersebut dihomogenkan diatas *hot plate* dengan bantuan *magnetic stirrer*. Setelah media homogen secara merata, lalu tutup bagian atas erlenmeyer dengan *aluminium foil* dan balut kembali dengan *plastic wrap*. Selanjutnya, erlenmeyer dibungkus dalam plastik dan diikat dengan karet lalu disterilisasi dengan pemanasan basah menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C.

2. Peremajaan Isolat

Biakan mikroba diremajakan dengan memperbarui dan memindahkan isolat dari biakan lama ke media tumbuh yang baru (Machmud, 2001). Isolat bakteri asam asetat diremajakan dengan cara digores pada media GYC (*Glucose Yeast Carbonat*) steril pada cawan petri dan tabung reaksi dalam bentuk agar miring. Begitu juga halnya dengan isolat khamir yang diremajakan dengan cara digores pada media MEA (*Malt Extract Agar*) steril pada cawan petri dan tabung reaksi dalam bentuk agar miring. Kemudian diinkubasi pada inkubator selama 24 - 48 jam.

3. Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi Morfologi dilakukan dengan mengamati morfologi bakteri yang telah diremajakan berumur 24 – 48 jam, morfologi koloni yang diamati meliputi bentuk, elevasi, tepian, dan warna. Morfologi sel berdasarkan hasil pewarnaan Gram yang meliputi bentuk sel dan sifat Gram. Pertama – tama kaca benda dibersihkan menggunakan alkohol 70 %, lalu biakan bakteri diambil dari stok menggunakan jarum ose diratakan diatas kaca benda (preparat) yang telah ditetesi NaCl fisiologis sambil diratakan. Kemudian difiksasi diatas api bunsen lalu ditetesi dengan zat warna kristal violet selama 1 menit, agar zat warna meresap pada bakteri. Preparat kemudian dibilas dengan aquadest dan ditetesi dengan larutan iodine kompleks. Kemudian ditunggu selama 1 menit lalu dibilas dengan aquadest. Preparat ditetesi dengan alkohol 96% selama 30 detik kemudian dibilas dengan aquadest. Tahap selanjutnya preparat ditetesi dengan zat warna

safranin, lalu ditunggu 1 menit. Setelah itu dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop (Nainggolan, 2009).

Karakterisasi khamir dilakukan dengan mengamati morfologi secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan morfologi makroskopis meliputi bentuk koloni, elevasi, warna, tepian dan tekstur permukaan. Pengamatan secara mikroskopik, merupakan pengamatan sel yang dilakukan menggunakan mikroskop dengan pewarnaan menggunakan *Methylene blue* untuk melihat bentuk sel (Suryaningsih.,dkk, 2018).

4. Pengujian Aktivitas Sinergisme

Masing-masing isolat BAA dan khamir yang telah diremajakan berumur 24 jam digoreskan bersinggungan satu sama lain menggunakan metode gores pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) sehingga antar isolat akan bertemu. Diinkubasi 24 jam dan diamati apakah terdapat zona bening atau zona hambat diantara dua isolat yang bersinggungan. Isolat dikatakan bersinergi (kompatibel) apabila tidak terdapat zona penghambatan pada daerah pertemuan kedua isolat, dan dikatakan tidak bersinergi (kompatibel) apabila terdapat zona penghambatan pada daerah pertemuan kedua isolat tersebut (Asri dan Enny, 2016).

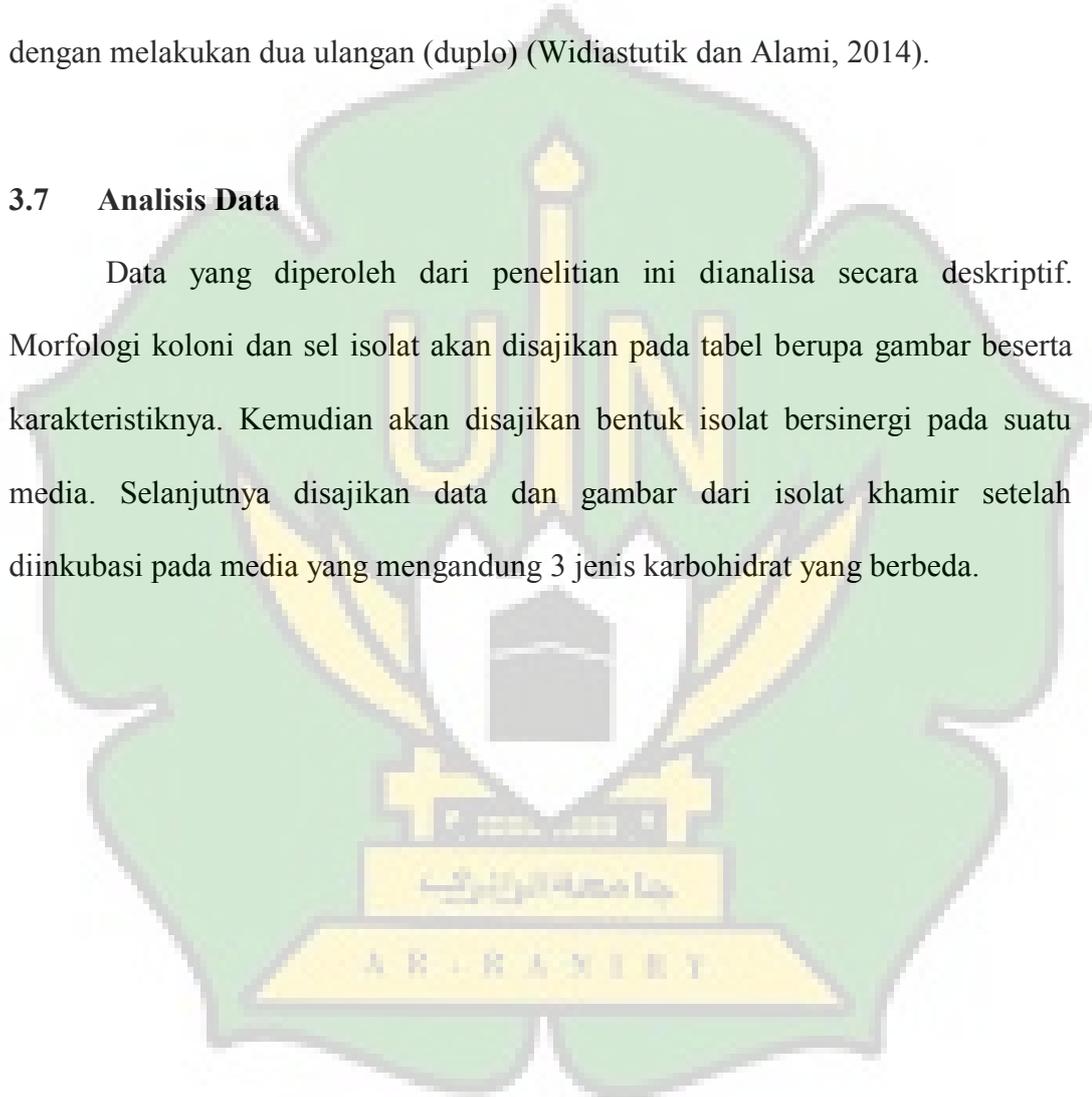
5. Karakterisasi Khamir Fermentatif

Karakterisasi khamir fermentatif dapat dilakukan dengan uji fermentasi khamir pada sumber karbohidrat yang berbeda. Karbohidrat yang digunakan adalah glukosa, sukrosa, dan laktosa. Sebanyak 0.1 ml isolat khamir kedalam media PDB (*Potato Dextrose Broth*) diinokulasikan pada medium yang

mengandung glukosa, sukrosa dan laktosa 0.2 ml. Isolat selanjutnya diinkubasi selama 7 – 14 hari pada suhu ruang dan diamati perubahannya. Uji fermentasi akan menunjukkan hasil positif apabila warna media PDB yang bercampur dengan larutan karbohidrat indikator BCP (*Bromcresol Purple*) berubah menjadi semakin jernih, lalu akan terdapat gelembung pada tabung durham. Uji dilakukan dengan melakukan dua ulangan (duplo) (Widiastutik dan Alami, 2014).

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisa secara deskriptif. Morfologi koloni dan sel isolat akan disajikan pada tabel berupa gambar beserta karakteristiknya. Kemudian akan disajikan bentuk isolat bersinergi pada suatu media. Selanjutnya disajikan data dan gambar dari isolat khamir setelah diinkubasi pada media yang mengandung 3 jenis karbohidrat yang berbeda.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil dan Pembahasan

4.1.1 Karakteristik Bakteri Asam Asetat Asal Nipah (*Nypa fruticans*)

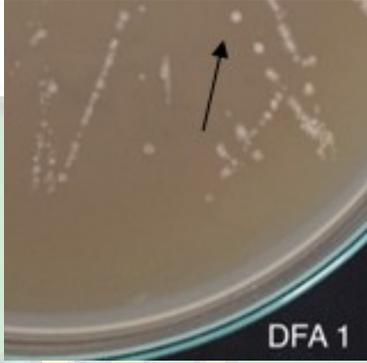
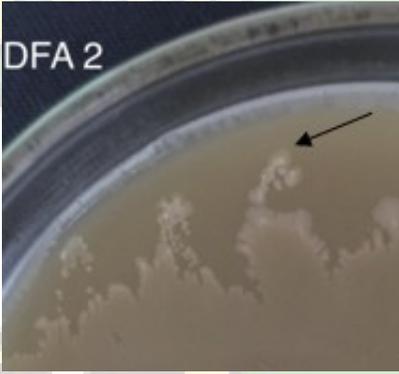
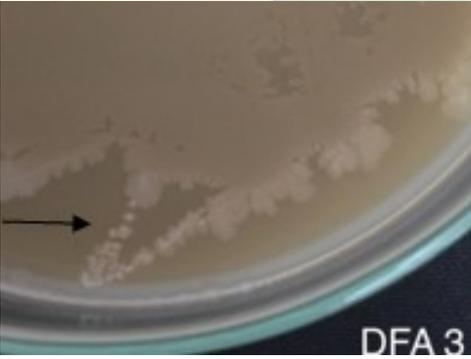
Pada penelitian ini diperoleh 4 isolat murni BAA (bakteri asam asetat) yang kembali di remajakan pada media GYC (*Glucose, Yeast Extract, Calcium Carbonate*) kemudian diinkubasi selama 24 – 48 jam. Karakteristik isolat BAA setelah diremajakan kembali dapat dilihat pada tabel 4.1 sebagai berikut :

Tabel 4.1 Karakteristik isolat bakteri asam asetat asal Nipah (*Nypa fruticans*)

No	Kode Isolat	Tepian Koloni	Bentuk Koloni	Elevasi Koloni	Warna Koloni
1.	DFA 1	Rata	Bulat	Cembung	Krim
2.	DFA 2	Berlekuk	Tidak Beraturan	Timbul	Krim
3.	DFA 3	Berlekuk	Tidak Beraturan	Datar	Krim
4.	DFA 4	Berlekuk	Tak Beraturan	Seperti Tombol	Krim

Morfologi koloni isolat dengan kode DFA 1 memiliki bentuk koloni bulat, tepian koloni yang rata, elevasi koloni cembung, ukuran titik dan berwarna krim. Isolat dengan kode DFA 2 memiliki bentuk koloni tidak beraturan, tepian koloni yang berlekuk, elevasi koloni timbul, berukuran kecil dan berwarna krim. Morfologi koloni isolat dengan kode DFA 3 memiliki bentuk koloni tidak beraturan, tepian koloni yang berlekuk, elevasi koloni datar, berukuran kecil dan berwarna krim. Sedangkan isolat dengan kode DFA 4 memiliki bentuk koloni tidak beraturan, tepian koloni yang rata, elevasi koloni seperti tombol, berukuran kecil dan berwarna krim.

Tabel 4.2. Morfologi koloni isolat bakteri asam asetat asal Nipah (*Nypa fruticans*)

No.	Kode Isolat	Gambar
1	DFA 1	
2	DFA 2	
3	DFA 3	



Selain itu, dilakukan pengamatan morfologi sel dengan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan ke empat isolat bakteri asam asetat DFA1, DFA2, DFA3 dan DFA4 ialah memiliki sifat Gram negatif dengan bentuk sel batang (basil), seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.3 berikut ini:

Tabel 4.3 Karakteristik sel isolat bakteri asam asetat asal Nipah (*Nypa fruticans*)

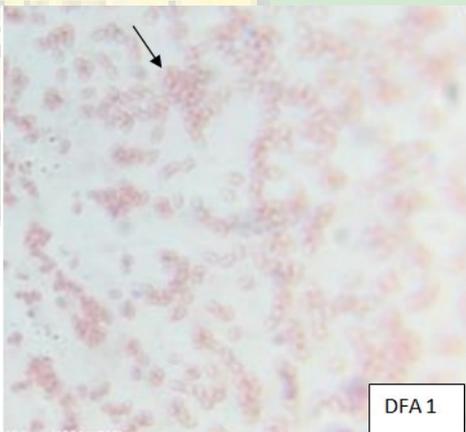
No	Kode Isolat	Gram	Bentuk Sel
1.	DFA 1	Negatif	Batang
2.	DFA 2	Negatif	Batang
3.	DFA 3	Negatif	Batang
4.	DFA 4	Negatif	Batang

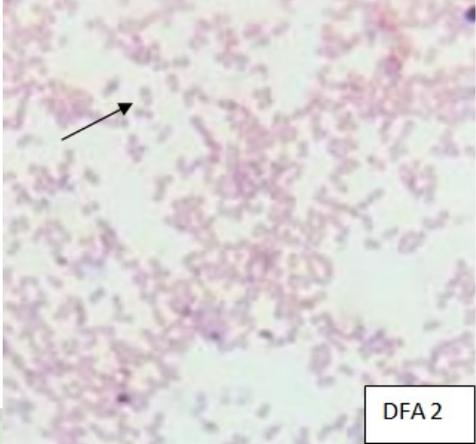
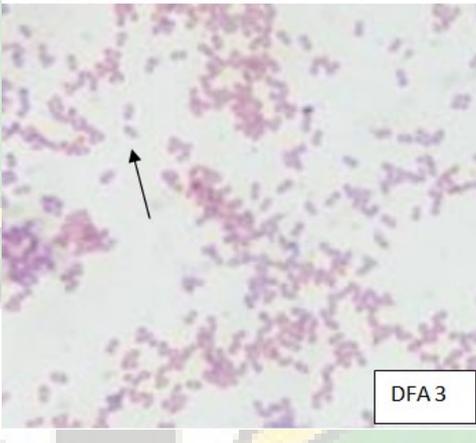
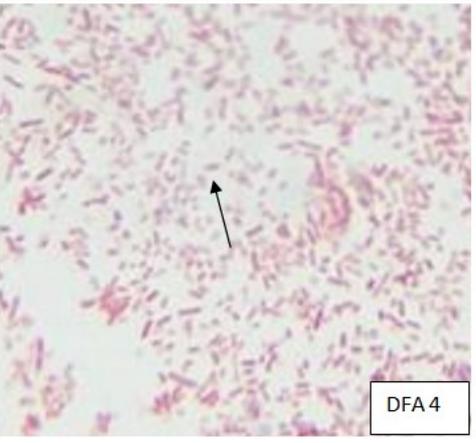
Keseluruhan isolat DFA 1 sampai DFA 4 memiliki ciri bentuk sel basil (batang) dan Gram negatif. Bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipid yang tinggi pada struktur dinding selnya, sehingga akan terlihat berwarna merah karena kompleks zat warna kristal violet hingga iodine akan larut saat diberi

larutan alkohol 96% (*decolorizer*), maka yang diambil ialah warna merah dari zat safranin (Fitri dan Yekki, 2011).

Seperti halnya pada penelitian Yeni *et al.*, (2011) yang mengisolasi BAA pada nira nipah, diperoleh enam isolat BAA yang memiliki morfologi sel bentuk basil (batang) dan bersifat Gram negatif. Bakteri asam asetat menurut Nainggolan (2009) salah satunya bakteri *Acetobacter* sp. bersifat Gram negatif dan berbentuk bulat lonjong sampai batang pendek. Williams dan Cannon (1989), menyatakan bahwa bakteri asam asetat memiliki ciri sel – selnya berbentuk basil dan merupakan bakteri Gram negatif. Berdasarkan beberapa pernyataan diatas, maka keempat isolat BAA pada penelitian ini dapat digolongkan kedalam anggota kelompok bakteri asam asetat.

Tabel 4.4 Morfologi sel isolat bakteri asam asetat asal Nipah (*Nypa fruticans*)

No.	Kode Isolat	Gambar
1	DFA 1	 <p data-bbox="746 1742 1189 1778">(Pembesaran Mikroskop 100 kali)</p>

2	DFA 2	 <p data-bbox="746 712 1190 748">(Pembesaran Mikroskop 100 kali)</p>
3	DFA 3	 <p data-bbox="746 1294 1190 1330">(Pembesaran Mikroskop 100 kali)</p>
4	DFA 4	 <p data-bbox="746 1877 1190 1912">(Pembesaran Mikroskop 100 kali)</p>

4.1.2 Karakteristik Khamir Asal Nipah (*Nypa fruticans*)

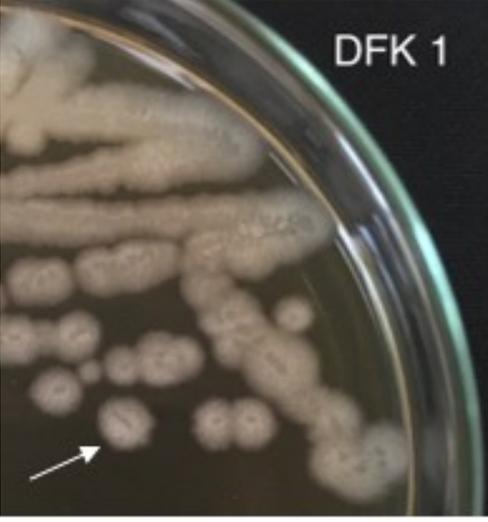
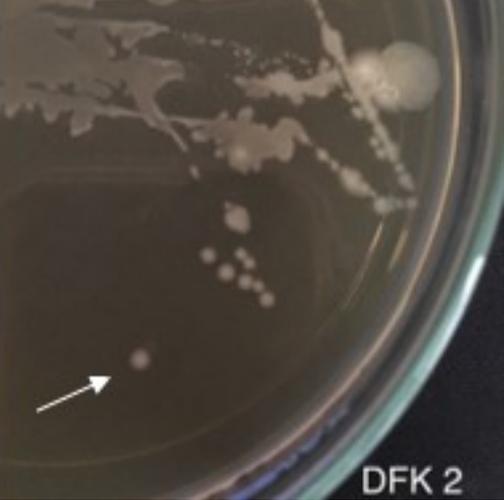
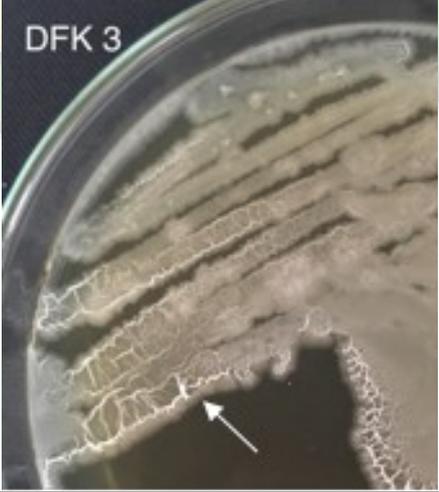
Khamir diperoleh sebanyak 4 isolat murni yang kembali diremajakan pada media MEA (*Malt Extract Agar*) dengan metode gores kuadran kemudian diinkubasi selama 24 – 48 jam. Dilakukan pengamatan morfologi koloni yang menunjukkan ciri morfologi masing-masing isolat seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.5 sebagai berikut:

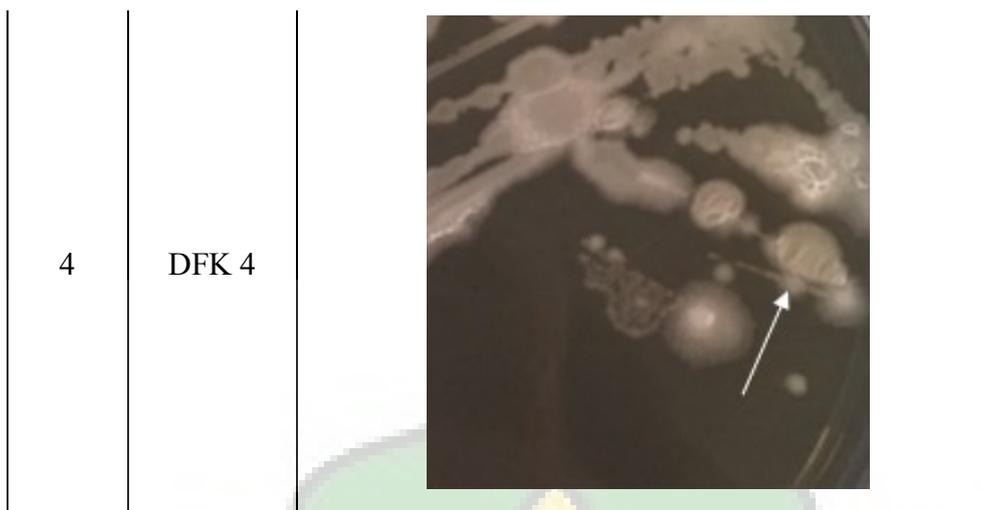
Tabel 4.5 Karakteristik isolat khamir asal Nipah (*Nypa fruticans*)

No	Kode Isolat	Tepian Koloni	Bentuk Koloni	Elevasi Koloni	Warna Koloni	Tekstur Permukaan
1.	DFK 1	Bergelombang	Bulat	Datar	Putih Kekuningan	Kapas
2.	DFK 2	Rata	Bulat	Datar	Krim	Padat
3.	DFK 3	Berlekuk	Tidak Beraturan	Datar	Putih Kekuningan	Keriput
4.	DFK 4	Bergelombang	Tidak Beraturan	Datar	Putih Kekuningan	Keriput

Morfologi koloni isolat dengan kode DFK 1 memiliki bentuk koloni yang bulat, pinggiran koloni bergelombang, elevasi koloni datar, berukuran sedang, berwarna putih kekuningan dan tekstur permukaan kapas. Isolat dengan kode DFK 2 memiliki bentuk koloni yang bulat, pinggiran koloni rata, elevasi koloni datar, berukuran kecil, berwarna krim dan tekstur permukaan padat. Isolat dengan kode DFK 3 memiliki bentuk koloni yang tidak beraturan, pinggiran koloni berlekuk, elevasi koloni datar, berukuran besar, berwarna putih kekuningan dan tekstur permukaan keriput. Sedangkan isolat dengan kode DFK 4 memiliki bentuk koloni yang tidak beraturan, pinggiran koloni bergelombang, elevasi koloni datar, berukuran sedang, berwarna putih kekuningan dan tekstur permukaan keriput.

Tabel 4.6 Morfologi koloni isolat khamir asal Nipah (*Nypa fruticans*)

No.	Kode Isolat	Gambar
1	DFK 1	
2	DFK 2	
3	DFK 3	



Selain itu, dilakukan pengamatan morfologi sel khamir dengan pewarnaan sederhana menggunakan larutan *methylene blue*, kemudian diamati dibawah mikroskop pada pembesaran 100 kali seperti yang tampak pada tabel 4.7 sebagai berikut:

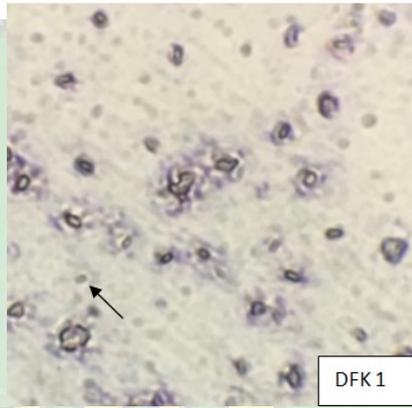
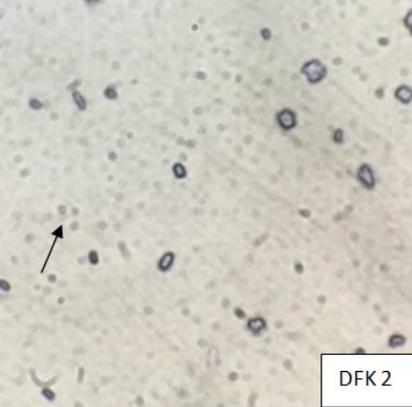
Tabel 4.7 Karakteristik sel isolat khamir asal Nipah (*Nypa fruticans*)

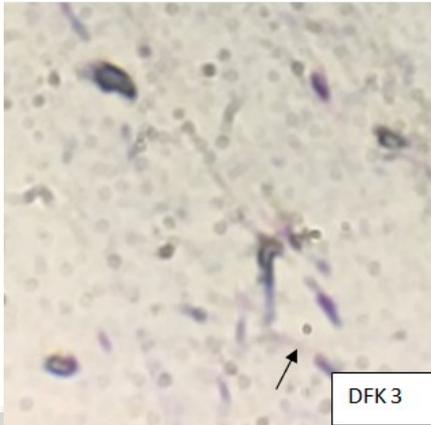
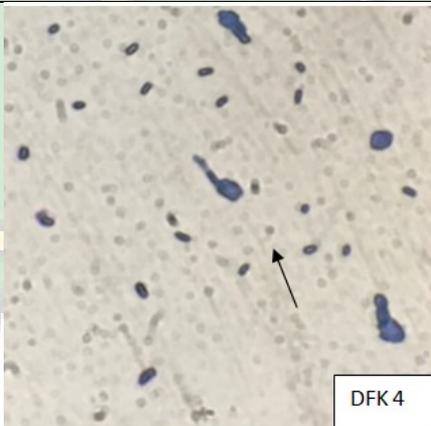
No	Kode	Bentuk Sel
1.	DFK 1	Bulat
2.	DFK 2	Bulat
3.	DFK 3	Bulat
4.	DFK 4	Bulat

Keseluruhan isolat DFK 1 sampai DFK 4 memiliki ciri dengan bentuk sel bulat. Tampak terdapat sel khamir yang mati dan hidup seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.8. Menurut Fugelsang dan Edwards (2007) pewarnaan sederhana dengan menggunakan *methylene blue* akan menyebabkan sel khamir yang hidup mereduksi *methylene blue* sehingga warna koloni khamir hidup memudar.

Sedangkan sel khamir yang mati akan mengoksidasi *methylene blue* sehingga warna koloni khamir mati berwarna biru sampai kehitaman.

Tabel 4.8 Morfologi sel isolat khamir asal Nipah (*Nypa fruticans*)

No.	Kode Isolat	Gambar
1	DFK 1	 <p data-bbox="735 1055 1177 1093">(Pembesaran Mikroskop 100 kali)</p>
2	DFK 2	 <p data-bbox="735 1561 1177 1599">(Pembesaran Mikroskop 100 kali)</p>

3	DFK 3	 <p data-bbox="735 689 1166 728">(Pembesaran Mikroskop 100 kali)</p>
4	DFK 4	 <p data-bbox="735 1265 1166 1303">(Pembesaran Mikroskop 100 kali)</p>

Pada penelitian yang dilakukan Risky *et al.*, (2019), yang berhasil memperoleh 4 isolat khamir hasil isolasi dari buah kersen (*Muntingia calabura*). Hal tersebut didukung oleh pernyataan Mahreni (2011) bahwa khamir banyak ditemukan di berbagai tempat terutama pada tumbuhan seperti buah-buahan, biji-bijian dan makanan yang mengandung gula. Oleh karena itu isolat khamir berhasil diisolasi dari buah – buahan seperti buah nipah (*Nypa fruticans*) maupun buah kersen (*Muntingia calabura*). Selanjutnya pada penelitian yang dilakukan Suryaningsih *et al.*, (2018), yang mengisolasi khamir dari jus buah sirsak (*Annona*

muricata L.) dengan ciri bentuk koloni khamir bulat, tepian rata, dengan warna putih hampir krem elevasi yang menonjol dan permukaan koloni khamir yang mengkilap.

4.1.3 Uji Aktivitas Sinergisme Isolat BAA dan Isolat Khamir Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*).

Uji aktivitas sinergisme dilakukan pada masing – masing isolat BAA dan isolat khamir dengan metode gores. Secara aseptis isolat digores bersinggungan sehingga goresan antar isolat saling bertemu. Isolat BAA dengan kode DFA 1 dan DFA 2 digoreskan pada 1 petri disk lalu masing - masing dipasangkan dengan isolat khamir DFK 1, DFK 2, DFK 3, DFK 4. Sedangkan pada petri disk lain digoreskan isolat BAA dengan kode DFA 3 dan DFA 4 lalu masing - masing dipasangkan dengan isolat khamir DFK 1, DFK 2, DFK 3, DFK 4. Setelah proses inokulasi, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam sehingga diketahui hasil pengujian pasangan isolat BAA dan khamir asal buah nipah (*Nypa fruticans*) seluruhnya saling bersinergi (kompatibel).

Tabel 4.9 Sinergi antar isolat bakteri asam asetat dan khamir asal Nipah (*Nypa fruticans*).

Isolat	DFA 1	DFA 2	DFA 3	DFA 4
DFK 1	+	+	+	+
DFK 2	+	+	+	+
DFK 3	+	+	+	+
DFK4	+	+	+	+

Keterangan :

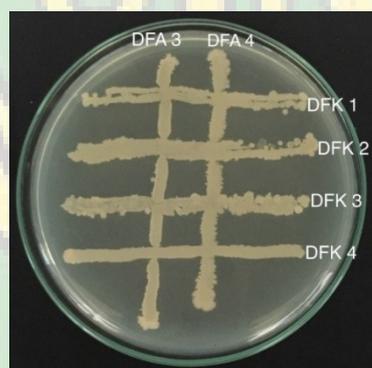
+ = Sinergis

- = Antagonis

Adapun hasil goresan yang saling bersinergi antara isolat BAA dan khamir dapat dilihat seperti pada gambar 4.1 dan gambar 4.2 sebagai berikut :



Gambar 4.1 Sinergi antar isolat DFA 1 dan DFA 2 dengan DFK 1, DFK 2, DFK 3 dan DFK 4.



Gambar 4.2 Sinergi antar isolat DFA 3 dan DFA 4 dengan DFK 1, DFK 2, DFK 3 dan DFK 4.

Tujuan dasar dari penelitian ini yaitu berupaya untuk pengembangan starter lokal kombucha. Oleh karena itu, setelah dilakukan serangkaian proses karakterisasi terhadap masing – masing isolat bakteri asam asetat dan khamir asal buah nipah, selanjutnya dilakukan uji aktivitas sinergisme antara keduanya. Suatu konsorsium dikatakan saling sinergis (kompatibel) apabila tidak terdapat zona hambatan pada daerah di bagian pertemuan goresan antara kedua isolat (Silitonga *et al.*, 2013). Tidak terdapat suatu zona hambat yang terbentuk, berarti kedua jenis

mikroorganisme (konsorsium) tersebut mempunyai hubungan yang tidak merugikan dan mutualistik. Siahaan *et al.*, (2013), menyatakan bahwa hal tersebut menunjukkan kerja enzim pada setiap mikroorganisme dapat saling mendukung dan melengkapi untuk bertahan hidup dengan sumber nutrisi yang terkandung didalam suatu media atau substrat.

Beberapa isolat yang berada pada suatu konsorsium akan berasosiasi menghasilkan produk yang lebih baik dari pada produk hasil dari isolat tunggal. Seperti halnya pada penelitian Yurliasni *et al.*, (2019), pada pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukannya diketahui bahwa aktivitas antioksidan meningkat diduga akibat terbentuknya asam-asam organik yang diproduksi oleh bakteri asam laktat dan khamir yang bersifat sinergis. Sehingga sesuai dengan pernyataan Siahaan *et al.*, (2013) diatas, bahwa produk yang dihasilkan oleh mikroorganisme pada suatu konsorsium akan lebih baik dari pada produk dari isolat tunggal apabila saling bersinergi. Isolat BAA dan isolat khamir asal buah nipah (*Nypa fruticans*) diketahui bersinergi sehingga interaksi yang terjadi ialah interaksi positif. Hal tersebut menunjang potensi isolat BAA dan isolat khamir asal buah nipah (*Nypa fruticans*) untuk dapat dijadikan starter lokal kombucha.

Deng dan Wang (2016), menyatakan bahwa mekanisme sinergisme antar isolat dalam konsorsium masih belum diketahui dengan pasti, namun beberapa penelitian menduga disebabkan karena beberapa faktor antara lain: (1) salah satu anggota genus mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh anggota genus yang lain, (2) salah satu anggota genus yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada anggota genus yang mampu menyediakan hasil degradasi bahan organik tersebut, (3) salah satu

anggota genus melindungi anggota genus lain yang sensitif terhadap bahan organik tertentu dengan menurunkan konsentrasi bahan organik yang bersifat toksik dengan cara memproduksi faktor protektif yang spesifik maupun non spesifik.

4.1.4 Uji Fermentasi Khamir Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*) Pada Karbohidrat.

Karakterisasi isolat khamir asal buah nipah (*Nypa fruticans*) pada penelitian ini dilakukan dengan menguji kemampuan isolat khamir dalam fermentasi sumber karbohidrat berupa glukosa, sukrosa dan laktosa. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat khamir DFK 1, DFK 2, DFK 3 dan DFK 4 merupakan khamir fermentatif pada jenis karbohidrat berupa glukosa. Pada jenis karbohidrat berupa sukrosa, isolat DFK 1, DFK 3 dan DFK 4 merupakan khamir fermentatif, sedangkan DFK 2 merupakan jenis fermentatif-oksidatif. Pada jenis karbohidrat berupa laktosa isolat DFK 1 dan DFK 2 merupakan jenis fermentatif-oksidatif, sedangkan DFK 3 dan DFK 4 merupakan jenis fermentatif, seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.10 berikut ini:

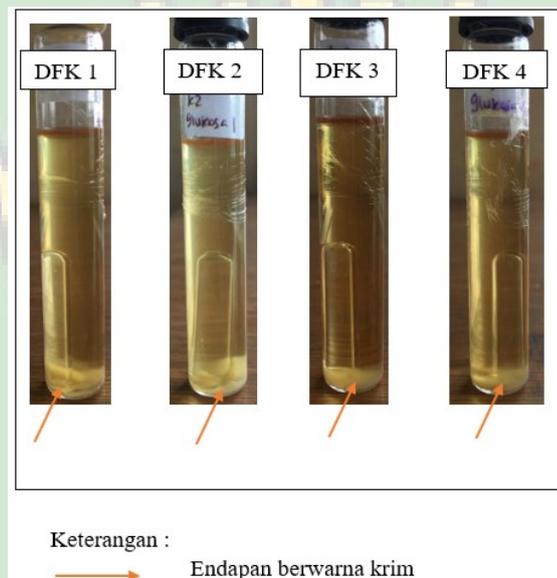
Tabel 4.10 Karakteristik khamir asal Nipah (*Nypa fruticans*) pada karbohidrat.

Kode Isolat	Uji Fermentasi Karbohidrat		
	Glukosa	Sukrosa	Laktosa
DFK 1	+	+	++
DFK 2	+	++	++
DFK 3	+	+	+
DFK 4	+	+	+

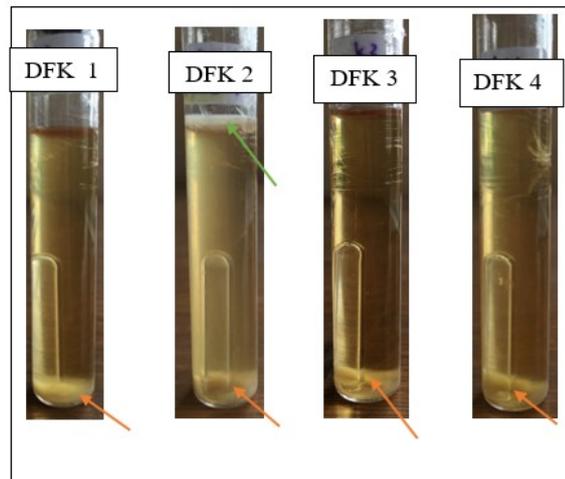
Keterangan :

- + = Di dasar media terdapat endapan berwarna krim dan media berwarna kuning jernih (fermentatif).
- ++ = Di dasar media terdapat sedikit endapan berwarna krim dan pada permukaan terdapat pelikel berwarna putih kekuningan (fermentatif-oksidatif).

Adapun hasil inkubasi yang menunjukkan terbentuknya endapan serta pelikel dapat dilihat pada gambar 4.3 sampai gambar 4.5 berikut ini :



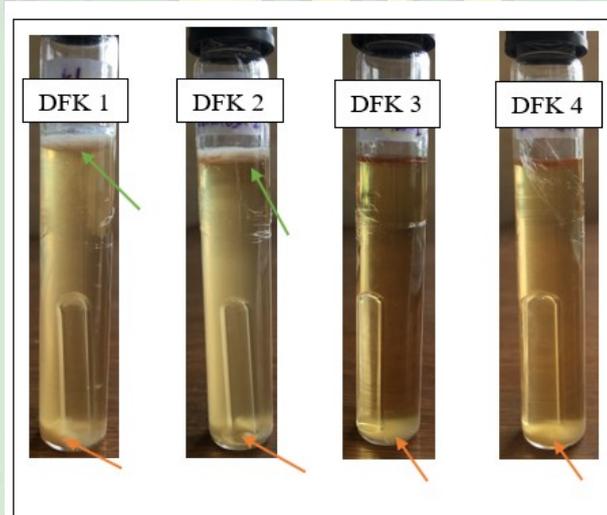
Gambar 4.3 Isolat khamir pada masa inkubasi 14 hari dalam media PDB yang telah ditambahkan karbohidrat jenis Glukosa.



Keterangan :

- Endapan berwarna krim
- Pelikel berwarna krim

Gambar 4.4 Isolat khamir pada masa inkubasi 14 hari dalam media PDB yang telah ditambahkan karbohidrat jenis Sukrosa.



Keterangan :

- Endapan berwarna krim
- Pelikel berwarna krim

Gambar 4.5 Isolat khamir pada masa inkubasi 14 hari dalam media PDB yang telah ditambahkan karbohidrat jenis Laktosa.

Karakterisasi isolat khamir dilakukan untuk mengetahui sifat metabolisme khamir yang berasal dari buah nipah (*Nypa fruticans*). Sari *et al.*, (2016),

menyatakan berdasarkan sifat metabolismenya khamir terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu fermentatif dan oksidatif. Menurut Jumiyati *et al* (2012) kelompok khamir fermentatif tumbuh di dasar media dan membentuk endapan. Sedangkan khamir oksidatif tumbuh sedikit pada dasar media membentuk sedimen dan lapisan (film) atau pelikel pada permukaan media.

Stanier *et al* (1963) menyatakan bahwa produk akhir dari fermentasi karbohidrat (gula) sangat beragam tergantung pada organisme yang terlibat, substrat yang difermentasi, enzim yang terlibat, dan faktor lingkungan. Menurut Fardiaz (1992), khamir dengan sifat fermentatif dapat memecah gula menjadi etanol dan gas. Jenis khamir fermentatif sering kali dijadikan agen fermentasi pada olahan produk pangan.

Pengujian ini menggunakan media PDB (*Potato Dextrose Broth*), sumber karbohidrat yang digunakan yaitu, glukosa, sukrosa dan laktosa dengan BCP (*Bromcresol Purple*) sebagai indikator. Isolat khamir diremajakan terlebih dahulu pada media PDB, lalu diinkubasikan selama 24 – 48 jam pada suhu 30°C. Selanjutnya, siapkan media PDB yang baru, setiap tabung reaksi yang berisi media PDB masing – masing sebanyak 9 ml lalu masukkan tabung durham kedalamnya. Kemudian disterilisasi dengan pemanasan basah menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Setelah itu, tambahkan larutan karbohidrat sebanyak 0,2 ml pada masing – masing tabung reaksi. Isolat khamir yang telah diremajakan berumur 24 – 48 jam diinokulasikan sebanyak 0,1 ml kedalam media tersebut lalu diinkubasi selama 7 – 14 hari pada suhu ruang. Pembacaan hasil positif pada pengujian dimulai dengan mengamati perubahan warna media dan tampak munculnya

gelembung pada tabung durham (Suryaningsih *et al.*, 2018). Perubahan warna pada hasil positif ditandai dengan media PDB yang memiliki warna dasar kuning lalu bercampur dengan larutan sumber karbohidrat dengan indikator BCP yang berwarna ungu menjadi kuning hingga jernih. Sedangkan hasil negatif dilihat dari tidak adanya perubahan warna medium (Ulfa *et al.*, 2016).

Semua isolat khamir yaitu DFK 1, DFK 2, DFK 3, dan DFK 4 memiliki hasil positif fermentatif pada sumber karbohidrat jenis glukosa. Tampak pada media yang berangsur – angsur semakin jernih, lalu terdapat endapan berwarna krim pada dasar media, namun tidak terdapat gelembung pada tabung durham. Hal tersebut terjadi mungkin dikarenakan setiap isolat memanfaatkan gula untuk pertumbuhan sel sebagai sumber karbon dan tidak dirubah menjadi ethanol (Sari *et al.*, 2016). Menurut Hartina (2014), sumber karbohidrat tidak semuanya dimanfaatkan oleh mikroba untuk pembuatan etanol akan tetapi ada sebagian gula yang digunakan untuk metabolisme intraseluler seperti sintesis enzim, DNA, dan sebagainya. Seperti yang dinyatakan oleh Stanier *et al* (1963) produk akhir dari fermentasi karbohidrat (gula) sangat beragam tergantung pada organisme yang terlibat, substrat yang difermentasi, enzim yang terlibat, dan faktor lingkungan.

Hasil uji pada sumber karbohidrat jenis sukrosa, isolat khamir DFK 1, DFK 3, dan DFK 4 positif fermentatif dengan ciri terdapat endapan berwarna krim pada dasar media, namun tidak terdapat gelembung pada tabung durham. Isolat khamir dengan kode DFK 2 merupakan khamir fermentatif – oksidatif karena terbentuk endapan pada dasar media serta terdapat suatu lapisan (film) pelikel pada permukaan media. Sedangkan pada sumber karbohidrat jenis laktosa, isolat DFK 3 dan DFK 4 positif fermentatif dengan ciri terdapat endapan

berwarna krim pada dasar media, namun tidak terdapat gelembung pada tabung Durham dan isolat dengan kode DFK 1 dan DFK 2 merupakan khamir fermentatif-oksidatif.

Pada penelitian Anggrayeni *et al.*, (2019) dinyatakan bahwa produksi asam organik dan hasil metabolisme sel khamir sangat berpengaruh terhadap endapan dan pelikel yang terbentuk. Banyak sedikitnya pelikel dan endapan yang terbentuk juga dipengaruhi oleh kemampuan isolat khamir dalam menghasilkan karbon dioksida sebagai bentuk pertumbuhannya pada kondisi anaerob. Menurut Fleischmann dan Sripuntanagon (2011), keberadaan khamir permukaan (*top yeast*) ditunjukkan dengan terbentuknya pelikel di atas permukaan media. Khamir permukaan merupakan khamir yang melepaskan karbon dioksida dengan cepat dan tumbuh dengan bergerombol sehingga sel terapung pada permukaan. Sedangkan khamir dasar (*bottom yeast*) keberadaannya ditunjukkan dengan terbentuknya endapan. Khamir dasar merupakan khamir yang pertumbuhannya terhambat, memproduksi karbon dioksida secara lambat dan tidak tumbuh bergerombol, sehingga sel-sel mengumpul di dasar tabung.

BAB V

PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolat bakteri asam asetat dan khamir asal buah nipah (*Nypa fruticans*) saling bersinergi.
2. Morfologi koloni isolat BAA, DFA 1 memiliki bentuk koloni bulat, tepian koloni yang rata, elevasi koloni cembung, ukuran titik dan berwarna krim. DFA 2 memiliki bentuk koloni tidak beraturan, tepian koloni yang berlekuk, elevasi koloni timbul, berukuran kecil dan berwarna krim. DFA 3 memiliki bentuk koloni tidak beraturan, tepian koloni yang berlekuk, elevasi koloni datar, berukuran kecil dan berwarna krim. DFA 4 memiliki bentuk koloni tidak beraturan, tepian koloni yang rata, elevasi koloni seperti tombol, berukuran kecil dan berwarna krim. Seluruh isolat BAA memiliki sifat Gram negatif dengan bentuk sel batang.
3. Morfologi koloni isolat khamir, DFK 1 memiliki bentuk koloni yang bulat, pinggiran koloni bergelombang, elevasi koloni datar, berukuran sedang, berwarna putih kekuningan dan tekstur permukaan kapas. DFK 2 memiliki bentuk koloni yang bulat, pinggiran koloni rata, elevasi koloni datar, berukuran kecil, berwarna krim dan tekstur permukaan padat. DFK 3 memiliki bentuk koloni yang tidak beraturan, pinggiran koloni berlekuk, elevasi koloni datar, berukuran besar, berwarna putih kekuningan dan tekstur permukaan keriput. DFK 4 memiliki bentuk koloni yang tidak

beraturan, pinggiran koloni bergelombang, elevasi koloni datar, berukuran sedang, berwarna putih kekuningan dan tekstur permukaan keriput. Seluruh isolat khamir memiliki bentuk sel bulat dan setelah dilakukan pewarnaan sederhana dengan *methylene blue* tampak terdapat sel yang mati dan hidup.

4. Isolat khamir DFK 1, DFK 2, DFK 3 dan DFK 4 merupakan khamir fermentatif pada jenis karbohidrat berupa glukosa. Pada jenis karbohidrat berupa sukrosa, isolat DFK 1, DFK 3 dan DFK 4 merupakan khamir fermentatif, sedangkan DFK 2 merupakan jenis fermentatif-oksidatif. Pada jenis karbohidrat berupa laktosa isolat DFK 1 dan DFK 2 merupakan jenis fermentatif-oksidatif, sedangkan DFK 3 dan DFK 4 merupakan jenis fermentatif.

5.2 Saran

Perlu untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terkait identifikasi isolat bakteri asam asetat dan khamir sampai tingkat genus dan spesies. Kemudian juga diperlukan pengujian lanjutan untuk mengaplikasikan isolat bakteri asam asetat dan khamir pada teh lalu difermentasi sehingga dapat diketahui potensi dalam terbentuk atau tidaknya selulosa.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi, Popo Mogana. 2018. Sinergisme Bakteri Selulolitik Berbasis Limbah Jagung Sebagai Bioaktivator Pakan Berserat. *Skripsi*. Prodi Peternakan. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Anggrayeni, Yesti Tri., Wijanarka dan Endang Kusdiyantini. 2019. Isolasi dan Identifikasi Morfologi serta Biokimia Khamir Hasil Isolasi dari Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum*) yang Berpotensi menghasilkan Bioetanol. *Jurnal Bioma*. Vol. 21 (1): 16-24.
- Asri, Anindya Citra dan Enny Zulaika. 2016. Sinergisme Antar Isolat *Azotobacter* Yang Dikonsorsiumkan. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. Vol. 5 (2).
- Astri, Yuli. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Nira Nipah (*Nypa Fruticans*) Terfermentasi. *Skripsi*. Fakultas Biologi Universitas Medan Area. Medan.
- Atlas, R.M. and R. Bartha. 1998. *Microbial Ecology Fundamentals and Applications*. California: Benjamin Cummings Publishing Company Inc.
- Bailey, M. J., A. K. Lilley., T. M. Timms-Wilson. and T. M. Spencer Phillips. 2006. *Microbial Ecology Of Aerial Plant Surface*, United Kingdom : CAB International.
- Deng, Y. and S. Y. Wang. 2016. Synergistic Growth In Bacteria Depends On Substrate Complexity. *J Microbiol*. Vol. 54 (1): 23-30.
- Fajriyah, Yuly Diyan Nur. 2015. Pengaruh Kombucha Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Serta Pemanfaatannya Sebagai Buku Non-Teks. *Skripsi*. Prodi

Pendidikan Biologi. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan. Universitas Jember.

Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Fikania, Deska. 2016. Pengaruh Perbandingan Buah Nanas Madu Dengan Sukrosa dan Suhu Inkubasi Terhadap Karakteristik Starter Alami Nanas Madu (*Ananas comosus* L). *Skripsi*. Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan: Bandung.

Fitri, Lenni dan Yekki Yasmin. 2011. Isolasi Dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi*. Vol. 3 (2): 20-25.

Fleischmann .J. and E.M. Sripuntanagoon. 2011. Pellicle Associated Adherence Film above Incubation Broth Surface-An Inexpensive Adjunct to Recognizing *Candida krusei* in the laboratory: California. *BMC Research Notes*. 4:74.

Fugelsang, K.C., dan Edwards, C.G. 2007. *Wine Microbiology : Practical Applications and Procedures*, Second Edition: Springer Science.

Harahap, Nurmahni. 2010. Studi Etnobotani Nipah (*Nypa fruticans* wurmb.) Di Kabupaten Aceh Barat (ISSN 2086 – 1397). Vol. 1 (1).

Hartanto, Windy. 2015. *Rainbow After Cancer*. Jakarta: Kawan Pustaka.

Hartina, F., Jannah, A., dan Maunatin, A. 2014. Fermentasi Tetes Tebu Dari Pabrik Gula Pagotan Madiun Menggunakan *Sacchaaromyces cerevisiae* untuk Menghasilkan Bioetanol Dengan Variasi Ph Dan Lama Fermentasi. *Alchemy*. Vol. 3 (1): 93-100.

- Hidayat, Nur., dkk. 2018. *Mikroorganisme dan pemanfaatannya*. Malang: UB Press.
- Hidayat, Nur., dkk. 2018. *Mikrobiologi industri pertanian*. Malang: UB Press.
- Jaelani. 2008. *Jamur berkhasiat obat*. Jakarta: Obor Populer.
- Jumiyati, Bintari, S.H, dan Mubarak, I. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Khamir Secara Morfologi Di Tanah Kebun Wisata Pendidikan Universitas Negeri Semarang. *Biosantifika*. Vol. 4 (2)
- Khalil dan T. Hidayat. 2006. Potensi Buah Nipah Tua (*Nypa Fruticans Wurmb*) Sebagai Bahan Pakan Ternak. *Jurnal Peternakan Indonesia*. Vol. 11 (2): 124.
- Kusnadi, Joni. 2018. *Pengawet Alami Untuk Makanan*. Malang: UB Press.
- Lempang, Mody. 2013. Produksi Nata Fruticans Dari Nira Nipah. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. Vol. 31. (2): 110-119.
- Machmud, Muhammad. 2001. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. *Buletin Agro Bio*. Vol. 4 (1): 25.
- Mahreni, Suhenry, S. 2011. *Kinetika Pertumbuhan Sel Saccharomyces cerevisiae dalam Media Tepung Kulit Pisang*. Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Yogyakarta: Yogyakarta.
- Nainggolan, Jusman. 2009. Kajian Pertumbuhan Bakteri *Acetobacter sp.* Dalam Kombucha – Rosela Merah (*Hibiscus subdariffa*) Pada Kadar Gula Dan Lama Fermentasi Yang Berbeda. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana USU. Medan.

- Naland, Henry. 2008. *Kombucha; The Dengan Seribu Khasiat*. Jakarta: Agromedia.
- Piryadi, Triono Untung. 2013. *Bisnis Jamur Tiram*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Putri, Moca Faulina., Mades Fifendy Dan Dwi Hilda Putri. 2018. Diversitas Bakteri Endofit Pada Daun Muda Dan Tua Tumbuhan Andaleh (*Morus Macroura* miq.). *Jurnal Eksakta*. Vol. 19 (1): 125.
- Risky, Fitri Ulfana., Wijanarka dan Sri Pujiyanto. 2019. Isolasi Khamir Penghasil Enzim Inulinase Dari Buah Kersen (*Muntingia calabura*) Serta Pengaruh Mikronutrien Mangan (Mn) Pada Produksi Enzimnya. *NICHE Journal of Tropical Biology*. Vol. 2 (2): 27-37.
- Sari, Dwi Yanuar Rakhma., Triono Bagus Saputro dan Anton Muhibuddin. 2016. Uji Potensi Fermentasi Etanol Yeast Tanah yang Diisolasi dari Metode Budidaya SDN di Daerah Batu, Jawa Timur. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*. Vol. 5 (2): 39.
- Siahaan, S., M. Hutapea, dan R. Hasibuan. 2013. Penentuan Kondisi Optimum Suhu Dan Waktu Karbonasi Pada Pembuatan Arang Dari Sekam Padi. *Jurnal Teknik Kimia USU*. Vol. 2 (1).
- Silitonga, D. M., N. Priyani dan I. Nurwahyuni. 2013. Isolasi dan Uji Potensi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat dan Bakteri Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) Terhadap Pertumbuhan Kedelai (*Glycine max* L.) Pada Tanah Kuning. *Jurnal Sainia Biologi*. Vol. 1 (2).
- Stanier Ry, Doudoroff M, Adelberg Ea. 1963. *The Microbial World (2nd Ed)*. Englewood Cliffs, Nj: Prentice-Hall.

- Suhardini, Prasis Nursyam, dan Elok Zubaidah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha Dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. Vol. 4 (1): 221-229.
- Sulaiman, L.O.M.I. 2017. Potensi Bakteri Asam Asetat Dari Limbah Nenas Sebagai Penghasil Bioselulosa Menggunakan Substrat Limbah Cair Sagu. *Skripsi*. Kendari: MIPA Biologi Universitas Halu Oleo.
- Suprapti, M. Lies. 2005. *Badeg dan Anggur Jambu Mete*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suryaningsih, Vivi., Rejeki Siti Ferniah., Endang Kusdiyantini. 2018. Karakteristik Morfologi, Biokimia, Dan Molekuler Isolat Khamir Ik-2 Hasil Isolasi Dari Jus Buah Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Biologi*, Vol 7 (1): 18-25.
- Sussman, Lisa. 2014. *Green Smoothie Cleanse Detox; Lose Weight and Restore Your Helath With The World's Most Powerful Superfoods*. US: Ulysses Press.
- Thompson, I. P., C. J. V. D. Gast., L. Ciric, and A. C. Singer. 2005. *Bioaugmentation For Bioremediation The Challenge Of Strain Selection*. Envi. Microbiology.
- Trisna dan Wahud N. 2012. Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Pemberian Probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Dadih dari Kabupaten Sijunjung Terhadap Kadar Kolestrol Daging pada Itik Pitalah Sumber Daya Genetic Sumatra Barat. *Artikel*. Universitas Andalas. Padang.
- Ulfa, Atiqa., Endang Suarsini dan Mimien Henie Irawati Al Muhdhar. 2016. Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri Pada Bakteri Dari Limbah

Penambangan Emas Di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan. *Proceeding Biology Education Conference* (ISSN: 2528-5742). Vol. 13 (1): 793-799.

Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang : UMM Press

Warisno dan K. Dahana. 2009. *Inspirasi Usaha Membuat Aneka Nata*. Jakarta: Agromedia Pustaka.

Widiastutik, N., dan Alami, N.H. 2014. Isolasi dan Identifikasi Yeast dari Rhizosfer *Rhizophora mucronata* Wonorejo. *J. Sains dan Seni Pomits*. Vol. 3 (1).

Wignyanto dan N. Hidayat. 2017. *Bioindustri*. Malang: UB Press.

Williams, W. S and R.E Cannon. 1989. *Alternative Environmental Roles For Cellulose Produced By Acetobacter xylinum*. Applied And Environmental Microbiology. American Society For Microbiology.

Wistiana, Duwi dan Elok Zubaidah. 2015. Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha Dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3 (4): 1446-1457.

Yeni, Laili Fitri., Adi Hidayat, Dan Reni Marlina. 2011. Isolasi dan Aktivitas Fermentasi Bakteri Asam Asetat Pada Nira Nipah (*Nypa fructicans*). *Jurnal Pendidikan Matematika adn IPA*. Vol. 2 (1).

Yurliasni., Zuraida Hanum dan Ridha Hikmawan. 2019. Potensi Madu Dalam Meningkatkan Kualitas Minuman Kefir. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*. Vol. 14 (1): 56.

- Yusmarini, Pato U. dan Vonny, S. 2004. Pengaruh Pemberian Beberapa Jenis Gula dan Sumber Nitrogen terhadap Produksi Nata de Pina. *SAGU*. Vol. 3(1): 20-27.
- Zhang, Z. 2003. *Mutualism or Cooperation Among Competitors Promote Coexistence and Competitive Ability*. *Ecological Modelling*. 164: 271-28.



LAMPIRAN 1

Surat Keterangan Pembimbing Skripsi

SURAT KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH
Nomor: B- 102/Un.08/FST/KP.07.6/05/2019

TENTANG

PENETAPAN PEMBIMBING MAHASISWA FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH

DEKAN FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UIN AR-RANIRY BANDA ACEH

- Menimbang : a. bahwa untuk kelancaran bimbingan skripsi mahasiswa pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry, maka dipandang perlu menunjuk pembimbing dimaksud;
b. bahwa yang namanya tersebut dalam Surat Keputusan ini dianggap cakap dan mampu untuk ditetapkan sebagai pembimbing skripsi mahasiswa.
- Mengingat : 1. Undang-undang Nomor 20 Tahun 2003, tentang Sistem Pendidikan Nasional;
2. Undang-undang Nomor 14 Tahun 2005, tentang Guru dan Dosen;
3. Undang-undang Nomor 12 Tahun 2012, tentang Pendidikan Tinggi;
4. Peraturan Pemerintah Nomor 74 Tahun 2012, tentang Perubahan Peraturan Pemerintah RI No. 23 Tahun 2005 tentang Pengelolaan Keuangan Badan Layanan Umum;
5. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014, tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
6. Peraturan Presiden RI Nomor 64 Tahun 2013, tentang Perubahan IAIN Ar-Raniry Banda Aceh Menjadi UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
7. Peraturan Menteri Agama RI Nomor 12 Tahun 2014, tentang Organisasi dan Tata Kerja UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
8. Peraturan Menteri Republik Indonesia No.21 Tahun 2015, tentang Statuta UIN Ar- Raniry;
9. Keputusan Menteri Agama No.492 Tahun 2003, tentang Pendeklarasian Wewenang Pengangkatan, Pemindahan, dan Pemberhentian PNS di Lingkungan Departemen Agama Republik Indonesia;
10. Surat Keputusan Rektor UIN Ar- Raniry Banda Aceh Nomor 01 Tahun 2018 tentang Satuan Biaya Khusus Tahun Anggaran 2015 di Lingkungan UIN Ar- Raniry Banda Aceh ;
11. Surat Keputusan Rektor UIN Ar- Raniry Nomor 1206 Tahun 2018, tentang mengangkat Dekan Fakultas, Wakil Dekan Fakultas, Direktur Pascasarjana, dan Wakil Direktur Pascasarjana UIN AR- Raniry Banda Aceh;
- Memperhatikan : Keputusan Sidang/Seminar Proposal/ Skripsi Program Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh tanggal 12 April 2019.
- MEMUTUSKAN**
- Menetapkan :
Pertama : Menunjuk Saudara:
1. **Arif Sardi, M. Si** Sebagai Pembimbing Pertama
2. **Diannita Harahap, M. Si** Sebagai Pembimbing Kedua
- Untuk membimbing Skripsi:
Nama : **Febby Yolanda Wulandari**
NIM : **150703049**
Prodi : **Biologi**
Judul Skripsi : **Aktifitas Sinergisme dan Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Asetat dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fructicans*) dalam Upaya Pengembangan Starter Lokal Kombucha**
- Kedua : Pembiayaan honorarium Pembimbing pertama dan kedua tersebut di atas dibebankan pada DIPA UIN Ar-Raniry Banda Aceh;
Ketiga : Surat Keputusan ini berlaku sampai akhir Semester Genap Tahun Akademik 2019/2020;
Keempat : Surat Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan dengan ketentuan bahwa segala sesuatu akan diubah dan diperbaiki kembali sebagaimana mestinya, apabila kemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini.

Ditetapkan di: Banda Aceh
Pada Tanggal: 2 Mei 2019

An. Rektor
Dekan,


Azhar Amsal

LAMPIRAN 2

Surat Izin Penelitian



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY BANDA ACEH
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Sycikh Abdurrauf Kopelma Darussalam Banda Aceh
Telp: (0651) 7552921 - Fax: (0651) 7552922 - Email: fst@arraniry.ac.id

Nomor : B- 1332 /Un.08/FST/TL.00/ 07 /2019
Lamp : -
Hal : Mohon Izin Untuk Penelitian

Kepada Yth.
Kepala UPTD Balai Laboratorium Kesehatan dan Uji Alat Kesehatan Dinas Kesehatan Aceh

di -
Banda Aceh

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh dengan ini memohon kiranya saudara memberi izin dan bantuan kepada:

N a m a : FEBBY YOLANDA WULANDARI
N I M : 150703049
Prodi / Jurusan : Biologi
Semester : VIII
Fakultas : Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh
A l a m a t : Gampong Lamjame, Kec. Jaya Baru, Banda Aceh

Untuk mengumpulkan data pada:

UPTD Balai Laboratorium Kesehatan dan Uji Alat Kesehatan Dinas Kesehatan Aceh

Dalam rangka menyusun Skripsi Sarjana Strata Satu (S1) sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh yang berjudul:

Aktivitas Sinergisme dan Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Asetat dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (Nypa Fruticans) Dalam Upaya Pengembangan Starter Lokal Kombucha

Demikianlah harapan kami atas bantuan dan keizinan serta kerja sama yang baik kami ucapkan terima kasih

Banda Aceh, 31 Juli 2019

An. Dekan
Wakil Dekan Bidang Akademik dan
Kelembagaan.
Shajirah Syahabuddin

Kode: 1022

LAMPIRAN 3

Surat Keterangan Selesai Melakukan Penelitian

PEMERINTAH ACEH
DINAS KESEHATAN
UPTD BALAI LABORATORIUM KESEHATAN DAN
PENGUJIAN ALAT KESEHATAN

Jl. Tgk. H. Mohd.Daud Beureueh No. 168 Telp.(0651) 23834 Fax (0651) 23834 Banda Aceh
Email: labkes_aceh@yahoo.com Website: http://labkes-aceh.blogspot.com



Komite Akreditasi Nasional
LM-012-IDN



Nomor : 445.5/ 272 /BLK/IX/2019 Banda Aceh, 24 September 2019 M
Lampiran : 1 (satu) eks 24 Muharram 1440 H
Sifat : -
Hal : Selesai Melakukan Penelitian

Kepada Yth,
Dekan Fakultas Sain dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry
di
Banda Aceh

Sehubungan surat saudara Nomor :B- 1332/Un.08/FST/TL.00/ 07 /2019 Tanggal 31 Juli 2019 Perihal izin Melakukan Penelitian di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan dan Pengujian Alat Kesehatan, Dinas Kesehatan Aceh. Maka kami menyatakan bahwa mahasiswa yang namanya dibawah ini :

No	Nama	NIM	Judul Skripsi
1	Febby Yolanda Wulandari	150703049	Aktivitas Sinergisme dan Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Asetat dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (Nypa Fruticans) Dalam Upaya Pengembangan Starter Lokal Kombucha.

Telah selesai melakukan Penelitian di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan dan Pengujian Alat Kesehatan untuk keperluan Skripsi dengan judul tersebut di atas.

Demikian kami sampaikan, atas kerjasamanya kami ucapkan terimakasih.

Kepala SubBag Tata Usaha,

Sabri, S.Si, M.Kes
NIP. 19620714 198603 1 005

LAMPIRAN 4

Dokumentasi Kegiatan Penelitian

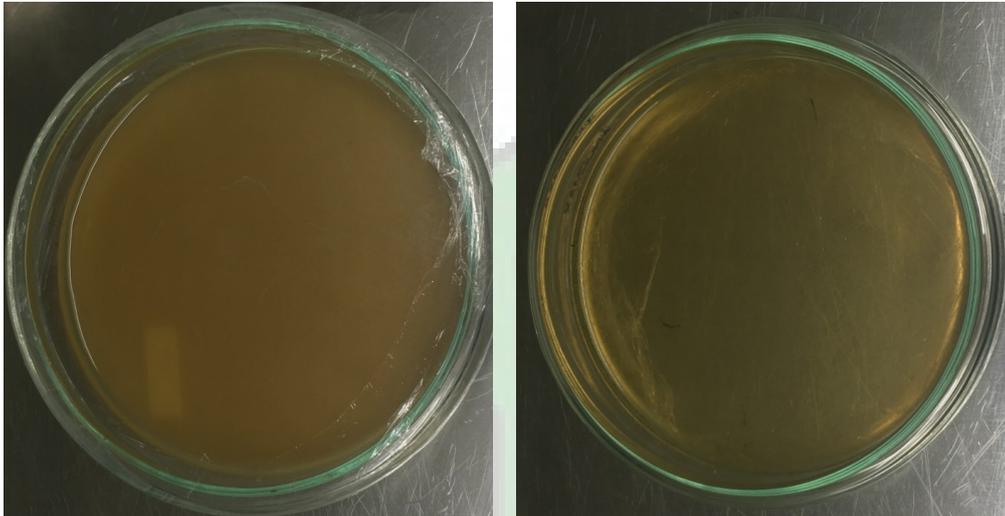
1. Peremajaan Isolat Bakteri Asam Asetat dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*).



2. Inkubasi Isolat Bakteri Asam Asetat dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*).



3. Media pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Asetat Dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*).



a.

b.

Keterangan : a. Media GYC

b. Media MEA

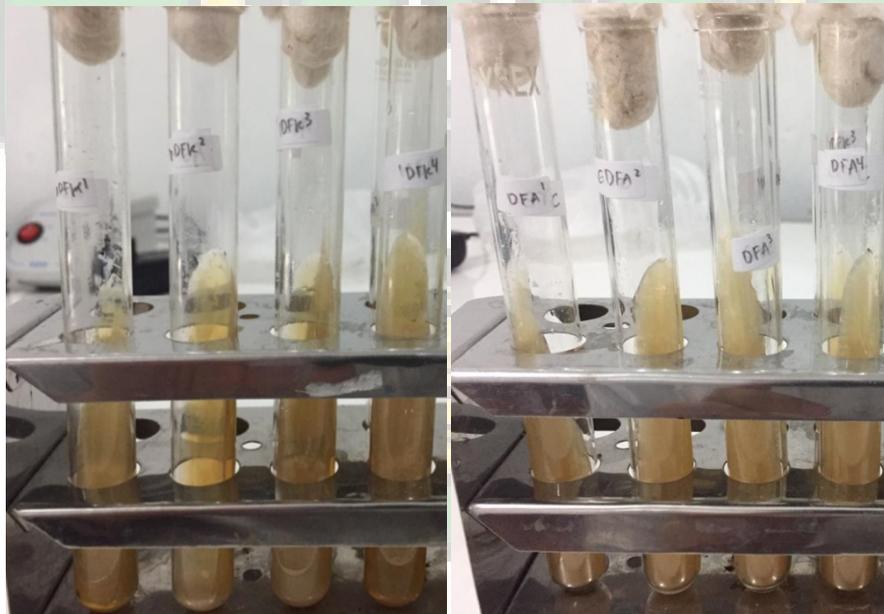
4. Alat dan Bahan Pada Uji Aktivitas Sinergisme Isolat Bakteri Asam Asetat dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*).



5. Larutan Pewarnaan Isolat Bakteri Asam Asetat dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*).



6. Isolat Bakteri Asam Asetat dan Khamir Fermentatif Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*) pada Tabung Reaksi dalam bentuk Agar Miring.



a.

b.

Keterangan : a. Isolat Khamir

b. Isolat Bakteri Asam Asetat

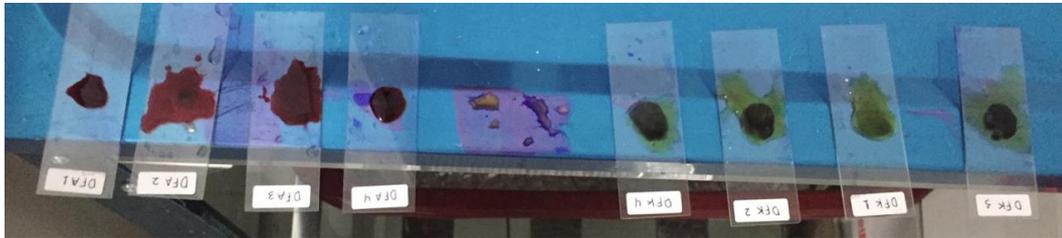
7. Proses Fiksasi Pada Tahap Pewarnaan Isolat



8. Proses Meneteskan Larutan Warna pada Isolat



9. Tahap Akhir Pada Proses Pewarnaan



a.

b.

Keterangan : a. Pewarnaan Gram pada isolat BAA

b. Pewarnaan Sederhana pada isolat Khamir

10. Larutan Karbohidrat Menggunakan Indikator BCP



a.

b.

c.

Keterangan : a. Glukosa

b. Sukrosa

c. Laktosa

11. Pengujian Khamir Fermentatif pada 3 jenis Karbohidrat yang Berbeda.



a.

b.



c.

d.

Keterangan :

- a. Isolat DFK 1 yang telah diinokulasikan pada media PDB yang telah ditambahkan masing – masing 3 jenis karbohidrat yang berbeda.
- b. Isolat DFK 2 yang telah diinokulasikan pada media PDB yang telah ditambahkan masing – masing 3 jenis karbohidrat yang berbeda.
- c. Isolat DFK 3 yang telah diinokulasikan pada media PDB yang telah ditambahkan masing – masing 3 jenis karbohidrat yang berbeda.
- d. Isolat DFK 4 yang telah diinokulasikan pada media PDB yang telah ditambahkan masing – masing 3 jenis karbohidrat yang berbeda.