

**SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI JAMUR DARI ISOLAT  
MINUMAN FERMENTASI TUAH TERHADAP *Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Oleh :  
Melda Putri  
066119007**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PAKUAN  
BOGOR  
2023**

**SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI JAMUR DARI ISOLAT  
MINUMAN FERMENTASI TUAK TERHADAP *Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**

**Skripsi Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Farmasi Pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika Dan  
Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor**

**Oleh:**

**Melda Putri**

**066119007**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PAKUAN  
BOGOR  
2023**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**Judul** : **Skrining Aktivitas Antibakteri Jamur Dari Isolat Minuman Fermentasi Tuak Terhadap *Escherichia coli* Dan *Satphylococcus aureus***

**Nama** : **Melda Putri**

**NPM** : **066119007**

**Program Studi** : **Farmasi**

**Skripsi ini telah disetujui dan disahkan**

**Bogor, Oktober 2023**

**Menyetujui**

**Pembimbing Pendamping**

**Nilam Fadmaulidha Wulandari, Ph.D.**

**Pembimbing Utama**

**Fitria Dewi Sulistiyono, M.Si.**

**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi Farmasi**

**apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.**

**Dekan FMIPA UNPAK**

**Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.**

**PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS**

Dengan ini saya menyelesaikan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapatkan gelar sarjana di perguruan tinggi atau lembaga lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila dikemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, Oktober 2023



Melda Putri

**PERNYATAAN MENGENAI TUGAS AKHIR DAN SUMBER  
INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Nama : Melda Putri

NPM : 066119007

Judul : SKRINING AKTIVITAS ANTIBAKTERI JAMUR DARI ISOLAT  
MINUMAN FERMENTASI TUAH TERHADAP *Escherichia coli* DAN  
*Staphylococcus aureus*

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir diatas adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam bentuk teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir dari tugas akhir ini. Dengan ini saya, melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Oktober 2023



Melda Putri

066119007

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrohim

Q.S Al-Baqarah: 286 "Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Dia mendapat (Pahala) dari (Kebajikan) yang dikerjakannya dan dia mendapat (siksa) dari (kejahatan) yang diperbuatnya"

Tiada lembar skripsi yang paling indah dalam laporan skripsi ini kecuali lembar persembahan. Alhamdulillahirabbil'alamin, dengan rasa syukur ucapan terimakasih skripsi ini saya persembahkan untuk:

Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, berkah dan karunia-Nya serta memberikan kelancaran dalam penyusunan skripsi ini sehingga skripsi ini dapat diselesaikan sesuai dengan waktu yang diharapkan.

Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan syafaat dan menjadi suri tauladan bagi para umatnya.

Dua orang yang paling berjasa dihidup saya yaitu orangtua tersayang ibunda Hj.Zaifiati seseorang wanita tercantik, tertulis didunia dan ayah H.Darussalam seseorang yang darahnya mengalir dalam tubuh saya, cinta pertama saya yang telah sabar dan bangga membesarkan putri bungsunya serta yang selalu melangitkan doa-doa baik dan menjadikan motivasi saya dalam menyelesaikan skripsian ini dengan sangat ambis. Terimakasih atas kepercayaan yang telah diberikan atas izin merantau dari kalian serta pengorbanan, cinta, semangat, nasihat dan terimakasih sudah mengantarkan saya sampai ditempat ini, saya persembahkan karya tulis sederhana ini dan gelar sarjana Farmasi ini untuk ayah dan ibu. Alhamdulillah anak ayah dan ibu bisa mendapatkan gelar sarjana Farmasi diatas keraguan-keraguan yang pernah hadir. Selalu memegang kuat nasehat ibu " jika kita menginginkan sesuatu berusaha serta berdo'a lah setelah itu berserah diri dan yakin, jika Allah berkehendak semua akan diberi jalan dan kelancaran" dan terbukti. Semoga ayah dan ibu sehat selalu agar bisa menyaksikan pencapaian-pencapaian selanjutnya. Aamiin.

Keluarga terkasih, bang Eka Adi Putra, bang Alfian Hadi, kak Dina Nurul Fitri, kak Yelni Sugiarti, kak Zubaidah, bang Azwar, terimakasih sudah menjadi saudara terbaik yang selalu menjadi tempat pulang ternyaman dengan memberikan

dukungan, perhatian dan menemani si bungsu dalam menyelesaikan studi sebagai harapan terakhir keluarga, selalu meyakini bahwa saya bisa menyelesaikan studi ini dengan baik sampai akhirnya bisa membaca pesan singkat “Abang dan akak bangga dut”, Keponakan Acik tersayang M.Irfan Pratama, Viola Aqila, Beryl Alfarizky, Alfida Arsyilla dan Qiana Hafsyah Malayeka, terimakasih sudah menjadi penyemangat acik dalam menggapai cita-cita acik karna acik ingin menjadi panutan yang baik untuk kalian, semoga kalian bisa lebih hebat dan sukses dari acik. Keluarga besar H.Zainuddin, Hj.Juriyah dan keluarga besar H.Harun dan Hj.Zainab Terimakasih atas do’a dan dukungan yang senantiasa selalu diberikan kepada saya dalam bentuk apapun itu.

Kedua Pembimbing saya ibu Fitria Dewi Sulistiyono,M.Si dan ibu Nilam Fadmaulidha Wulandari, Ph.D. terimakasih untuk bimbingan, saran, nasihat, bantuan serta semangat yang telah diberikan selama penyusunan skripsi ini, semoga segala kebaikan ibu dibalas oleh Allah swt.

Seseorang yang sudah saya anggap seperti saudara saya sendiri dan ucapan selamat atas gelar yang sudah ada di belakang namanya pada NPM 066119010 yaitu Siti Zahara Savira, S.Farm, trimakasih atas segala kebaikan, kasih sayang, perhatian, support dan ketulusan yang sudah membersamai akak selama di perantauan. Terimakasih telah menjadi bagian dari perjalanan akak hingga sekarang ini, perjalanan ini penuh suka dan duka yang semoga bisa membuat kita menjadi pribadi yang lebih baik lagi. Banyak maaf dan terimakasih atas kurang dan lebihnya diri akak, hanya Allah yang dapat membalas semua apa yang sudah adek berikan selama ini kepada akak.

Orang-orang tersayang yang sudah hadir dimasa sekolah dan kuliah saya yaitu Adinda Elsam Nurbaeti, Rahni Sulaikania, Angelia Puspitasari, Ibitza Zema Maharda, Selfy Puji Rahmasari, Elih Febriyani, Eka Saputra, Fauzan Amirul Haq, Feku Arjuandi Putra, Fitri Diana Musa dan B-7 (bestie MAN) Tika Desliana, Denada Ababil, Latifatul Husna, Sherly Monica, Tika Desri Yulia, Syahwani Putri, Jimmy Lukita dan Abdul Hafiz mhs. Terimakasih sudah mengulurkan tangan bantuan pada setiap tahapan proses dimana saya melalui kesulitan-kesulitan yang sudah dilalui dan selalu merayakan disetiap moment penting dalam hidup ini.

Terimakasih yang tak henti-hentinya juga kepada ayuk Melda hariyani dan bang Hexy yang sudah menjadi tempat pulang selama di Bogor, terimakasih ayuk sudah menerima baik saya, yang sudah saya anggap sebagai kakak sendiri. Tidak bisa diungkapkan dengan kata-kata segala kebaikan ayuk dan abang selama saya di Bogor, hanya Allah lah yang akan membalas kebaikan ayuk dan abang kepada saya. Tak lupa juga rekan-rekan seperjuangan Farmasi AB angkatan 2019 yang tidak bisa disebutkan satu persatu semoga kita bisa menjadi seorang Farmasis yang hebat serta teman-teman lembaga Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA yang sudah mensupport, mendengarkan keluh kesah, menemani, meluangkan waktunya mendukung ataupun menghibur kesedihan dan memberi semangat.

Musisi Tanah Air berkat lagu-lagu indah nya Nadin Amizah, Tulus, Dewa-19, Vierratale, Yura Yunita, Sal Priadi, Hindia, Raisa, Idgitaf yang menemani penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Last but not least, Diri saya sendiri Melda Putri seorang anak bungsu dan adik dari 4 bersaudara yang terkenal cengeng dan manja. Terimakasih karena telah mampu berusaha, kuat tinggal diperantauan dan berjuang sejauh ini mampu mengendalikan diri walaupun banyak tekanan dari luar keadaan. Tidak pernah memutuskan untuk menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini dengan menyelesaikan dengan sebaik dan semaksimal mungkin, ini merupakan pencapaian yang patut di banggakan untuk diri sendiri. Semoga tetap rendah hati, karena ini baru awal dari segalanya.

Saya menyadari bahwa hasil karya skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, tetapi saya harap dapat memberikan manfaat bagi ilmu dan pengetahuan bagi para pembaca.

Bogor, 22 Oktober 2023

Penulis,

Melda Putri

## KATA PENGANTAR

Segala puja dan puji syukur yang penulis ucapkan kepada Allah SWT. atas berkat dan hidayah-Nya Alhamdulillah penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul **“Skrining Aktivitas Antibakteri Jamur Dari Isolat Minuman Fermentasi Tuak Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*”**. Skripsi ini digunakan sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi di program studi farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak mungkin akan terwujud apabila tidak ada bantuan dari berbagai pihak, melalui kesempatan ini izinkan penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar -besarnya kepada:

1. Fitria Dewi Sulistiyono, M. Si selaku Pembimbing Utama dan Nilam Fadmaulidha Wulandari, Ph. D selaku Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu dan pikiran didalam memberikan bimbingan kepada penulis.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan dan Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor
3. Seluruh Staff dosen dan Karyawan di lingkungan Program Studi Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan
4. Orangtua, keluarga dan teman-teman terimakasih atas segala do'a, dukungan dan kebersamaan yang telah diberikan selama kuliah.

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya dan membalas amal kebaikan mereka. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, maka dari itu segala kritik dan saran yang membangun akan penulis terima dengan senang hati. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang berkepentingan.

Bogor, Oktober 2023

Melda Putri

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



**MELDA PUTRI**, lahir di Singkut pada tanggal 22 oktober 2000. Penulis adalah anak keempat dari pasangan H.Darussalam dan HJ.Zaifiati. Tahun 2005 penulis memulai pendidikan di TK Aisyiyah Bustanul Atfal (ABA) Muhammadiyah Singkut dan lulus pada tahun 2006. Penulis melanjutkan sekolah dasar di Madrasah Ibtidaiyah Negeri (MIN) 2 Sarolangun dan lulus pada tahun 2012. Pada Tahun yang sama penulis melanjutkan Sekolah Menengah Pertama di Madrasah Tsanawiyah Negeri (MTsN) 3 Sarolangun dan lulus pada tahun 2015. Penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di Madrasah Aliyah Negeri (MAN) 2 Kota Padang Panjang, Sumatera Barat dan lulus pada tahun 2018. Sejak 2019 penulis telah terdaftar sebagai mahasiswi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor. Penulis mendapatkan gelar Sarjana Farmasi Pada Bulan Juli 2023. Selama menjadi mahasiswa penulis terlibat aktif dalam Organisasi seperti menjadi Bendahara Umum Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM FMIPA) UNPAK Periode 2022-2023. Penulis menyelesaikan skripsi yang berjudul “Skrining Aktivitas Antibakteri Jamur Dari Isolat Minuman Fermentasi Tuak Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*” sebagai syarat untuk mendapatkan gelar.

## RINGKASAN

MELDA PUTRI. 066119007. 2023. Skrining Aktivitas Antibakteri Jamur Dari Isolat Minuman Fermentasi Tuak Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Di bawah bimbingan : Fitria Dewi Sulistiyono M,Si dan Nilam Fadmaulidha Wulandari, Ph.D.

---

---

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang merugikan, Jamur dari minuman fermentasi tuak diduga menghasilkan senyawa-senyawa yang bersifat antibakteri. *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang merupakan flora normal di usus manusia yang dapat menyebabkan infeksi saluran kencing dan diare *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif. Penyakit yang sering disebabkan yaitu keracunan makanan, infeksi kulit ringan hingga infeksi berat.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri isolat jamur yang berasal dari jamur minuman fermentasi tuak terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan mengidentifikasi jamur dari minuman fermentasi tuak secara makroskopis seperti warna koloni tampak atas dan bawah dengan merujuk pada atlas warna (*colour chart*), tepi koloni, elevasi (dilihat dari samping), tekstur atau bentuk (seperti mengkapas (*cotton*), *wolly*, permadani (*velvety*), dan katun dan mikroskopis struktur hifa dan struktur reproduksi. Metode yang digunakan uji aktivitas antibakteri penelitian ini yaitu metode difusi cakram.

Hasil isolat jamur minuman fermentasi tuak terdapat 23 isolat, yang diperkirakan sebagai *Penicillium* sp adalah 8 isolat, *Aspergillus* sp 2, dan 13 isolat belum diketahui. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki aktivitas antibakteri, isolat yang paling baik adalah M1TB (*Penicillium* sp) kategori kuat. Nilai rata-rata LDH sebesar 18,22 mm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan M7TB2 (*Penicillium* sp) dengan kategori lemah. Nilai rata-rata LDH sebesar 11,24 mm mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

**Kata Kunci : Antibakteri, Jamur Minuman Fermentasi Tuak, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.**

## SUMMARY

MELDA PUTRI. 066119007. 2023. Screening of Antibacterial Activity of Toddy Fermented Beverage Fungus Isolate Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Supervised by: Fitria Dewi Sulistiyono M, Si and Nilam Fadmaulidha Wulandari, Ph.D.

---

---

Antibacterials are compounds used to control the growth of harmful bacteria. Fungi from fermented palm wine are thought to produce compounds that are antibacterial. *Escherichia coli* is a gram-negative bacterium which is normal flora in the human intestine which can cause urinary tract infections and diarrhea. *Staphylococcus aureus* is a gram-positive bacterium. Diseases that are often caused include food poisoning, mild skin infections to severe infections.

This study aims to determine the antibacterial activity of fungal isolates originating from palm wine fermented drink fungi against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and to identify fungi from palm wine fermented drinks macroscopically such as the color of the top and bottom visible colonies by referring to the color chart, edge of the colony, elevation (seen from the side), texture or shape (such as cotton), wool, carpet (velvety), and cotton and microscopic structure of hyphae and reproductive structures. The method used to test antibacterial activity in this research is the disc diffusion method.

The results of the yeast isolates from fermented palm wine contained 23 isolates, of which 8 isolates were thought to be *Penicillium sp*, 2 *Aspergillus sp*, and 13 isolates were unknown. The results of the antibacterial activity test showed that the Tuak Fermented Drink Fungus Isolate on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria had antibacterial activity, the best isolate was M1TB (*Penicillium sp*) in the strong category. The average LDH value of 18.22 mm was able to inhibit the growth of *Escherichia coli* and M7TB2 (*Penicillium sp*) bacteria in the weak category. The average LDH value of 11.24 mm was able to inhibit *Staphylococcus aureus* bacteria.

**Keywords:** Antibacterial, Tuak Fermented Fungi, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>viii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	2
1.3 Hipotesis .....	2
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Isolat Koleksi BRIN dari Tuak Nira Bogor .....	3
2.2 Identifikasi Jamur .....	5
2.3 Khamir .....	6
2.4 Kapang .....	7
2.5 Antibakteri .....	8
2.6 <i>Escherichia coli</i> .....	9
2.7 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
<b>BAB III METODE KERJA</b> .....	<b>11</b>
3.1 Waktu dan tempat penelitian.....	11
3.2 Alat dan bahan penelitian.....	11
3.3 Metode Kerja .....	11
3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	11
3.3.2 Identifikasi Tingkat Genus .....	12
a. Persiapan Sampel Isolat Minuman Fermentasi .....	12

b.	Pembuatan Media <i>Malt Extract Agar</i> (MEA) .....	12
c.	Pengamatan Morfologi Jamur makroskopis .....	12
d.	Pengamatan Morfologi Jamur mikroskopis.....	13
3.3.3	Uji Aktivitas Antibakteri.....	13
a.	Pembuatan Media <i>Malt Ekstract Agar</i> (MEA) .....	13
b.	Persiapan Filtrat Isolat Jamur Minuman Fermentasi .....	13
c.	Pembuatan Media <i>Luria Bertani</i> (LB) Bakteri Uji .....	14
d.	Peremajaan Bakteri Uji.....	14
e.	Pewarnaan Bakteri Uji.....	14
f.	Pembuatan Suspensi Bakteri Uji .....	14
g.	Cek Nilai <i>optical destinaty</i> (OD).....	15
h.	Persiapan Kertas Cakram .....	15
i.	Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Tuak .....	15
3.3.4	Analisis Data.....	17
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>18</b>
4.1	Hasil Identifikasi Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak .....	18
4.2	Uji Potensi Antibakteri Isolat Jamur Minuman Fermentasi.....	40
<b>BAB V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>48</b>
5.1	Kesimpulan .....	48
5.2	Saran .....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>49</b>	
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>55</b>	

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Khamir.....	7
2. Kapang.....	8
3. <i>Escherichia coli</i> ..	9
4. <i>Staphylococcus aureus</i> ..	10
5. Diagram Pengukuran Zona Hambat.....	16
6. Letak Kertas Cakram.....	17
7. (a) Proses Sonikasi (b) Jamur Minuman Fermentasi sebelum Disonikasi (c) Jamur Minuman Fermentasi setelah Disonikasi.....	41
8. Filtrat Isolat Minuman Fermentasi.....	41
9. Hasil Mikroskop Bakteri Uji (a) <i>Staphylococcus aureus</i> (b) <i>Escherichia coli</i> .....	41
10. Aktivitas Antibakteri Isolat Minuman Fermentasi terhadap <i>Escherichia coli</i> .....	45
11. Aktivitas Antibakteri Isolat Minuman Fermentasi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> .....	47

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Isolat Koleksi BRIN dari Tuak Nira Bogor .....	3
2. Kategori Diameter Zona Hambat CLSI (2020).....	8
3. Identifikasi Morfologi Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak Jenis <i>Penicillium sp.</i> .....	21
4. Identifikasi Mikroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jenis <i>Penicillium sp.</i>	25
5. Identifikasi Mikroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jenis <i>Penicillium sp.</i>	26
6. Identifikasi Morfologi Isolat Minuman Fermentasi Jenis <i>Aspergillus sp.</i> ...	28
7. Identifikasi Makroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jamur .....	29
8. Identifikasi Mikroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jenis <i>Aspergillus sp.</i>	29
9. Hasil Identifikasi Isolat Minuman Fermentasi Jenis Khamir.....	32
10. Hasil Identifikasi Makroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jenis Khamir	37
11. Hasil Identifikasi Mikroskopik Isolat Minuman Fermentasi Khamir.....	38
12. Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Minuman Fermentasi yang berpotensi terhadap <i>Escherichia coli</i> .....	43
13. Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak <i>Staphylococcus aureus</i> .....	46

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan (Nugroho dkk., 2016). Suatu zat antibakteri dengan interaksi dengan bakteri dapat bersifat bakteristatik (hanya menghambat) atau dapat bersifat bakterisid (membunuh bakteri). Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi suatu zat antibakteri terhadap cairan badan dan jaringan, dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi dikenal (Jawetz *et al.*, 1986). Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti ingin mengetahui apakah tuak dari hasil fermentasi nira aren dapat berpotensi sebagai antibakteri.

*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen yang paling banyak menyerang manusia. *E.coli* adalah bakteri dalam kelompok *Enterobacteriaceae* yang bersifat gram negatif, anaerobik fakultatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, fermentatif dan biasanya bergerak dengan flagela peritrika. Koloni pada agar nutrient berbentuk bundar agar sedikit cembung tanpa pigmen, halus dengan pinggiran nyata. Bakteri *E.coli* mampu memfermentasi laktosa dengan menghasilkan gas. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 37°-42°C (Cahyo Nugroho, 2005). *S.aureus* adalah bakteri Gram positif yang hidup sebagai saprofit di dalam saluran membran tubuh manusia, permukaan kulit, kelenjar keringat, dan saluran usus (Pelczar & Chan, 1988).

Jamur adalah organisme kecil seperti mikroskopis, eukariotik berserabut (transparan) yang menghasilkan spora dan tidak mengandung klorofil dan memiliki dinding sel yang mengandung kitin, selulosa atau keduanya (Agrios, 1996). Menurut Illahi (2021), jamur terbagi menjadi tiga yaitu jamur berbadan buah besar (*mushroom*), jamur berbentuk benang (*molds*) dan jamur bersel satu (*khamir*). Salah satu mikroorganisme yang sering digunakan di industri yaitu khamir yang memiliki kemampuan memfermentasi substrat menjadi suatu produk yang bermanfaat untuk manusia.

Tuak sebagai hasil fermentasi dari tanaman nira aren yang mengandung komponen utama seperti flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, dan fenol yang bermanfaat sebagai antibakteri. Fermentasi nira aren menjadi tuak umumnya dilakukan dalam satu hari yang dibantu oleh khamir (*Saccharomyces*) dan bakteri *Lactobacillus*. *Saccaromyces* dapat menghasilkan etanol sedangkan *lactobacillus* menghasilkan asam saat fermentasi berlangsung (Dewi dkk., 2018).

### **1.2 Tujuan Penelitian**

1. Mengidentifikasi jamur dari minuman fermentasi secara makroskopik dan mikroskopik
2. Menentukan aktivitas antibakteri isolat jamur yang berasal dari minuman fermentasi terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### **1.3 Hipotesis**

1. Diperoleh isolat jamur yang teridentifikasi secara makroskopik dan mikroskopik
2. Diperoleh jamur dan minuman fermentasi yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

**2.1 Isolat Koleksi BRIN dari Tuak Nira Bogor**

Isolat minuman fermentasi tuak bogor diisolasi pada tahun 2019, 39 isolat disimpan dalam *eppendorf* dan media simpannya yaitu Trehalosa 5% + Glycerol 10% masing-masing isolat memiliki dua kali pengulangan. Isolat minuman fermentasi disimpan di *freezer* dengan suhu  $-80^{\circ}\text{C}$ .

**Tabel 1.** Isolat Koleksi BRIN dari Tuak Nira Bogor

No	Kode isolat	Sumber isolat	Tanggal isolasi	Media simpan	Jumlah
1	M1TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
2	M2TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
3	M3TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
4	M4TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
5	M5TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
6	M6TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
7	M7TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
8	M8TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
9	M1TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
10	M2TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
11	M3TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
12	M4TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
13	M5TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
14	M6TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
15	M7TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2

*Lanjutan*

**Tabel 1.** Isolat Koleksi BRIN dari Tuak Nira Bogor

16	P1TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% +gly 10%	2
17	P2TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
18	P3TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
19	P4TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
20	P5TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
21	P6TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
22	P7TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
23	P8TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
24	P1TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
25	P2TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
26	P3TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
27	P4TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
28	Y1TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
29	Y2TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
30	Y3TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
31	Y4TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
32	Y5TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
33	Y7TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
34	Y8TA	Tuak Bogor A	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
35	Y1TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
36	Y2TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2

*Lanjutan*

**Tabel 2.** Isolat Koleksi BRIN dari Tuak Nira Bogor

37	Y3TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
38	Y5TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + gly 10%	2
39	Y7TB	Tuak Bogor B	23.08.2019	Thl 5% + Gly 10%	2

Tuak adalah minuman yang terbuat dari sadapan, diambil dari mayang enau atau aren. Sadapan dari enau atau aren disebut nira. Nira kemudian difermentasi sehingga menjadi putih, menimbulkan bau yang khas serta memberi selera bagi peminumnya. Tuak adalah minuman tradisional yang terbuat dari sadapan, diambil dari mayang enau atau aren. Sadapan dari enau atau aren disebut nira, nira tersebut manis rasanya. Terdapat dua jenis tuak sesuai dengan reseponya, ada yang manis dan pahit, dimana yang pahit mengandung alkohol (Firmando, 2020).

Manfaat tuak yaitu dapat menjaga kehangatan tubuh karena tuak mengandung alkohol dan bersifat hangat, sebagai solusi sariawan karena tuak memiliki kandungan vitamin C yang cukup tinggi. Vitamin C merupakan unsur yang diperlukan untuk mencegah dan mengobati masalah panas dalam dan sariawan, makan dengan meminum tuak maka virus yang menyebabkan datangnya sariawan akan terbunuh oleh kandungan yang dimiliki oleh tuak. Obat penenang, obat tidur, mengurangi stress, tetapi tidak boleh di minum terlalu banyak karena dapat menyebabkan hilang kesadaran, sebagai penurun demam tuak akan menjaga dan meningkatkan sistem imun dalam tubuh. Obat diabetes karena kandungan tuak tidak banyak mengandung gula yang tinggi, meskipun tuak mempunyai komposisi gula jika meminum tuak secara teratur tetapi dengan dosis yang rendah diakui dapat membantu pasien yang mengidap Diabetes dengan cara mengurangi kadar gula dalam darah. Melancarkan sistem pencernaan contohnya sembelit dapat diatasi dengan tuak karena tuak memiliki unsur air dan serat (Muhammad, 2019).

## **2.2 Identifikasi Jamur**

Jamur adalah salah satu organisme yang memegang peranan penting dalam daur kehidupan. Peranan penting dari jamur adalah menguraikan bahan organik yang kompleks yang ada di alam menjadi suatu unsur yang sangat sederhana

sehingga mudah diserap dan dimanfaatkan oleh organisme yang lainnya. Keberadaan jamur di seluruh dunia diperkirakan jumlahnya dapat mencapai 1,5 juta spesies yang diprediksi masih hidup. Jumlah jamur teridentifikasi sampai saat ini baru mencapai sekitar 100.000 spesies (Campbell dkk., 2012) yang artinya bahwa masih banyak jumlah spesies jamur yang belum teridentifikasi. Jamur memperoleh makanan atau sumber nutrisi dengan menggunakan suatu alat yang terdiri dari benang-benang halus yang disebut dengan hifa (Anggriawan, 2014). Jamur adalah organisme eukariotik, berspora, tidak berklorofil, berproduksi secara seksual dan aseksual, jamur berdasarkan ukuran tubuhnya ada yang makroskopis yang hanya dapat dilihat dengan menggunakan alat bantu mikroskop (Darwis, 2011).

Menurut Suryani dkk (2020), Mengidentifikasi jamur dengan mengamati sifat-sifat hidup jamur secara makroskopis dan mikroskopis.

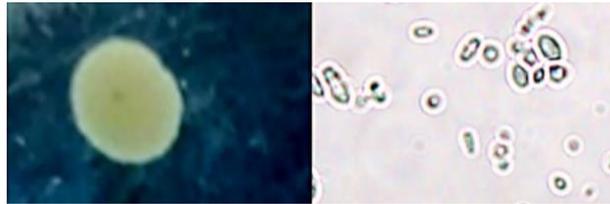
- a. Secara makroskopis dengan mengamati pertumbuhan koloni jamur pada media pertumbuhan. Sifat-sifat koloni seperti bentuk susunan, warna dan ukuran koloni.
- b. Secara mikroskopik adalah dengan mengamati struktur jamur seperti hifa, spora dan lain-lain. Kemudian adanya zat-zat kimia yang dikeluarkan oleh tubuh jamur seperti preparat enzim, asam-asam, alkohol dan pigmen-pigmen dan antibiotika yang merupakan produk dari jamur.

### **2.3 Khamir**

Khamir adalah fungi uniseluler yang memiliki ukuran sel dengan sekitar 2-3  $\mu\text{m}$  hingga 20-50  $\mu\text{m}$  dan lebar 1-1  $\mu\text{m}$ , tidak berflagel (kavanagh, 2005). Khamir adalah salah satu makhluk hidup bersel tunggal (*single cell*) yang melakukan perkembang biakan dengan tunas atau membelah (Kanti dkk., 2001). Menurut Mubin bin Zubaidah (2015) bahwa khamir akan tumbuh subur pada kondisi normal yaitu 25-30°C sehingga populasi khamir yang dihasilkan tidak berbeda terlalu jauh. Proses tumbuh dan berkembang biak khamir lebih cepat dibanding jamur. Khamir lebih efektif dalam memecah komponen kimia dibanding jamur, karena mempunyai perbandingan luas permukaan dengan volume yang lebih besar. Dinding sel sangat tipis untuk sel-sel yang masih muda, dan semakin lama semakin tebal jika sel

semakin tua. Dinding selnya berupa glukana (selulosa khamir), mannan, protein, kitin, dan lipid (Waluyo, 2005).

Sel khamir memiliki ukuran, bentuk, dan warna yang bervariasi. Umumnya khamir memiliki sel berbentuk bulat, semi bulat, oval, elips, atau silindris (Hogg, 2005). Khamir dapat menghasilkan pigmen berwarna hitam, merah muda, merah, jingga, dan kuning (Kavanagh, 2005).

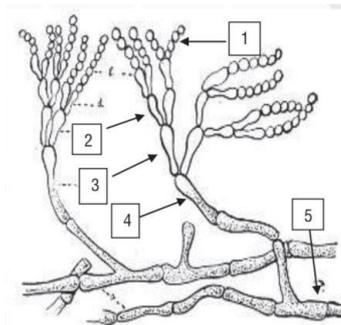


**Gambar 1.** Khamir (Periadnadi dkk., 2018)

#### 2.4 Kapang

Kapang adalah fungi multiseluler yang mempunyai filamen, dan pertumbuhannya pada substrat mudah dilihat karena penampakkannya yang berserabut seperti kapas. Pertumbuhannya mula-mula berwarna putih, tetapi jika berspora telah timbul akan berbentuk berbagai warna tergantung dari jenis kapang (Ali, 2005).

Menurut (Waluyo, 2004) kapang dapat dibedakan menjadi 2 kelompok berdasarkan struktur hifa, yaitu hifa tidak bersekat atau nonseptat dan hifa bersekat atau septat. Septat akan membagi hifa menjadi bagian-bagian, dimana setiap bagian tersebut memiliki inti (nukleus) satu atau lebih. Kapang yang tidak memiliki septat maka inti sel tersebar di sepanjang hifa. Dinding penyekat pada kapang disebut dengan septum yang tidak tertutup rapat sehingga sitoplasma masih dapat bebas bergerak dari satu ruang ke ruang lainnya. Kapang yang bersekat antara lain kelas Ascomycetes, Basidiomycetes dan Deuteromycetes. kapang yang tidak bersekat yaitu kelas *Phycomycetes* (*Zygomycetes* dan *Oomycetes*).



**Gambar 2.**Kapang (Eyre., 2009)

## 2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia. Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembasmian bakteri yaitu germisid, bakterisid, bakteristatik, antiseptik, dan desinfektan (Pelezar dan Chan, 1988).

Metode antibakteri difusi cakram dilakukan dengan cara kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba dijenuhkan kedalam bahan uji. Setelah itu kertas cakram diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan biakkan mikroba uji, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 35°C. Area atau zona bening sebanding dengan jumlah mikroba uji yang ditambahkan pada kertas cakram (Bonang, 1992), kelebihan metode cakram yaitu dapat dilakukan pengujian lebih cepat pada penyiapan cakram (Nurhayati.,2020)

Data yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan hasil diameter zona hambat yang berupa angka atau data numerik. Pengamatan dan perhitungan luas zona bening di lakukan dengan mengukur luas daerah bening yang terbentuk di sekitaran sumuran, dilakukan 2 pengukuran yaitu secara vertikal, dan horizontal lalu dibagi 2. Hasil yang didapatkan adalah luas zona hambat yang terbentuk.

**Tabel 2.** Kategori Diameter Zona Hambat CLSI (2019)

Kategori Interpretatif	Diameter Zona Hambat (mm)
Resistant (lemah)	$\leq 12$
Intermediate (sedang)	13-17
Sensitif (kuat)	$\geq 17$

## 2.6 *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang merupakan flora normal di usus manusia yang dapat menyebabkan infeksi saluran kencing dan diare (Jawetz et al., 2005). Menurut Pelczar and Chan (1986), bakteri *E.coli* adalah bakteri yang paling banyak digunakan sebagai indikator sanitasi karena bakteri ini adalah bakteri komensal pada usus manusia, umumnya merupakan patogen penyebab penyakit dan relatif tahan hidup di air sehingga dapat dianalisis keberadaannya di dalam air yang sebenarnya bukan medium yang ideal untuk pertumbuhan bakteri. *E.coli* dapat dipindah sebarkan melalui air yang tercemar tinja atau air seni orang menderita infeksi pencernaan, sehingga dapat menular pada orang lain. *E.coli* keluar dari tubuh bersama tinja dalam jumlah besar serta mampu bertahan sampai beberapa minggu. Kelangsungan hidup dan replikasi *E.coli* di lingkungan membentuk koliform. *E.coli* tidak tahan terhadap keadaan kering atau disinfektan biasa. Bakteri ini akan mati pada suhu 60°C selama 30 menit. Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Songer dan Post (2005) adalah kingdom Bacteria, Filum Protobacteria, Kelas Gamma *Protobacteria*, Ordo *Enterobacteriales*, Famili *Enterobacteriaceae*, Genus *Escherichia*, dan Spesies *Escherichia coli*.

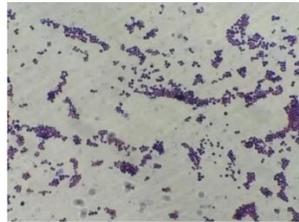


**Gambar 3.** *Escherichia coli* ( Anggraeni, R.2015)

## 2.7 *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif. Penyakit yang sering disebabkan oleh *S.aureus* adalah keracunan makanan, infeksi kulit ringan hingga infeksi berat yang dapat mengancam jiwa (Jawetz et al., 2008). *S.aureus* adalah bakteri yang dapat menghasilkan pigmen kuning, bersifat aerob fakultatif dan koloni cenderung berbentuk menyerupai buah anggur.

Secara alami *S.aureus* adalah flora normal pada manusia, yang sering ditemukan pada kulit, hidung dan mata. Bakteri *S.aureus* juga merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi seperti jerawat, pneumonia dan blefaritis (Radji, 2016). Sifat bakteri *S.aureus* yang tidak membentuk spora, sehingga *S.aureus* termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahannya. Agar miring, bakteri ini dapat tetap hidup sampai berbulan-bulan, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar (Syahrurahman et al., 2011).



**Gambar 4.** *Staphylococcus aureus* (Hayati dkk,2019).

## **BAB III**

### **METODE KERJA**

#### **3.1 Waktu dan tempat penelitian**

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Mei 2023 di dua tempat di Pusat Riset Biosistemika dan Evolusi (PRBE) dan Pusat Riset Mikrobiologi Terapan (PRMT), Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan (ORHL), Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Jawa Barat.

#### **3.2 Alat dan bahan penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Aluminium foil, Autoklaf (Hiclave HVE 50), batang pengaduk, botol semprot, buku identifikasi Pitt dan Hocking (2009), buku Barnet and Hunter (1998). bunsen, cawan Petri *phyrex*, erlenmeyer, gelas ukur, *hot plate* dan *stirrer* (VELP Arc), inkubator (*memmert*), jangka sorong, kamera *handphone*, kapas penutup tabung, karet, kertas saring, label, *Laminar air flow* (Robust), lemari pendingin, mikropipet dan tip, mikroplate, mikroskop (*Olympus*) yang tersambung kamera, neraca analitik, objek *glass*, *ose*, oven, *paper disk* atau kertas cakram (*whatman* 6 mm), pH meter, penggaris, Petri disposable, pinset, pipet tetes, pipet ukur, plastik wrap, plastik pembungkus, preparat dan *cover glass*, rak tabung reaksi, sarung tangan, sedotan, *sentrifuge effendorf* (51451R), *shaker*, *syringe*, sonikasi, tabung *falcon*, tabung reaksi, timbangan analitik, *tissue*, *tissue optic*, tusuk gigi, tusuk sate, *UV Transilluminator*.

##### **3.2.2 Bahan**

Aquadest steril, Es batu, *Escherichia coli*, etanol (Merck), HCl (Merck), isolat minuman fermentasi koleksi BRIN, kloramfenikol (sebagai antibakteri), *lactophenol cotton blue*, *Luria Bertani* (LB) padat dan cair, *malt extract agar* (MEA), *malt extract brooth* (MEB), NaOH 0,5%, spirtus, *Staphylococcus aureus*.

#### **3.3 Metode Kerja**

##### **3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian disterilkan terlebih dahulu, alat kaca seperti cawan Petri, ose, pinset, tabung reaksi, gelas ukur, gelas piala dan *cork borer* disterilkan menggunakan oven dengan suhu 141°C selama 1 jam. Sterilisasi media

MEA, MEB, LB padat dan LB cair sebelum digunakan disterilkan terlebih dahulu menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Wulandari dkk., 2021).

### **3.3.2 Identifikasi Tingkat Genus**

#### **a. Persiapan Sampel Isolat Minuman Fermentasi**

Isolat minuman fermentasi tuak yang digunakan merupakan isolat koleksi BRIN yang disimpan di freezer pada suhu -80°C dengan jumlah 39 isolat. Penelitian diawali dengan meremajakan 39 isolat jamur minuman fermentasi tuak dari suhu -80°C ke suhu ruang 25°C kurang lebih selama 1 jam. Peremajaan isolat jamur minuman fermentasi dilakukan di dalam LAF secara aseptis dekat api bunsen. Diambil satu ose dari biakan murni ditetaskan pada MEA dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang (Faisal, 2015).

#### **b. Pembuatan Media *Malt Extract Agar* (MEA)**

Media MEA dibuat dengan melarutkan 18 g ekstrak malt dan 15 gram agar bakteriologis dalam 1L aquadest menggunakan labu erlenmeyer, labu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya 10 mL media steril dituangkan ke dalam cawan Petri steril. Cawan dengan medium padat dibungkus dengan kantong plastik dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam untuk diperiksa sterilitasnya (Eger *et al.*, 1976).

#### **c. Pengamatan Morfologi Jamur makroskopis**

Pengamatan karakter makroskopis yaitu proses pemindahan cakram isolat jamur ke media pertumbuhan MEA dengan tusuk gigi steril. Isolat jamur murni akan diamati kecepatan pertumbuhannya selama 7 hari dan diamati karakter makroskopisnya seperti warna koloni tampak atas dan bawah dengan merujuk pada atlas warna (*colour chart*), tepi koloni, elevasi (dilihat dari samping), tekstur atau bentuk (seperti mengkapas (*cotton*), *wolly*, permadani (*velvety*), dan katun (*cottony*)) dokumentasi (foto) koloni jamur tampak atas dan bawah. Identifikasi jamur mengacu pada buku identifikasi *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Barnett dan Hunter, 1998).

#### **d. Pengamatan Morfologi Jamur mikroskopis**

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan cara biakan murni jamur diambil secara aseptis menggunakan jarum preparat dan diletakkan di atas permukaan *object glass*, lalu diberi pewarna yakni *lactophenol cotton blue* untuk membantu mengamati struktur mikroskopisnya dan menggunakan metode menumbuhkan jamur pada media agar di atas preparat dengan bantuan tusuk gigi steril dan kertas saring. Setelah itu, preparat ditutup dengan *cover glass* dan diamati di bawah mikroskop yang sudah terkoneksi dengan kamera dengan perbesaran 400 – 1000x. Ciri-ciri mikroskopis yang diamati meliputi struktur hifa dan struktur reproduksi. Identifikasi jamur mengacu pada buku identifikasi *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Barnett dan Hunter, 1998).

### **3.3.3 Uji Aktivitas Antibakteri**

#### **a. Pembuatan Media *Malt Ekstrak Agar* (MEA)**

Media MEA dibuat dengan melarutkan 18 g ekstrak malt dan 15 gram agar bakteriologis dalam 1L aquadest menggunakan labu erlenmeyer, labu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya 10 mL media steril dituangkan ke dalam cawan Petri steril. Cawan dengan medium padat dibungkus dengan kantong plastik dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam untuk diperiksa sterilitasnya. Media ini digunakan untuk inokulasi kapang dan khamir digunakan untuk merendam kertas cakram yang akan dipakai untuk pengujian antibakteri (Eger *et al.*, 1976).

#### **b. Persiapan Filtrat Isolat Jamur Minuman Fermentasi**

Isolat minuman fermentasi yang telah murni ditumbuhkan dalam media *Malt Extract Agar* (MEA) selama 7 hari hingga bersporulasi dengan menggunakan ose dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi masing-masing 20 ml *Malt Extract Brooth* (MEB). Tabung reaksi diinkubasi selama 7 hari dalam inkubator pada suhu ruang (27 – 30°C), setelah 7 hari isolat yang sudah diinkubasi disonikasi dengan *sonicator* dengan waktu 6 menit, setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit pada suhu ruang. Isolat jamur minuman fermentasi dilakukan penyaringan dengan kertas saring. Supernatan dipisahkan dari biomasannya. Supernatan yang diperoleh kemudian digunakan untuk merendam

paper disk/kertas cakram yang akan dipakai untuk pengujian antibakteri (Jamilatun dkk., 2020).

**c. Pembuatan Media *Luria Bertani* (LB) Bakteri Uji**

Media LB Agar dibuat dengan menimbang trypton 4 gram, NaCl 4 gram, *yeast extract* 2 gram dan agar Bacteriologi 6 gram, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest 400 mL kemudian dihomogenkan media yang sudah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian dituangkan pada masing-masing cawan Petri sebanyak 20 mL dan didinginkan sampai memadat. Media ini digunakan untuk inokulasi bakteri dan uji kepekaan terhadap antibiotik (Turangan dkk., 2017).

**d. Peremajaan Bakteri Uji**

Peremajaan bakteri dilakukan dengan menggunakan metode gores. Biakan murni bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diambil satu ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan secara zig-zag pada media agar secara aseptik kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Yanti dan Mitika, 2017).

**e. Pewarnaan Bakteri Uji**

Teknik pewarnaan gram dilakukan dengan langkah awal membersihkan kaca objek menggunakan alkohol 95% dan dilewatkan beberapa kali pada nyala api bunsen sehingga bebas dari kotoran. Ambil isolat bakteri dengan jarum ose secara aseptis dan diolesi tipis pada objek *glass*. Fiksasi *specimen* dilakukan dengan melewatkannya di atas api bunsen sebanyak tiga kali. Teteskan kristal violet pada objek sampai menutupi seluruh sediaan kemudian didiamkan selama satu menit pada suhu ruang lalu dibilas menggunakan aquadest. Ditetesi alkohol selama 5 detik lalu dibilas dengan aquadest selanjutnya ditetesi safranin dan didiamkan selama satu menit kemudian dibilas dengan aquadest pada suhu ruang selanjutnya dikeringkan lalu diamati dibawah mikroskop (Rahmatullah, dkk. 2021).

**f. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji**

Bakteri yang telah di kultur pada media agar LB diambil koloninya sebanyak satu ose koloni dengan kawat ose steril kemudian dimasukan ke dalam

media LB cair 10 ml. Suspensi bakteri dibuat 2 buah, suspensi yang pertama *Staphylococcus aureus* dan suspensi kedua *Escherichia coli* (Pangouw dkk., 2020).

**g. Cek Nilai *optical destinaty* (OD)**

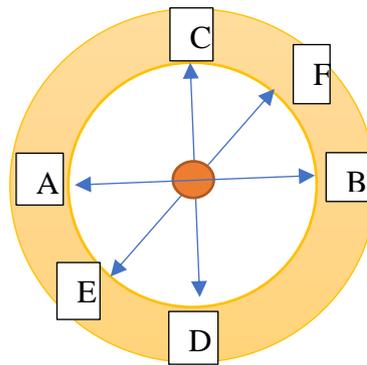
Suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah diinkubasi selama 24 jam di media LB kemudian isolat bakteri diambil sebanyak 10 ml untuk diamati nilai *Optical Destinaty* (OD) menggunakan *Microplate Reader*. Pengamatan dilakukan setiap satu jam sekali, dimulai dengan jam-0 dan seterusnya dengan dimasukan 200 mm duplo bakteri *E.coli*, *S.aureus* dan blanko berupa media LB cair (sebagai kontrol) (Yunita, S, 2015).

**h. Persiapan Kertas Cakram**

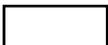
Penyiapan kertas cakram dilakukan dengan cara disiapkan kertas cakram lalu di rendam pada filtrat isolat minuman fermentasi, kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm dan kontrol negatif yaitu aquadest steril secara terpisah selama 30 menit pada suhu 37°C. (Komala dkk., 2018, Naweia dkk., 2017).

**i. Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Tuak**

Proses pengujian aktivitas antibakteri isolat jamur minuman fermentasi tuak yang dilakukan dengan metode difusi cakram kertas (*Disk Diffusion method*), Paper disk steril (diameter 6 mm) yang telah ditetesi/direndam dalam larutan uji diletakkan pada permukaan medium LB yang telah berisi bakteri uji yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, selanjutnya diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Apabila di sekitar kertas cakram terbentuk wilayah jernih atau daerah bening maka hal ini menunjukkan indikasi kepekaan bakteri terhadap bahan atau senyawa antimikroba yang terkandung di jamur minuman fermentasi. Daerah bening tersebut selanjutnya diukur diameternya menggunakan jangka sorong atau penggaris. Selanjutnya ditentukan kategori zona hambat yang terbentuk (Setyaningsih, 2008).



**Gambar 5.** Diagram Pengukuran Zona Hambat (Mozartha dkk., 2019)

	Bahan uji
	Zona hambatan bakteri
	Zona pertumbuhan bakteri
	Cara mengukur zona hambat bakteri

Keterangan :

Pengukuran 1 (mm) = (Jarak titik A-B)

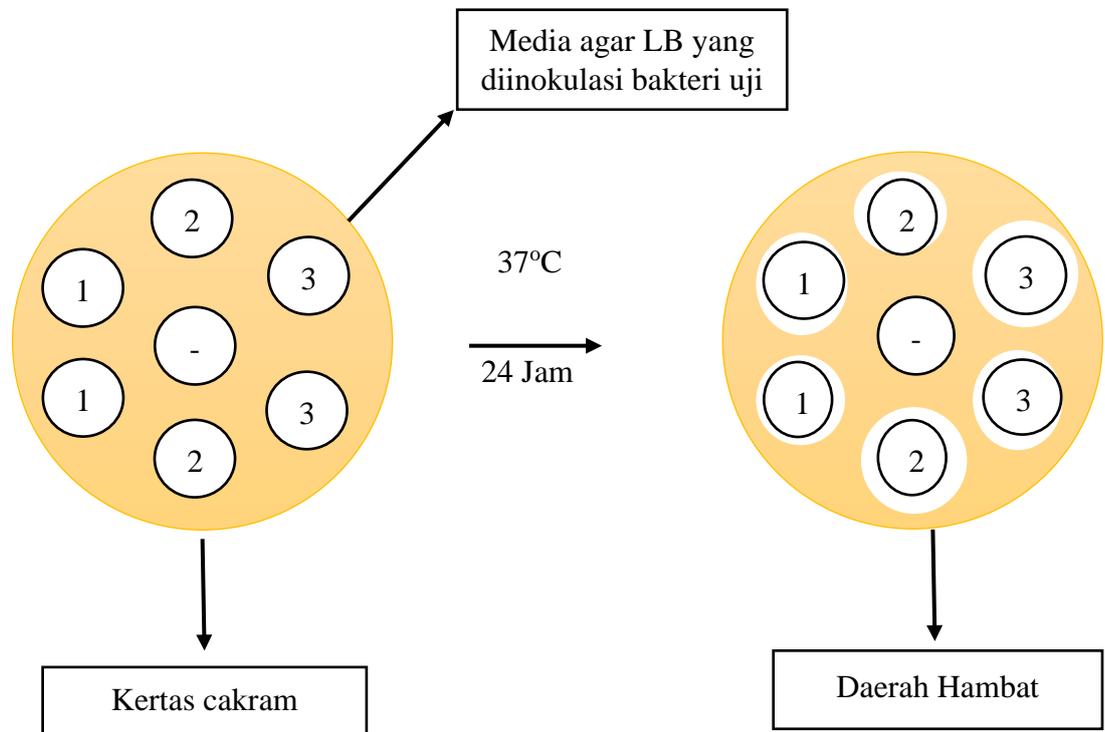
Pengukuran 2 (mm) = (Jarak titik C-D)

Pengukuran 3 (mm) = (Jarak titik E-F)

Pengukuran diameter zona hambat (mm) dilakukan dengan rumus:

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{\text{pengukuran 1} + \text{2} + \text{3}}{3}$$

Lebar daya hambat isolat jamur tuak



**Gambar 6.** Letak Kertas Cakram

### 3.3.4 Analisis Data

Pada penelitian ini digunakan metode analisis data statistik menggunakan program SPSS (*Statistical Package For the Social Sciences*) versi 24 dengan *ONE WAY ANOVA*. Parameter yang dianalisis meliputi daya hambat bakteri lalu jika ada perbedaan maka dianalisis dengan uji Duncan.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Hasil Identifikasi Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak**

Isolat jamur minuman fermentasi didapatkan dari koleksi BRIN yang berasal dari minuman fermentasi tuak Bogor. Media yang digunakan sebagai tempat pertumbuhan isolat jamur minuman fermentasi yaitu *Malt Extract Agar* (MEA). Thom dan Chruich (1926) merekomendasikan MEA dalam pertumbuhan kapang dan khamir karena mengandung karbon, protein dan sumber nutrisi lainnya (Rheisa, 2021) Ekstrak malt mengandung polisakarida yang digunakan sebagai sumber energi, pepton mikologi berfungsi sebagai nitroge, agar adalah agen pematat, MEA memiliki pH 5,4 (Swandi dkk., 2018).

Hasil identifikasi menunjukkan penampakan yang berbeda pada setiap koloninya baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Identifikasi makroskopis dan mikroskopis dilakukan untuk melihat lebih detail karakteristik yang dimiliki oleh jamur. Pemeriksaan makroskopis diamati secara langsung tanpa bantuan alat. Pengamatan makroskopis dapat dilakukan pada hari ke 5-7 hari inkubasi atau isolat mulai tumbuh pada media. Pengamatan makroskopis meliputi warna, tekstur, tepian koloni dan tampak permukaan (Got *et al.*, 2003). Menurut Sopialena, *et al* (2020) faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan jamur antara lain yaitu cahaya, substrat, suhu, kelembaban dan senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada lingkungan sekitar. Substrat adalah sumber nutrisi yang dimanfaatkan untuk mengeksresi enzim, pertumbuhan spora pada jamur dapat dipengaruhi oleh cahaya. Pertumbuhan jamur dapat cepat tumbuh pada kelembapan sekitar 90% dengan suhu ruang 25-30°C.

Pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan metode *slide culture* dengan bantuan mikroskop untuk melihat adanya miselium (hifa), spora struktur morfologi dan cara berkembang biak (seksual atau aseksual) Identifikasi mikroskopis menggunakan bantuan pewarnaan jamur yaitu *lactophenol cotton blue* (LPCB). Komponen dari pewarnaan jamur (LPCB) yaitu fenol yang fungsinya untuk membunuh organisme hidup, asam laktat yang berfungsi mempertahankan struktur jamur. Pengamatan mikroskopik dilakukan menggunakan mikroskop yang

tersambung dengan komputer dengan skala 40x10 hingga 100x10 kali. (Leck, 1999).

Semua isolat jamur minuman fermentasi teridentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis dan telah disesuaikan dengan literatur dan buku kunci identifikasi Pitt and Hocking (2009), dan Barnett and Hunter (1998). Tabel 2 ditunjukkan gambar hasil identifikasi isolat jamur minuman fermentasi tuak secara makroskopis dan mikroskopis yang telah dicocokkan dengan literatur dan buku identifikasi Pitt and Hocking (2009), dan Barnett and Hunter (1998).

### ***Penicillium Sp***

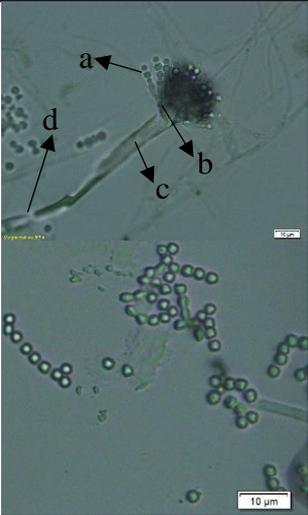
Berdasarkan tabel 2, 3 identifikasi makroskopis dan pada tabel 4 identifikasi secara mikroskopis didapatkan hasil:

1. Isolat M1TB memiliki warna atas koloni kuning (12.C), bawah koloni kuning (23.A), memiliki tekstur permukaan *Granular*, tepian koloni *Undulate* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 5 mm. Berdasarkan tabel 4 pengamatan makroskopis pada isolat M1TB memiliki hifa bersepta, tipe spora konidiospora, sterigma dan konidiofor. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (1,6 – 3,7), panjang (1,7 – 3,6) =  $\pm (2,6 \times 2,4) \mu\text{m}$ .
2. Isolat M5TB memiliki warna atas koloni putih (159.A) bawah koloni kuning (20.A) memiliki tekstur permukaan *Granular*, tepian koloni *Undulate* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 6 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat M5TB memiliki hifa bersepta, tipe spora konidiospora, sterigma dan konidiofor. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (1,6 – 3,8) panjang (1,5 – 2,8) =  $\pm (2,8 \times 2,7) \mu\text{m}$ .
3. Isolat M7TB(2) Isolat memiliki warna atas koloni putih (155.A) bawah koloni kuning (162.C) memiliki tekstur permukaan *cottony*, tepian koloni *fillament* dan pola koloni *fillament*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 20 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat M7TB(2) memiliki hifa bersepta, tipe spora konidiospora, sterigma dan konidiofor. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (1,7 – 3,8) panjang (1,5 – 3,9) =  $\pm (2,9 \times 2,8) \mu\text{m}$ .

4. Isolat M8TB memiliki warna atas koloni putih (157.C) bawah koloni kuning (160.D) memiliki tekstur permukaan *cottony*, tepian koloni *fillament* dan pola koloni *fillament*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 22 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat M8TB memiliki hifa bersepta, tipe spora konidiospora, sterigma dan konidiofor. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (1,6– 3,7) panjang (1,7 – 3,6) =  $\pm(2,6 \times 2,4) \mu m$ .
5. Isolat P1TB memiliki warna atas koloni putih (157.D) bawah koloni kuning (157.D) memiliki tekstur permukaan *cottony*, tepian koloni *fillament* dan pola koloni *fillament*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 20 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat P1TB memiliki hifa bersepta, tipe spora konidiospora, sterigma dan konidiofor. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (1,7 – 3,9) panjang (1,5 – 4,0) =  $\pm(2,9 \times 2,8) \mu m$ .
6. Isolat P5TB memiliki warna atas koloni putih (157.D) bawah koloni kuning (22.C) memiliki tekstur permukaan *cottony*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 7 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat P5TB memiliki hifa bersepta, tipe spora konidiospora, sterigma dan konidiofor. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (1,5 – 3,9) panjang (1,7 – 4,0) =  $\pm(2,9 \times 3,0) \mu m$ .
7. Isolat P4TA memiliki warna atas koloni kuning (12.D), hijau (190.B) bawah koloni kuning (15.A) memiliki tekstur permukaan *cottony*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 10 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat P4TA memiliki hifa bersepta, tipe spora konidiospora, sterigma dan konidiofor. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (1,5 – 3,8) panjang (1,6 – 3,9) =  $\pm(2,9 \times 3,0) \mu m$ .
8. Isolat P3TA memiliki warna atas koloni putih (155.D) bawah koloni kuning (11.B) memiliki tekstur permukaan *cottony*, tepian koloni *filament* dan pola koloni *filament*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 20 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat P3TA memiliki hifa bersepta, tipe spora konidiospora, sterigma dan konidiofor. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (1,6 – 3,6) panjang (1,7 – 3,8) =  $\pm(2,6 \times 2,7) \mu m$ .

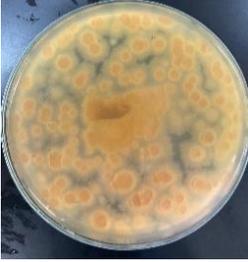
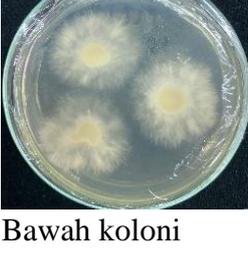
Menurut Purwantisari dan Hastuti (2012) dalam Parlindo (2019) melaporkan bahwa *Penicillium* sp. biasanya berseptat, memiliki badan buah yang berbentuk seperti sapu diikuti sterigma dan konidia yang tersusun seperti rantai. Konidiofor membentuk vesikel dibagian ujung dengan jumlah yang bervariasi tergantung spesiesnya, hifa berseptat, mempunyai fialid, metula, konidia satu berbentuk bulat atau elips. Identifikasi makroskopis didapatkan gambaran jamur *Penicillium* sp yang sesuai dengan identifikasi menurut Domsch dan Gams (1980) menyatakan bahwa *Penicillium* sp. mempunyai ciri-ciri warna koloni kuning, hijau kebiruan sampai hijau kecoklatan. Permukaan koloni halus seperti beludru atau kapas, mengeluarkan eksudat berwarna kuning atau hyalin.

**Tabel 3.** Identifikasi Morfologi Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak Jenis *Penicillium* sp.

No	Kode isolat	Makroskopis	Mikroskopis	Jenis
1	MITB * (Yang berpotensi antibakteri )	 <p>Atas Koloni</p> <p>Bawah koloni</p>	 <p>Keterangan:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Konidiospora</li> <li>Sterigma (tonjolan)</li> <li>Konidiofor</li> <li>Hifa</li> </ol>	<i>Penicillium</i> sp

Lanjutan

**Tabel 3.** Identifikasi Morfologi Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak Jenis *Penicillium sp.*

2	M5TB	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>	 <p>Keterangan :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Konidiospora</li> <li>b. Sterigma</li> <li>c. Konidiofor</li> <li>d. Hifa</li> </ul>	<i>Penicillium sp</i>
3	M7TB(2) * (Yang Berpotensi Antibakteri)	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>	 <p>Keterangan:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. konidiospora</li> <li>b. sterigma</li> <li>c. konidiofor</li> <li>d. hifa</li> </ul>	<i>Penicillium sp</i>

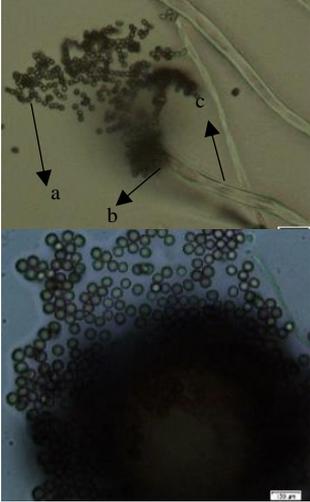
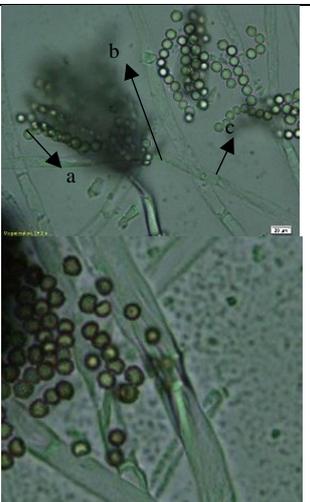
Lanjutan

**Tabel 3.** Identifikasi Morfologi Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak Jenis *Penicillium sp.*

4	M8TB	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah Koloni</p>	 <p>Keterangan:  a. konidiospora  b. sterigma  c. konidiofor  d. hifa</p>	<i>Penicillium sp</i>
5	PITB	 <p>Atas Koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>	 <p>Keterangan:  a. konidiospora  b. sterigma  c. konidiofor  d. hifa</p>	<i>Penicillium sp</i>

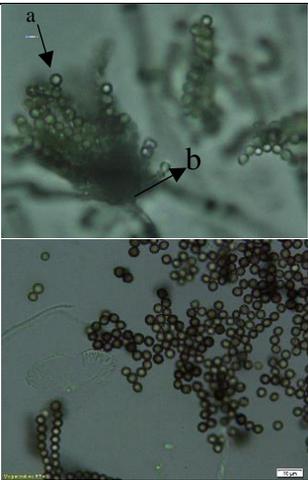
Lanjutan

**Tabel 3.** Identifikasi Morfologi Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak Jenis *Penicillium* sp.

6	P5TB	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>	 <p>(Sumber: Dok. Pribadi) Keterangan : a. konidiospora b. konidiofor c. hifa</p>	<i>Penicillium</i>
7	P4TA	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>	 <p>(Sumber: Dok. Pribadi) Keterangan : a. konidia b.konidiofor c.hifa</p>	<i>Penicillium</i> sp

Lanjutan

**Tabel 3.** Identifikasi Morfologi Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak Jenis *Penicillium* sp.

8	P3TA	 Atas koloni  Bawah koloni	 Keterangan : a. Konidiospora b. Konidiofor	<i>Penicillium</i> sp
---	------	---	--	-----------------------

**Tabel 4.** Mikroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jenis *Penicillium* sp.

Kode Isolat	Warna		Tekstur permukaan	Tepi koloni	Pola koloni	Growth rate
	Atas koloni	Bawah koloni				
<b>MITB</b>	Kuning 12.C	Kuning 23.A	<i>Granular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	5 mm
<b>M5TB</b>	Putih 159.A	Kuning 20.A	<i>Glanular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	6 mm
<b>M7TB(2)</b>	Putih 155.A	Kuning 162.C	<i>Cottony</i>	<i>Filament</i>	<i>Filament</i>	20 mm
<b>M8TB</b>	Putih 157.C	Kuning 160.D	<i>Cottony</i>	<i>Filament</i>	<i>Filament</i>	22 mm
<b>PITB</b>	Putih 157.D	Putih 157.D	<i>Cottony</i>	<i>Filament</i>	<i>Filament</i>	20 mm

Lanjutan

**Tabel 4.** Mikroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jenis *Penicillium* sp.

<b>P5TB</b>	Putih 157.D	Kuning 22.C	<i>Cottony</i>	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	7 mm
<b>P4TA</b>	Kuning 12.D, hijau 190.B	Kuning 15.A	<i>Cottony</i>	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	10 mm
<b>P3TA</b>	Putih 155.D	Kuning 11.B	<i>Cottony</i>	<i>Filament</i>	<i>Filament</i>	20 mm

**Tabel 5.** Identifikasi Mikroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jenis *Penicillium* sp.

<b>Kode isolat</b>	<b>Bentuk Spora</b>	<b>Ukuran Spora Lebar × Panjang (<math>\mu m</math>)</b>	<b>Perkiraan jenis</b>
<b>M1TB</b>	Bulat	$(1,6 - 3,7) \times (1,7 - 3,6)$ $= \pm(2,6 \times 2,4) \mu m$	<i>Penicillium</i> sp
<b>M5TB</b>	Bulat	$(1,6 - 3,8) \times (1,5 - 2,8)$ $= \pm(2,8 \times 2,7) \mu m$	<i>Penicillium</i> sp
<b>M7TB2</b>	Bulat	$(1,7 - 3,8) \times (1,5 - 3,9)$ $= \pm(2,9 \times 2,8) \mu m$	<i>Penicillium</i> sp
<b>M8TB</b>	Bulat	$(1,6 - 3,7) \times (1,7 - 3,6)$ $= \pm(2,6 \times 2,4) \mu m$	<i>Penicillium</i> sp
<b>P1TB</b>	Bulat	$(1,7 - 3,9) \times (1,5 - 4,0)$ $= \pm(2,9 \times 2,8) \mu m$	<i>Penicillium</i> sp
<b>P5TB</b>	Bulat	$(1,5 - 3,9) \times (1,7 - 4,0)$ $= \pm(2,9 \times 3,0) \mu m$	<i>Penicillium</i> sp
<b>P4TA</b>	Bulat	$(1,5 - 3,8) \times (1,6 - 3,9)$ $= \pm(2,9 \times 3,0) \mu m$	<i>Penicillium</i> sp
<b>P3TA</b>	Bulat	$(1,6 - 3,6) \times (1,7 - 3,8)$ $= \pm(2,6 \times 2,7) \mu m$	<i>Penicillium</i> sp

### *Aspergillus sp*

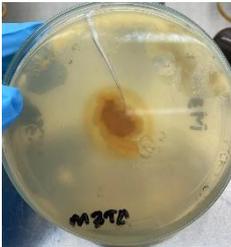
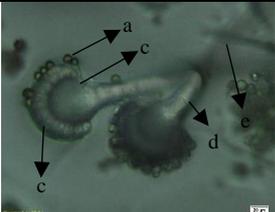
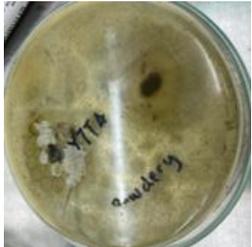
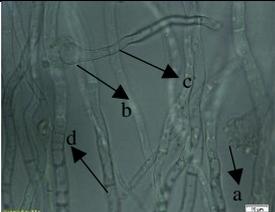
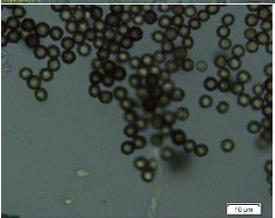
Berdasarkan tabel 5 dan 6 identifikasi secara makroskopis dan pada tabel 7 identifikasi secara mikroskopis didapatkan hasil :

1. Isolat M3TA memiliki warna atas koloni putih (155.D) bawah koloni orange (167.A) memiliki tekstur permukaan *cottony*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 20 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat M3TA memiliki konidia, vesicle, konidiospora dan hifa. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,8 – 3,9) panjang (2,9 – 4,2) =  $\pm(3,6 \times 3,8) \mu\text{m}$ .
2. Isolat Y7TA memiliki warna atas koloni hijau (199.A) bawah koloni krem (161.A) memiliki tekstur permukaan *powdery*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *circular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 16 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat Y7TA memiliki konidia, vesicle, konidiospora dan hifa. Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,9 – 4,1) panjang (3,0 – 4,4) =  $\pm(3,7 \times 3,8) \mu\text{m}$ .

Menurut penelitian Robert A. Samson dan Ellen S. Van Reenen-Hockstra pada tahun 1988 *Aspergillus sp* memiliki koloni yang terdiri atas beberapa warna seperti putih, kuning, coklat kekuningan, coklat atau hitam dan hijau. Warna koloni dari *Aspergillus sp* ini secara keseluruhan merupakan warna dari konidianya.

Identifikasi mikroskopis dengan mikroskop 1000x didapatkan gambaran jamur *Aspergillus sp* yang sesuai dengan identifikasi menurut Robert A. Samson dan Ellen S. van Reenen-Hockstra dimana pada gambaran yang ditemukan jamur tersebut yaitu terdiri dari konidia, phialid, vesicle, konidiofor dan hifa. Kepala konidia adalah struktur yang terletak dibagian terminal konidiofor, berbentuk bulat (*globose*) atau semibulat (*subglobose*) terusun atas vesikel, metula, fialid dan konidia. Vesikel adalah pembesaran konidiofor pada bagian apeksnya membentuk suatu struktur berbentuk globose atau elips. Konidiofor merupakan suatu struktur tegak lurus yang muncul dari sel kaki dan pada ujungnya menghasilkan kepala konidia. Sebagian besar dari spesies *Aspergillus sp* memiliki konidiofor tidak bercabang yang masing-masing menghasilkan kepala konidia tunggal.

**Tabel 6.** Identifikasi Morfologi Isolat Minuman Fermentasi Jenis *Aspergillus* sp.

No	Kode isolat	Makroskopis	Mikroskopis	Jenis
1	M3TA	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah Koloni</p>	  <p>Keterangan :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>konidia</li> <li>phialide</li> <li>vesicule</li> <li>konidiospora</li> <li>hifa</li> </ol>	<i>Aspergillus</i> sp
2	Y7TA	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>	  <p>Keterangan :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Konidia</li> <li>Konidiosfor</li> <li>Vesicle</li> <li>Hifa</li> </ol>	<i>Aspergillus</i> sp

**Tabel 6.** Identifikasi Makroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jamur *Aspergillus* *sp.*

Kode Isolat	Warna		Tekstur permukaan	Tepi koloni	Pola koloni	Growth Rate
	Atas	Bawah				
M3TA	Putih 155.D	Orange 167.A	<i>Cottony</i>	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	22 mm
Y7TA	Hijau 199.A	Krem 161.A	<i>Powdery</i>	<i>Undulate</i>	<i>Circular</i>	16 mm

**Tabel 7.** Identifikasi Mikroskopik Isolat Minuman Fermentasi Jenis *Aspergillus* *sp.*

No	Kode isolat	Bentuk spora	Ukuran Spora Lebar × Panjang ( $\mu m$ )	Perkiraan jenis
1	M3TA	Bulat	$(2,8 - 3,9) \times (2,9 - 4,2)$ $= \pm(3,6 \times 3,8) \mu m$	<i>Aspergillus</i> sp
2	Y7TA	Bulat	$(2,9 - 4,1) \times (3,0 - 4,4)$ $= \pm(3,7 \times 3,8) \mu m$	<i>Aspergillus</i> sp

Berdasarkan tabel 8, 9, 10 pengamatan morfologi secara makroskopis dan secara mikroskopis terdapat 1 kapang dan 12 khamir yang belum diketahui yaitu:

1. Isolat M7TB(1) memiliki warna atas koloni putih (155.A) bawah koloni kuning (22.B) memiliki tekstur permukaan *cottony*, tepian koloni *filament* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 6 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat M7TB(1). Bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (1,5 – 3,7) panjang (1,6-3,8) =  $\pm(2,7 \times 2,9) \mu m$ .
2. Isolat M2TB memiliki warna atas koloni hijau (143.B), kuning (12.C) bawah koloni kuning (17.C) memiliki tekstur permukaan *powdery*, tepian koloni *entire* dan pola koloni *circular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 23 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat M2TB memiliki bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,0 – 3,5) panjang (2,1 – 3,1) =  $\pm(2,6 \times 2,8) \mu m$ .

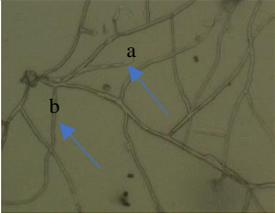
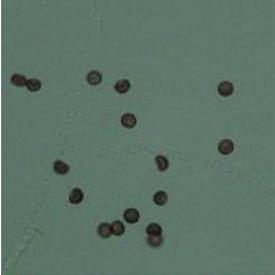
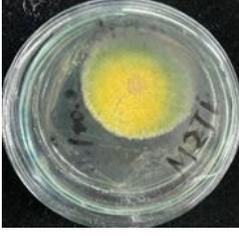
3. Isolat P6TB memiliki warna atas koloni hijau kecoklatan (199.A), bawah koloni hitam (202.A) memiliki tekstur permukaan *powdery*, tepian koloni *rhizoid* dan pola koloni *serrate*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 15 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat P6TB memiliki bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (6,5 – 9,11) panjang (6,9 – 9,0) =  $\pm(8,0 \times 7,9) \mu\text{m}$ .
4. Isolat P8TB memiliki warna atas koloni hijau (202.A) putih (157.D), bawah koloni hitam (202.A) memiliki tekstur permukaan *powdery*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *circular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 17 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat P8TB memiliki bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (6,9 – 9,0) panjang (6,8 – 9,2) =  $\pm(8,0 \times 7,9) \mu\text{m}$ .
5. Isolat Y1TA memiliki warna atas koloni hitam (202.D), bawah koloni coklat (200.D) memiliki tekstur permukaan *mengkilap*, tepian koloni *entire* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 15 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat Y1TA memiliki bentuk spora oval dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,0 – 3,5) panjang (2,4 – 4,0) =  $\pm(3,3 \times 3,8) \mu\text{m}$ .
6. Isolat Y2TA memiliki warna atas koloni hijau (131.A), bawah koloni hijau (131.A) memiliki tekstur permukaan *powdery*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 23 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat Y2TA memiliki bentuk spora bulat dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,0 – 3,9) panjang (1,9 – 4,0) =  $\pm(2,8 \times 3,1) \mu\text{m}$ .
7. Isolat Y4TA memiliki warna atas koloni orange (165.A), bawah koloni orange (165.B) memiliki tekstur permukaan *mucoïd*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 14 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat Y4TA memiliki bentuk spora oval dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,8 – 4,8) panjang (2,7 – 5,7) =  $\pm(4,3 \times 4,6) \mu\text{m}$ .
8. Isolat Y5TA memiliki warna atas koloni putih (155.A), bawah koloni putih (155.A) memiliki tekstur permukaan *mucoïd*, tepian koloni *entire* dan pola koloni *circular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 9 mm. Pengamatan

- makroskopis pada isolat Y5TA memiliki bentuk spora oval dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,6 – 4,9) panjang (2,8 – 5,7) =  $\pm(3,6 \times 4,2) \mu\text{m}$ .
9. Isolat Y8TA memiliki warna atas koloni orange (165.B), bawah koloni orange (165.B) memiliki tekstur permukaan *powdery*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *circular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 10 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat Y8TA memiliki bentuk spora oval dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,5 – 4,9) panjang (2,8 – 5,7) =  $\pm(3,6 \times 4,2) \mu\text{m}$ .
  10. Isolat Y1TB memiliki warna atas koloni hitam (202.A), bawah koloni hitam (202.A) memiliki tekstur permukaan *powdery*, tepian koloni *irregular* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 15 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat Y1TB memiliki bentuk spora oval dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,6 – 3,9) panjang (2,9 – 4,8) =  $\pm(3,2 \times 3,6) \mu\text{m}$ .
  11. Isolat Y2TB memiliki warna atas koloni hijau (146.A), bawah koloni kuning (162.C) memiliki tekstur permukaan *powdery*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *irregular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 16 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat Y2TB memiliki bentuk spora oval dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,5 – 3,9) panjang (2,9 – 4,6) =  $\pm(3,3 \times 3,9) \mu\text{m}$ .
  12. Isolat Y3TB memiliki warna atas koloni coklat (199.A), bawah koloni orange (165.B) memiliki tekstur permukaan *mucoïd*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *circular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 12 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat Y3TB memiliki bentuk spora oval dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,3 – 4,1) panjang (2,6 – 4,7) =  $\pm(3,6 \times 3,8) \mu\text{m}$ .
  13. Isolat Y5TB memiliki warna atas koloni orange (177.B), bawah koloni orange (177.C) memiliki tekstur permukaan *mucoïd*, tepian koloni *undulate* dan pola koloni *circular*. Diameter koloni pada hari ketujuh yaitu 12 mm. Pengamatan makroskopis pada isolat Y5TB memiliki bentuk spora oval dan memiliki ukuran spora yaitu lebar (2,6 – 4,2) panjang (2,8 – 4,6) =  $\pm(3,4 \times 3,9) \mu\text{m}$ .

Setiap khamir mempunyai karakteristik morfologi koloni yang beragam. Menurut Kreger, 1987 dalam widiastratik 2013, identifikasi mikroskopis khamir merupakan pengamatan sel yang dilakukan menggunakan mikroskop dengan pewarnaan *Methylene blue* untuk melihat bentuk sel, *budding* dan ukuran sel.

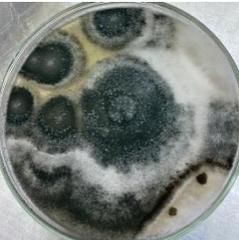
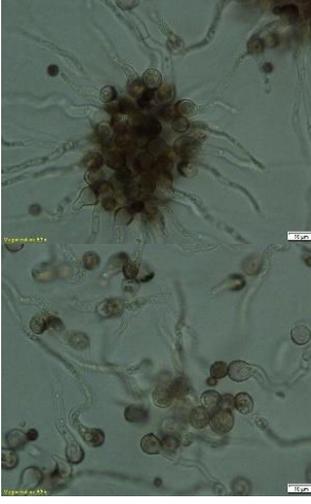
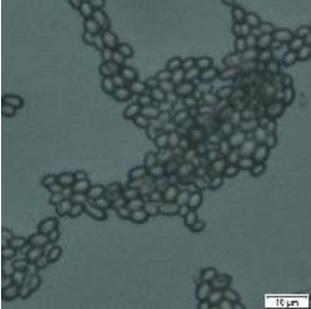
Menurut Lud Waluyo 2007 sel khamir mempunyai ukuran yang bervariasi yaitu dengan panjang 1-5 mm sampai 20 mm dan lebar 1-10 mm, bentuk khamir bermacam-macam yaitu bulat, oval, silinder dan sebagainya hal ini sama dengan hasil yang telah didapatkan.

**Tabel 8.** Hasil Morfologi Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui.

No	Kode isolat	Makroskopis	Mikroskopis	Jenis
1	M7TB2(1)	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>	  <p>Keterangan : a. hyphopodia b. hifa tidak bersepta</p>	Belum diketahui
2	M2TB	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>		Belum diketahui

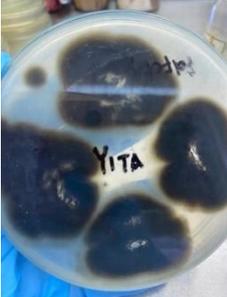
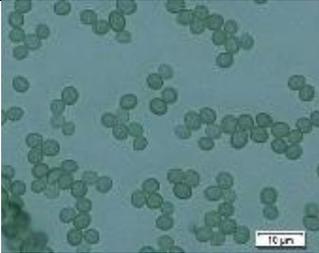
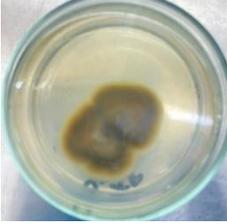
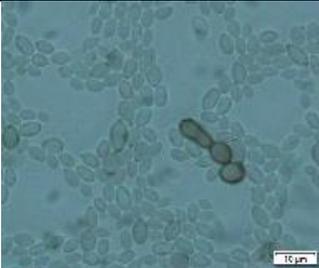
*Lanjutan*

**Tabel 8.** Hasil Morfologi Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui.

3	P6TB	 Atas koloni  Bawah koloni		Belum diketahui
4	P8TB	 Atas koloni  Bawah koloni		Belum diketahui
5	Y1TA	 Atas koloni		Belum diketahui

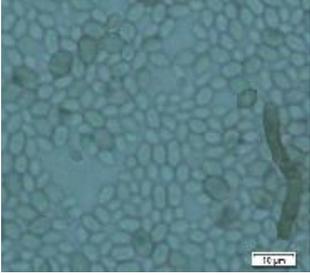
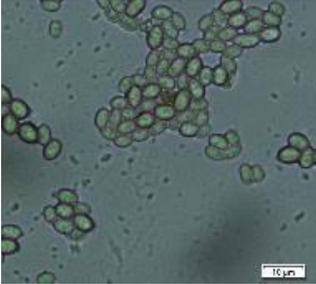
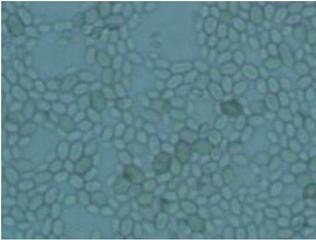
Lanjutan

**Tabel 8.** Hasil Morfologi Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui.

		 <p>Bawah koloni</p>		
6	Y2TA	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>		Belum diketahui
7	Y4TA	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>		Belum diketahui

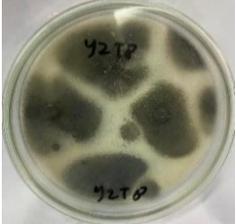
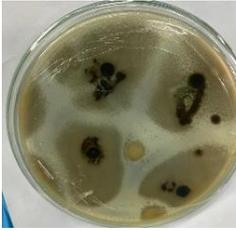
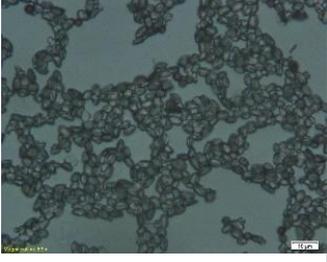
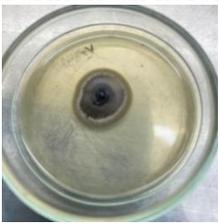
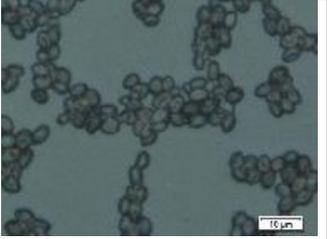
*Lanjutan*

**Tabel 8.** Hasil Morfologi Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui.

8	Y5TA	 Atas koloni  Bawah koloni		Belum diketahui
9	Y8TA	 Atas Koloni  Bawah koloni		Belum diketahui
10	Y1TB	 Atas koloni		Belum diketahui

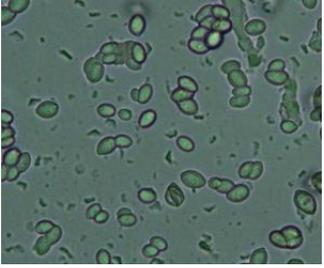
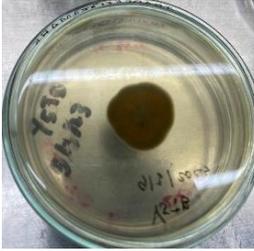
*Lanjutan*

**Tabel 8.** Hasil Morfologi Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui.

		 <p>Bawah koloni</p>		
11	Y2TB	 <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>		Belum diketahui
12	Y3TB	<p>Permukaan koloni</p>  <p>Atas koloni</p>  <p>Bawah koloni</p>		Belum diketahui

Lanjutan

**Tabel 8.** Hasil Morfologi Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui.

13	Y5TB	 Atas koloni		Belum diketahui
		 Bawah koloni		

**Tabel 9.** Hasil Makroskopis Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui

Kode Isolat	Warna		Tekstur permukaan	Tepi koloni	Pola koloni	Growth rate
	Atas	Bawah				
<b>M7TB</b> (1)	Putih 155.A	Kuning 22.B	<i>Cottony</i>	<i>Filament</i>	<i>Filament</i>	20 mm
<b>M2TB</b>	Hijau 143.B	Kuning 19.B	<i>Powdery</i>	<i>Entire</i>	<i>Circular</i>	23 mm
<b>P6TB</b>	Hijau kecok latan 199.A	Hitam 202.A	<i>Powdery</i>	<i>Rhizoid</i>	<i>Serrate</i>	15 mm
<b>P8TB</b>	Hijau 202.A putih 157.D	Hitam 202.A	<i>Powdery</i>	<i>Undulate</i>	<i>Circular</i>	17 mm

*Lanjutan*

**Tabel 9.** Hasil Makroskopis Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui

<b>Y1TA</b>	Hitam 202.D	Coklat 200.D	Mengkilap	<i>Entire</i>	<i>Irregular</i>	15 mm
<b>Y2TA</b>	Hijau 131.A	Hijau 131.A	<i>Powdery</i>	<i>undulate</i>	<i>Irregular</i>	23 mm
<b>Y4TA</b>	Orang e 165.A	Orange 165.B	<i>Mucoid</i>	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	14 mm
<b>Y5TA</b>	Putih 155.A	Putih 155.A	<i>Mucoid</i>	<i>Entire</i>	<i>Circular</i>	9 mm
<b>Y8TA</b>	Orang e 165.B	Orange 165.B	<i>Powdery</i>	<i>undulate</i>	<i>Circular</i>	10 mm
<b>Y1TB</b>	Hitam 202.A	Hitam 202.A	<i>Powdery</i>	<i>Irregular</i>	<i>Irregular</i>	15 mm
<b>Y2TB</b>	Hijau 146.A	Kuning 162.C	<i>Powdery</i>	<i>undulate</i>	<i>Irregular</i>	16 mm
<b>Y3TB</b>	Cokla t 199.A	Orange 165.B	<i>Mucoid</i>	<i>Undulate</i>	<i>Circular</i>	12 mm
<b>Y5TB</b>	Orang e 177.B	Orange 177.C	<i>Mucoid</i>	<i>Undulate</i>	<i>Circular</i>	12 mm

**Tabel 10.** Hasil Mikroskopis Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui

<b>Kode isolat</b>	<b>Bentuk spora</b>	<b>Ukuran Spora Lebar × Panjang (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Perkiraan jenis</b>
<b>M7TB(1)</b>	Bulat	$(1,5 - 3,7) \times (1,7 - 3,6)$ $= \pm(2,6 \times 2,4) \mu\text{m}$	Belum diketahui

*Lanjutan*

**Tabel 10.** Hasil Mikroskopis Isolat Minuman Fermentasi yang belum diketahui.

<b>M2TB</b>	Bulat	$(2,0 - 3,5) \times (2,1 - 3,1)$ $= \pm(2,6 \times 2,8) \mu m$	Belum diketahui
<b>P6TB</b>	Bulat	$(6,5 - 9,11) \times (6,9 - 9,0)$ $= \pm(7,6 \times 7,8) \mu m$	Belum diketahui
<b>P8TB</b>	Bulat	$(6,9 - 9,0) \times (6,8 - 9,2)$ $= \pm(8,0 \times 7,9) \mu m$	Belum diketahui
<b>Y1TA</b>	Oval	$(2,0 - 3,5) \times (2,4 - 4,0)$ $= \pm(3,3 \times 3,8) \mu m$	Belum diketahui
<b>Y2TA</b>	Bulat	$(2,0 - 3,9) \times (1,9 - 4,0)$ $= \pm(2,8 \times 3,1) \mu m$	Belum diketahui
<b>Y4TA</b>	Oval	$(2,8 - 4,8) \times (2,7 - 5,7)$ $= \pm(4,3 \times 4,6) \mu m$	Belum diketahui
<b>Y5TA</b>	Oval	$(2,6 - 4,9) \times (2,8 - 5,4)$ $= \pm(4,3 \times 4,7) \mu m$	Belum diketahui
<b>Y8TA</b>	Oval	$(2,5 - 4,9) \times (2,8 - 5,7)$ $= \pm(3,6 \times 4,2) \mu m$	Belum diketahui
<b>Y1TB</b>	Oval	$(2,6 - 3,9) \times (2,9 - 4,8)$ $= \pm(3,2 \times 3,6) \mu m$	Belum diketahui
<b>Y2TB</b>	Oval	$(2,5 - 3,9) \times (2,9 - 4,6)$ $= \pm(3,3 \times 3,9) \mu m$	Belum diketahui
<b>Y3TB</b>	Oval	$(2,3 - 4,1) \times (2,6 - 4,7)$ $= \pm(3,6 \times 3,8) \mu m$	Belum diketahui
<b>Y5TB</b>	Oval	$(2,6 - 4,2) \times (2,8 - 4,6)$ $= \pm(3,4 \times 3,9) \mu m$	Belum diketahui

Menurut Gandjar *et al.*, (2006) khamir dapat membentuk hifa palsu yang tumbuh menjadi misselium sejati (*pseudomycellium*) dan ada khamir yang dapat

membentuk misellium sejati (*true pseudomycellium*), misellium palsu merupakan sel tunas yeast yang memanjang dan tidak melepaskan diri dari sel induknya.

Hasil pengamatan pada isolat jamur minuman fermentasi tuak didapatkan 10 isolat kapang dan 13 isolat belum diketahui, hasil menunjukkan warna koloni dan tekstur permukaan beragam pada MEA diantaranya isolat memiliki warna putih, krem, hitam, hijau, kuning dan coklat, hal ini karena masing-masing isolat memiliki ciri khas yang tumbuh pada media. Penampakan secara mikroskopis juga isolat memiliki ciri khas yang berbeda-beda antara lain ada yang membentuk konidium, konidiospora dan beberapa diantaranya adalah khamir.

#### **4.2 Uji Potensi Antibakteri Isolat Jamur Minuman Fermentasi**

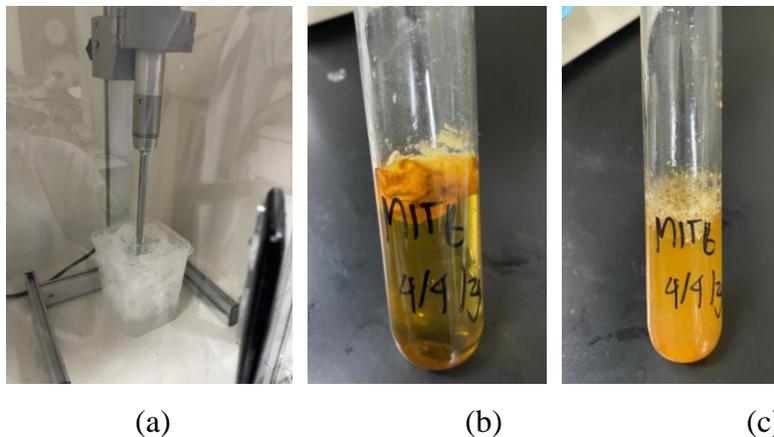
Pengujian antibakteri isolat jamur minuman fermentasi ini bakteri uji yang digunakan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian ini adalah salah satu langkah awal untuk mengetahui antibakteri dari senyawa bioaktif dari isolat jamur minuman fermentasi tuak terhadap *E.coli* mewakili gram negatif dan *S.aureus* mewakili gram positif. Pada kontrol positif antibiotik yang digunakan yaitu kloramfenikol 200 ppm dan kontrol negatif nya yaitu aquadest.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan metode uji Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram. Metode difusi cakram adalah metode yang paling sering digunakan untuk menentukan kerentanan bakteri terhadap antibiotik. Metode digunakan kertas cakram yang berfungsi sebagai reservoir agen antibakteri. Apabila terjadi zona hambat pada antibiotik disebut sensitivitas sedangkan resistensi adalah zona hambat yang tidak terjadi terhadap bakteri. Pengamatan dilakukan setelah bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan mengukur diameter vertikal, horizontal diperoleh bahwa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekitar kertas cakram menunjukkan adanya zona penghambatan

##### **4.2.1 Hasil Sonikasi Jamur Dari Minuman Fermentasi**

Isolat minuman fermentasi yang telah diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis ditumbuhkan ke MEB dan diinkubasi selama tujuh hari. Setelah jamur tumbuh pada MEB di sonikasi menggunakan alat sonikator. Menurut Kuldiloke (2002) metode sonikasi atau *Ultrasonic-assisted extraction* (UAE) adalah metode

yang menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi lebih dari 20 kHz. Salah satu manfaat metode ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi.



**Gambar 7.** (a) Proses Sonikasi (b) Jamur Minuman Fermentasi sebelum Disonikasi (c) Jamur Minuman Fermentasi setelah Disonikasi

Jamur minuman fermentasi yang telah disonikasi selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit. Sentrifugasi merupakan proses pemisahan partikel padat dari cairan dengan prinsip gravitasi dan sentrifugal dimana densitas cairan agar partikel padat dapat dipisahkan dari partikel cairnya (Istiana dkk., 2018) selanjutnya dilakukan penyaringan dengan menggunakan syringe, tip steril berpori  $0,45\mu\text{m}$  untuk mendapatkan filtrat. Hasil dari penyaringan disebut dengan filtrat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

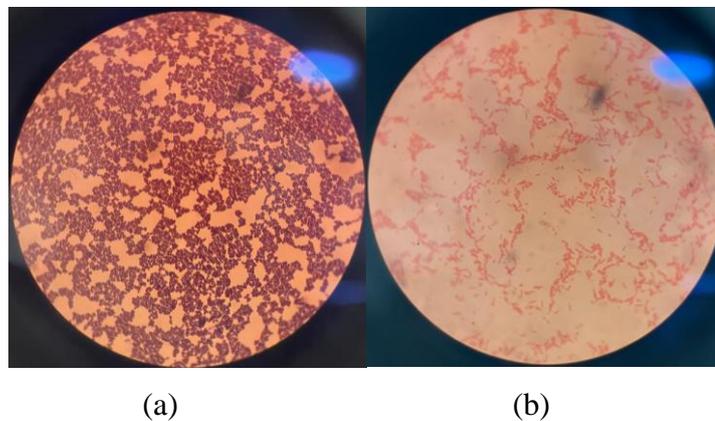


**Gambar 8.** Filtrat Isolat Minuman Fermentasi

#### 4.2.3. Hasil Pengecekan Pewarna Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* koleksi Laboratorium Pemulihan Mikrobiologis BRIN Cibinong yang disimpan di freezer pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$ . Bakteri *E.coli* dan *S.aureus* ditanaman pada LB padat dan

diinkubasi selama 24 jam. Bakteri yang sudah tumbuh pada LB dicek dibawah mikroskop dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah metode yang digunakan untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar yaitu Gram-positif dan Gram-negatif. Denmark Hans Christian Gram adalah Nama yang mengembangkan teknik ini. Bakteri Gram positif mempertahankan pewarna kristal violet sedangkan bakteri Gram-negatif tidak. Pada bakteri Gram-negatif akan berwarna merah dan Gram-positif akan berwarna ungu dari kristal violet (Yunus dkk., 2017). Hal ini sesuai dengan hasil mikroskop yang didapat yaitu pada *E.coli* Gram-negatif berwarna merah dan *S.aureus* Gram-positif berwarna ungu.



**Gambar 10.** Hasil Mikroskop Bakteri Uji (a) *Staphylococcus aureus* (b) *Escherichia coli*.

#### 4.2.3. Hasil Cek Optical Density OD Bakteri

Penghitungan Optical density (OD) bakteri menggunakan *micro reader* untuk melihat tingkat kekeruhan bakteri. Cek OD bertujuan untuk mengetahui nilai absorbansi pada sampel uji (Nair, D dkk., 1993). Data berupa nilai absorbansi, didapatkan hasil pada *Escherichia coli* 0,463 CFU/mL setara dengan  $10^8$  pada jam kedua inkubasi. Hasil absorban pada *Staphylococcus aureus* yaitu 0,487 CFU/mL setara dengan  $10^8$  pada jam ketiga inkubasi. Hal ini sesuai dengan standar Mc-Farland 0,5 setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL (Simarmata *et al.*, 2007). Mc-Farland 0,5 dijadikan referensi untuk menyesuaikan atau diasumsikan setara dengan kekeruhan bakteri suspensi sehingga jumlah bakteri dalam kisaran yang diberikan untuk membekukan mikroba pengujian (Rosmania & Yanti, 2020).

#### 4.2.2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Daya hambat bakteri adalah kemampuan suatu senyawa aktif untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang diketahui dengan adanya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling cakram sehingga bakteri yang diujikan bersifat sensitif terhadap senyawa aktif tersebut (Waluyo, 2010). Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol 200 ppm dan kontrol negatif yang digunakan yaitu aquadest. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena kloramfenikol merupakan antibiotik bersprektum luas yang aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif (Aviany & Pujiyanto., 2020). Kloramfenikol yang digunakan menunjukkan adanya mekanisme penghambatan ditandai dengan zona bening disekitar cakram antibiotik. Aquadest digunakan sebagai kontrol negatif karena merupakan senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri. Hal tersebut dibuktikan dengan tidak adanya respon hambat pertumbuhan *E.coli* dan *S.aureus* pada cakram kontrol negatif. Aquadest dinyatakan aman digunakan sebagai kontrol negatif (Henaulu & Keihena. 2020).

**Tabel 11.** Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Minuman Fermentasi yang berpotensi terhadap *Escherichia coli*.

Kode	Perkiraan Jenis	Ldh $\pm$ sd	Kategori
<b>K (+)</b>	Kloramfenikol 200 ppm	19,62 $\pm$ 0,91 <sup>h</sup>	Kuat
<b>K (-)</b>	Aquadest	0 <sup>a</sup>	Tidak menghambat
<b>M1TB</b>	<i>Penicillium</i> sp	18,22 $\pm$ 3,96 <sup>h</sup>	Kuat
<b>M7TB(2)</b>	<i>Penicillium</i> sp	13,08 $\pm$ 1,30 <sup>c</sup>	Sedang
<b>P4TA</b>	<i>Penicillium</i> sp	11,86 $\pm$ 0,72 <sup>b</sup>	Lemah
<b>P5TB</b>	<i>Penicillium</i> sp	14,08 $\pm$ 2,77 <sup>d</sup>	Sedang
<b>PITB</b>	<i>Penicillium</i> sp	13,53 $\pm$ 0,28 <sup>d</sup>	Sedang

*Lanjutan*

**Tabel 11.** Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Minuman Fermentasi yang berpotensi terhadap *Escherichia coli*.

<b>P6TB</b>	Belum diketahui	8,84 ± 0,68 <sup>b</sup>	Lemah
<b>Y1TA</b>	Belum diketahui	8,17 ± 0,64 <sup>b</sup>	Lemah
<b>Y4TA</b>	Belum diketahui	8,14 ± 0,43 <sup>b</sup>	Lemah
<b>Y2TB</b>	Belum diketahui	10,51 ± 1,16 <sup>b</sup>	Lemah

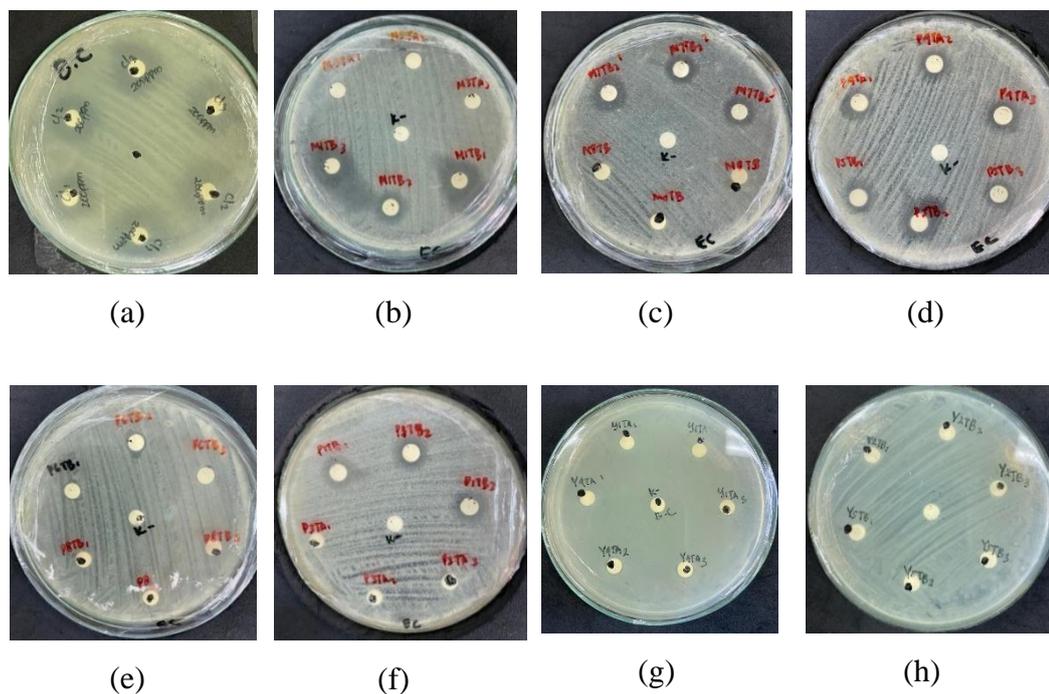
Keterangan : huruf yang berbeda pada *superscript* menunjukkan adanya perbedaan nyata antar isolat berdasarkan uji Duncan pada taraf  $\alpha$  0,05.

Hasil LDH Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak yang memiliki aktivitas antibakteri *Escherichia coli*, isolat jamur minuman fermentasi yang memiliki aktivitas antibakteri lemah P4TA (*Penicillium* sp), P6TB (belum diketahui), Y1TA (belum diketahui), Y4TA (belum diketahui) dan Y2TB (belum diketahui), Hasil kategori yang sedang terdapat pada isolat M7TB(1) (*Penicillium* sp), P5TB (*Penicillium* sp) dan P1TB (*Penicillium* sp). Kategori yang paling baik selain kontrol positif adalah M1TB (*Penicillium* sp.) dengan kategori kuat. Nilai rata-rata LDH sebesar 18,22 mm. Menurut Walpajri (2014) *Penicillium* sp. menghasilkan bakteri penisilin yang mampu menghambat sintesis peptidoglikan dinding sel bakteri karena *Penicillium* sp dapat menghambat bakteri patogen. buhan bakteri (Pelczar & Chan 1988).

**Keterangan gambar 11 adalah sebagai berikut:**

Kloramfenikol 200 ppm enam kali pengulangan cakram, (b) Isolat M1TB (berpotensi) terletak di bawah isolat M3TA (tidak berpotensi) dengan masing-masing tiga kali pengulangan cakram, (c) Isolat M7TB(2) (berpotensi) terletak diatas isolat M8TB (tidak berpotensi) masing-masing tiga kali pengulangan cakram, (d) isolat P4TA (berpotensi) terletak di atas isolat P5TB (berpotensi) masing-masing isolat dengan tiga kali pengulangan cakram, (e) Isolat P1TB

(berpotensi) terletak diatas isolat P3TA (tidak berpotensi) masing-masing tiga kali pengulangan cakram, (f) isolat P6TB (berpotensi) terletak diatas isolat P8TB (tidak berpotensi) maing-masing dengan tiga kali pengulangan cakram, (g) Isolat Y1TA (berpotensi) terletak diatas isolat P4TA (berpotensi) masing-masing tiga kali pengulangan cakram, (h) isolat Y2TB terletak diatas isolat Y5TB masing-masing dengan tiga kali pengulangan cakram.



**Gambar 11.** Aktivitas Antibakteri Isolat Minuman Fermentasi terhadap *Escherichia coli*. (a) Kloramfenikol 200 ppm (b) M1TA (c) M7TB2 (d) P4TA dan P5TB (e) P6TB (f) P1TB (g) Y1TA dan Y4TA (h) Y2TB

Hasil analisis menggunakan *One Way ANOVA* menunjukkan nilai signifikansi sebesar  $0,001 < 0,05$  nilai ini lebih kecil dari nilai taraf nyata ( $\alpha$ ) yang artinya terdapat pengaruh perbedaan M1TB, M7TB(2), P4TA, P5TB, PITB, P6TB, Y1TA, Y4TA, Y2TA, Kontrol Positif 200 ppm, Kontrol negatif, terhadap nilai lebar daya hambat isolat jamur minuman fermentasi yang berpotensi terhadap *E.coli*. Hasil uji duncan menunjukkan kontrol negatif tidak berbeda nyata karena menempati kolom subset yang sama tetapi Y4TA, Y1TA, P6TB, Y2TB, P4TA, berbeda nyata

dengan M7TB berbeda nyata dengan P1TB, P5TB, berbeda nyata juga M1TB, K+200 ppm.

**Tabel 12.** Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak *Staphylococcus aureus*

Kode	Keterangan	LDH±Sd	Kategori
K(+)	Kloramfenikol 200 ppm	12,58 ± 0,24 <sup>d</sup>	Lemah
K(-)	Aquadest	0 <sup>a</sup>	
M3TA	<i>Aspergillus</i> sp	7,31 ± 0,35 <sup>b</sup>	Lemah
M7TB2	<i>Penicillium</i> sp	11,24 ± 0,58 <sup>c</sup>	Lemah
P6TB	Belum diketahui	9,9 ± 2,67 <sup>c</sup>	Lemah

Keterangan : huruf yang berbeda pada *superscript* menunjukkan adanya perbedaan nyata antar isolat berdasarkan uji Duncan pada taraf  $\alpha$  0,05.

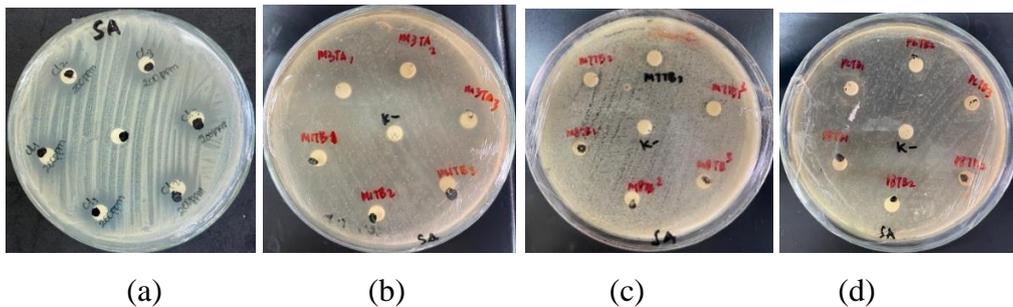
Hasil LDH Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak *Staphylococcus aureus* yang memiliki aktivitas antibakteri, isolat jamur minuman fermentasi yang memiliki aktivitas antibakteri lemah M3TA (*Aspergillus* sp), M7TB2 (*Penicillium* sp), P6TB (belum diketahui) dan kontrol positif. Kategori yang paling baik selain kontrol positif adalah M7TB2 (*Penicillium* sp) dengan kategori lemah . Nilai rata-rata LDH sebesar 11,24 mm.

*Penicillium* sp yang sangat berperan penting dalam lingkungan alam seperti pada produksi makanan dan obat. *Penicillium* ini menghasilkan *penisilin* yang digunakan sebagai antibiotik yang dapat membunuh atau menghentikan beberapa jenis bakteri didalam tubuh. *Penicillium* sp (dari *penicillius* Latin : kuas) adalah genus jamur *Ascomycetous* (Baker & Cook, 1982)

**Keterangan tabel 12 sebagai berikut:**

(a) Kloramfenikol 200 ppm dengan enam kali pengulangan cakram (b) Isolat M3TA (berpotensi) terletak diatas isolat M1TB (tidak berpotensi) masing-

masing dengan tiga kali pengulangan cakram (c) Isolat M7TB(2) terletak diatas isolat M8TB (tidak berpotensi) masing-masing dengan tiga kali pengulangan cakram dan (d) isolat P6TB (berpotensi) terletak diatas isolat P8TB (tidak berpotensi) masing-masing dengan tiga kali pengulangan cakram.



**Gambar 12.** Aktivitas Antibakteri Isolat Minuman Fermentasi terhadap *Staphylococcus aureus*. (a) Kloramfenikol 200 ppm, (b) M3TA, (c) M7TB2 dan (d) P6TB.

Hasil analisis menggunakan *One Way ANOVA* menunjukkan nilai signifikansi sebesar  $0,001 < 0,05$  nilai ini lebih kecil dari nilai taraf nyata ( $\alpha$ ) yang artinya terdapat pengaruh perbedaan M3TB, M7TB (2), P6TB, kontrol positif 50 ppm 100 ppm 200 ppm, kontrol negatif, terhadap nilai lebar daya hambat Isolat jamur minuman fermentasi yang berpotensi terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil uji duncan menunjukkan Kontrol negatif tidak berbeda nyata karena menempati kolom subset yang sama tetapi M3TA, berbeda nyata dengan M7TB, P6TB berbeda nyata dengan kontrol positif 200 ppm.

Berdasarkan hasil uji LDH menunjukkan bahwa Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki aktivitas antibakteri, isolat yang paling baik selain kontrol positif adalah M1TB (*Penicillium* sp) dengan kategori sedang. Nilai rata-rata LDH sebesar 18,22 mm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan M7TB2 (*Penicillium* sp) dengan kategori lemah. Nilai rata-rata LDH sebesar 11,24 mm mampu menghambat bakteri *S.aureus*. Kemampuan penghambatan terhadap bakteri ini menunjukkan bahwa isolat kode M1TB dan kode isolat M7TB(2) memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas karena mampu menghambat bakteri gram positif *S.aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *E.coli* (jamilatun, 2020).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

- a. Hasil isolat jamur minuman fermentasi tuak terdapat 23 isolat, delapan isolat perkiraan jenis *Penicillium* sp, dua isolat perkiraan jenis, *Aspergillus* sp dan 13 isolat belum diketahui.
- b. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki aktivitas antibakteri, isolat yang paling baik selain kontrol positif adalah kode isolat M1TB (*Penicillium* sp) dengan kategori kuat. Nilai rata-rata LDH sebesar 18,22 mm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan kode isolat M7TB2 (*Penicillium* sp) dengan kategori lemah. Nilai rata-rata LDH sebesar 11,24 mm mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*

#### **5.2 Saran**

- a. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan bakteri antibiotik lainnya.
- b. Perlu dilakukan pengujian DNA *barcoding* untuk jamur yang belum diketahui.

### DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Edisi ketiga. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 695.
- Anggraeni, R. (2015). Analisis Cemaran Bakteri *Escherichia coli* 0157:H7 Pada Daging Sapi D Kota Makasar. *Skripsi Prodi Kedokteran Hewan Universitas Hasanudin Makasar*.
- Anggriawan, I. 2014. Inventirisasi Jamur Tingkat Tinggi (Basidimycetes) Di Gunung Singgalang Sumatera Barat. *Jurnal Biologi Universitas Andalas* (J. Bio. UA.) 3(2). 147-153.
- Ali, A., 2005. *Mikrobiologi Dasar Jilid 1*. State University of Makassar Press. Makassar.
- Aviany, B.H., Pujiyanto, S. 2020. Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermisi*. *Berkala Bioteknologi*. Universitas Diponegoro
- Baker, K.F.,R.J.Cook. 1982. *Biological Control Of Plant Pathogen. The American Phytopathological Society*. St. Paul, Minnsotta, Barnet.
- Barnett, H.L., Hunter, B.B. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi Fourt Edition. APS Press*. Amerika.
- Bonang, G. 1992. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Cahyonugroho., O.K. 2005. Pengaruh Intesitas Sinar Ultra Violet Dan Pengadukan Terhadap Reduksi Jumlah Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Ekuilibrium*. 4(1).
- Campbell, Reece, Urry, Cain, Wasserman, Minorsky dan Jckson. 2012. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 2*. Erlangga: Jakarta.
- CLSI. 2020. CLSI M100 ED 29: 2021 *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30 th Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute*.
- Darwis, W. 2011. Inventarisasi Jamur Yang Dapat Dikonsumsi Dan Beracun Yang Beracun Yng Terdapat Di Hutan Dan Sekitar Desa Tanjung Kemuning Kaur Bengkulu. *Konversasi Hayati*. 7 (2). 1-8.

- Dewi, N.P.P.M.S., Suaniti, N.M., Putra, K.G.D. 2018. Kualitas Tuak Aren Pada Berbagai Waktu Perendaman Dengan Sabut Kelapa. *Jurnal Media Sains*. 2 (1). 1-7.
- Domsch, K.H and W.Gams. 1980. Compendium of soil fungi Volume 1. *Academic Press*, London.
- Eger, G., G. Eden dan E. Wissig. 1976. *Pleurotus ostreatus*-potensi pemuliaan jamur baru yang dibudidayakan. Teori. Aplikasi. Genet.47:155-163.
- Enggari, S., Ramadhanu, A., dan Marfalino, H. 2022. Peningkatan Digital Image Processing Dalam Mendeskripsikan Tumbuhan Jamur Dengan Segmentasi Warna, Deteksi Tepi Dan Kontur. *Jurnal Teknologi Dan Sistem Informasi Bisnis*. 4 (1).
- Eyre, J.W.H 2009. *The Elements of Bacteriological Technique*.
- Faisal, M. 2015. Uji Kepekaan Bakteri Yang Diisolasi Dan Diidentifikasi Dari Sputum Penderita Bronkhitis Di RSUP Prof Dr. Rd Kandou Manado (Amoksilin) Dan Tetrasiklin (Tetrasiklin). *Pharmakon*, 4(3). 88-95.
- Firmando, H.B. 2020. Kearifan Lokal Minuman Tradisional Tuak Dalam Merajut Harmoni Sosial Tapanuli Bahagian Utara. *Jurnal Aceh Anthropological*. 4 (2). 197-212.
- Gandjar., Indrawati dan Wellyzar. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta
- Got., R.E., Layton, N, J., dan Pirages, S.W. 2003. Indoor Health.: Background levels of fungi. *ALHA journal*, 64(4), 427-438.
- Hayati, L.N., Tyasningsih, W., Praja, R.N., Chusniati, S., Yunita, M.N., Wibawati, Hidayat, N., Irene M., dan Neti, Y. 2019. Mikroorganisme Dan Pemanfaatannya.
- Henaulu, H. A., Kaihena., M. 2020. Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L). DC) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* *In Vitro*. Jurusan Biologi Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pattimura.
- Istianah, N., Wardani, A.K., Sriherfyna, F.H, (2018). *Teknologi Bioproses*. Universitas Brawijaya Press. Malang

- Jamilatun, M., Aminah, A, dan Shufiyani. 2020. Uji Daya Hambat Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Alang-Alang (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Medikes*, 7 (2).
- Jawetz, E., Mulnich, J.L., Adelberg, E.A (ed)., 2008, *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kanti, A., Latupapua, H.J.D. 2001. Identifikasi Keragaman Khamir Yang Diisolasi dari Tanah Kebun Biologi Wamena Kabupaten Jayawijaya, Provinsi Papua. *Balitbang Mikrobiologi, Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor*. 2. 150-160)
- Komala, O., Noorlaela, E. dan Dhiasmi, A. 2018. Uji Antibakteri dan Formulasi Sediaan Masker Anti Jerawat yang Mengandung Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees & T. Nees ), *Ekologia*. 18(1), 31–39.
- Kurtzman CP, Fell JW. 1998. *The Yeast A Taxonomy*. Elviesier. New York.
- Kuldiloke, J. 2002. Effect Of Ultrasound Temperature And Pressure Treatments On Enzyme Activity and Quality Of Fruit and Vegetables Juices. Berlin: Dissertationder Technischen Universetat Berlin.
- Leck, A. 1999. Preparation of lactophenol cotton blue slide mounts. *Community Eye Health*, 12(30),24.
- Lud, Waluyo. 2007. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Muhammadiyah. Malang Press.
- Mozartha, M., Silvia, P. dan Sujatmiko, B. 2019. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Curcuma zedoaria* dan Bahan Irigasi Natrium Hipoklorit 2.5% terhadap *Enterococcus faecalis*, *Jurnal Material Kedokteran Gigi*. 8(1), 22.
- Mubin, M.F., dan E. Zubaidah 2015. Pengaruh Pengenceran Nira Siwalan (*Borassus flabelillifer* L) Dan Metode Inkubasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4 (1). 291-301.
- Muhammad, A., ArmN., DAN Asrina, Andi. 2019. Perilaku Masyarakat Kajang Dalam Mengonsumsi Tuak Pada Acara Adat. *Patria Artha Journal of Nursing Science*. 3 (1).

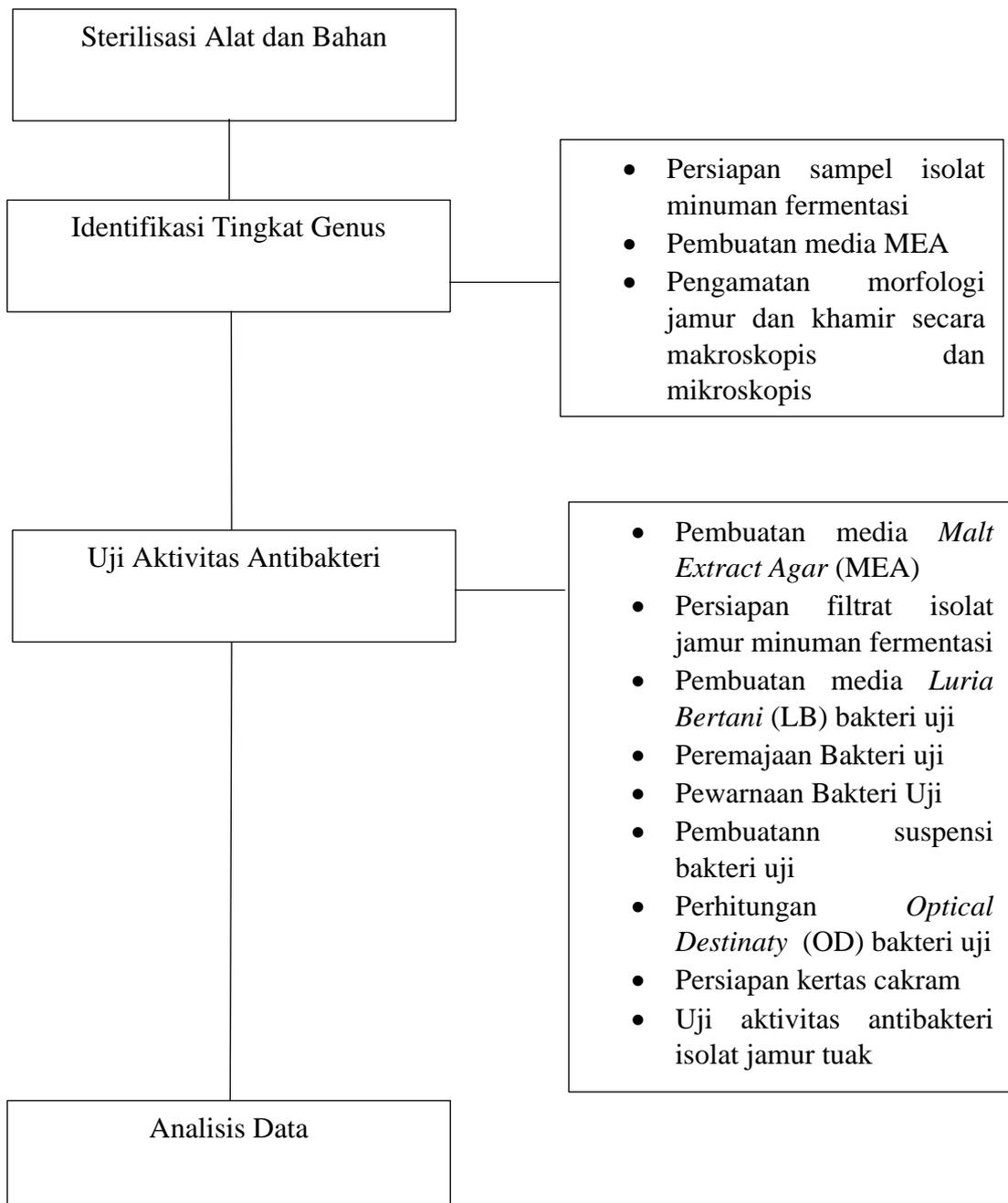
- Nair, s., Bharathi, P.A., Chandramohan, D. 1993. *Effect Of Heavy Metals On Marie Bacillus sp. and Flavobacterium sp. Ecotoxicology .2, 220-229*
- Natawijaya, *et.al.*, (2015). Uji Kecepatan Pertumbuhan Jamur Rhizopus atolonifer dan Aspergillus niger Yang Diinokulasikan Pada Beberapa Jenis Buah Lokal. *Jurnal Siliwangi*. Vol.1. No.1.32-40.
- Nawea, Y., Mangindaan, R. dan Bara, R. 2017. Uji antibakteri jamur endofit dari tumbuhan mangrove *Sonneratia alba* yang tumbuh di perairan pantai Tanawangko. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*. 5(1), p. 24.
- Nst, S.F., Saryono., Nugroho, T.T. 2022. Identifikasi Molekuler Jamur Termofilik Aspergillus sp. LBKURCC304 Isolat Lokal Bukik Gadang Sumatera Barat. *Jurnal Universitas Riau*. Riau
- Nugroho, K.M.D., Supartono., dan Harjono. 2016. Isolasi Senyawa Bioaktif Batang Pisang Ambon (*Musa Paradisiaca Var. Sapientum*) Sebagai Bahan Baku Antibakteri. *Indonesian Journal Of Chemical Science*. 5 (3).
- Nurhayati, L.S., Yahdiyani,N., Hidayatullah, A. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(20.41-46
- Pangouw, E., Jimmy, P., Widya, A. L., dan Robert, A. B. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Pada Daun Dan Batang Tumbuhan Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 9(2), 211.
- Parlindo, Fitria., Erfan dan S. 2019. Keanekaragaman dan Sebaran Mikroba Endofit *Indegenous* Pada Tanaman Kedelai (*Glycine max (L.) Merril*). *Journal of Applies Agricultural Science*. Vol 3 (1);1-14.
- Pelczar, M.J, dan Chan., E.C.S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 443.
- Periadnadi, D.K., Sari., dan Nurmiati. 2018. Isolasi dan Keberadaan Khamir Potensial Pemfermentasi Nira Aren (*Arenga pinnata Merr.*) dari Daratan Rendah Dan Dataran Tinggi di Sumatera Barat. *Bioeksperimen*. 4 (10). 29-36.

- Piit, J.L., A.D. Hocking. 2009. *Fungi And Food Spoilage*. New York: Great Britain at The University Press.
- Pikoli, R.M., Rahmah, A.F., Sari, f.a., Astuti, p., Solihat, A.N. 2020. Isolasi Mikroorganisme Pendegradasi Mikroplastik. Depok. CV. Kinzamedia Rizfa Aksara.
- Radji, M. 2016. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi Dan Kedokteran EGC*.
- Rheisa Mutiara Diarrukmi, R. M.D. (2021). Efektifitas Hasil Pertumbuhan Jamur Pada Media MEA (*Malt Extract Agar*) Yang di Bandingkan dengan Media PDA (*Potato Dextrose Agar*). (*Doctoral Dissertation*, Poltekkes Kemenkes Yogyakarta).
- Rosmania dan Yanti, F. 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. Jurusan Farmasi FMIPA. Universitas Sriwijaya.
- Samson, R.A dan Ellen S. Van Reenan-Hoekstra. 1988. *Introduction to FoodBorne Fungi*. Baarn ; centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Sari, DYR, Saputro TB, Muhibuddin A. 2016. Uji Potensi Fermentasi Etanol *Yeast* Tanah yang Diisolasi dari Metode Budidaya SDN di Daerah Batu, Jawa Timur. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 5 (2). 39-43.
- Setyaningsih, I. 2008. Ekstraksi Senyawa Antibakteri dari Diatom *Chaetoceros gracilis* dengan Berbagai Metode. *Jurnal Biologi Indonesia*. 5(1) : p 23 – 33.
- Simarmata, R., S. Lekatompessy., H. Sukiman. 2007. Isolasi Mikroba Endofit Dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Berk Penel Hayati*. 13: 85-90.
- Sopialena., Suyadi., Sofian., Devi, T., A,N,F. 2020. Efektivitas Cendawan Endofit Sebagai Pengendali Penyakit Blast Pada Tanaman Padi (*Oryza Sativa*). *Jurnal AGRIFOR*. Vol 19 (2): 355-366
- Suryani, Y., Taupiqurrahman, O., Kulsum, Y. 2020. Mikologi. Padang Sumatra Barat. *PT. Freeline Cipta Granesia*. 3 (27). *UV Transilluminator*

- Turangan, A, M, A., Fatimawali., dan Rotinsulu, H. 2017. Identifikasi Bakteri Pada Plak Gigi Paisean Puskesmas Bahu Manado Dan Uji Resistensi Terhadap Antibiotik Golongan Penisilin dan Sefalosporin. *Jurnal Ilmiah Farmasi. UNSRAT.* 6 (3). 2302-2493
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum.* UMM Press. Malang
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Umum.* UMM Press. Malang.
- Waluyo, L. 2010. *Mikrobiologi Umum.* UMM Press. Malang.
- Wulandari, S., Nisa, S.Y., Taryono., Indarti, S., Sayekti, S.R.R. 2021. Sterilisasi Peralatan Dan Media Kultur Jaringan. *Agrinova: Journal of Agrotechnology Innovation.* 4 (2). 16-19
- Widiastutik, N., dan Alami, N.H. 2014. Isolasi dan Identifikasi Yeast dari Rhizofe Rhizophora mucronata Wonorejo. *J. Sains dan Seni Pomits* Vol. 3, No. 1.
- Yanti, Y. N., dan Mitika, S. 2017. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi dan Kesehatan.* 2(1), 158–168.
- Yunita,S. 2015. Uji Kemampuan Bakteri *Bacillus* S1 dan *Azotobacter* S8 Untuk Meremoval Logam Berat Kromium. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Yunus, R., Mongan, R., dan Rosnani. 2017. Cemaran Bakteri Gram Negatif Pada Jajanan Siomay di Kota Kediri. *Medical Laboratory Technology Journal.* Volume 3 (1); 87-92.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian



## Lampiran 2. Perhitungan LDH

Rumus perhitungan LDH :

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{AB+CD+EF}{3}$$

Filtrat isolat minuman fermentasi *Escherichia coli*

### K(+) kloramfenikol 50 ppm

$$\text{Ulangan 1} = \frac{14,8+16,6+17,8}{3} = 16,4 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{16+18+16,8}{3} = 16,93 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{12,8+16,4+15,2}{3} = 14,8 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 1} = \frac{17+15,4+17}{3} = 16,46 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{14,6+16+14,7}{3} = 15,1 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{17,8+15,6+14,8}{3} = 16,06 \text{ mm}$$

### K(+) kloramfenikol 100 ppm

$$\text{Ulangan 1} = \frac{17,8+17+17,8}{3} = 17,53 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{18,2+16,4+17,8}{3} = 17,46 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{18,2+17,6+17,6}{3} = 17,8 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 1} = \frac{16+17,6+16,6}{3} = 16,73 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{17,8+19,2+17,2}{3} = 18,06 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{18,2+16,4+17,2}{3} = 17,26 \text{ mm}$$

### K(+) kloramfenikol 200 ppm

$$\text{Ulangan 1} = \frac{19+18+17,2}{3} = 18,06 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{18,6+18,8+19,4}{3} = 18,93 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{19+20,4+19,4}{3} = 19,6 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 1} = \frac{18,4+21,4+20,2}{3} = 20 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{20,8+20,6+21,2}{3} = 20,86 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{18,6+21,2+21}{3} = 20,26 \text{ mm}$$

**MITB**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{17,8+20,2+19,2}{3} = 19,06 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{12,6+13,8+12,6}{3} = 13 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{27,8+16,2+23,8}{3} = 22,6 \text{ mm}$$

**M7TB2**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{13,2+16,8+14,8}{3} = 14,93 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{11,6+12,2+12,8}{3} = 12,2 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{12,4+11,2+12,8}{3} = 12,13 \text{ mm}$$

**PITB**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{12,4+14,4+14,2}{3} = 13,66 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{13,6+14,8+14,4}{3} = 13,8 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{12,2+14+13,2}{3} = 13,13 \text{ mm}$$

**P5TB**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{12,8+13,6+13}{3} = 13,13 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{18,6+18+17}{3} = 17,86 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{12,2+14+13,2}{3} = 13,13 \text{ mm}$$

**P6TB**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{9,4+8,6+9}{3} = 9 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{10,8+8,2+9,8}{3} = 9,6 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{7,8+7,2+8,8}{3} = 7,93 \text{ mm}$$

**P4TA**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{13,2+14,2+11,2}{3} = 12,86 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{10,2+13,2+10,2}{3} = 11,2 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{10,4+11,4+12,8}{3} = 11,53 \text{ mm}$$

**YITA**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{8,6+8,8+8,6}{3} = 8,66 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{7,4+6,6+7,8}{3} = 7,26 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{9,6+8,4+7,8}{3} = 8,6 \text{ mm}$$

#### **Y4TA**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{6,9+8,6+9,6}{3} = 8,36 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{7,4+8,8+9,6}{3} = 8,8 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{7+8,2+7,4}{3} = 7,53 \text{ mm}$$

#### **Y2TB**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{11,6+9,6+12,4}{3} = 11,2 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{11,4+11,4+11,6}{3} = 11,46 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{8,8+9,2+8,6}{3} = 8,86 \text{ mm}$$

#### **Y5TB**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{10,6+11,4+11}{3} = 11 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{8,4+8,4+9,6}{3} = 8,8 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{9,6+11+10,6}{3} = 10,4 \text{ mm}$$

Filtrat isolat minuman fermentasi *Staphylococcus aureus*

#### **K(+) kloramfenikol 50 ppm**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{8,6+12,6+10,4}{3} = 10,53 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{10,6+11,6+9,8}{3} = 10,66 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{12,4+10,6+9,6}{3} = 10,86 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 1} = \frac{10,8+9,8+10,4}{3} = 10,33 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{10,6+9,6+11,6}{3} = 10,6 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{10,2+11,2+9,8}{3} = 10,4 \text{ mm}$$

#### **K(+) kloramfenikol 100 ppm**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{10,2+12+10,4}{3} = 10,86 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{12,2+12+10,4}{3} = 11,53 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{11+9,8+10,2}{3} = 10,33 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 1} = \frac{10,2+10,8+10,2}{3} = 10,4 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{11+9,8+10,2}{3} = 10,33 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{11,4+10,8+10,4}{3} = 10,86 \text{ mm}$$

### **K(+)** kloramfenikol 200 ppm

$$\text{Ulangan 1} = \frac{12,4+11,4+14}{3} = 12,6 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{13,2+12,4+11,2}{3} = 12,26 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{14,4+13,2+11,4}{3} = 13 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 1} = \frac{13,2+12,6+11,6}{3} = 12,46 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{12,4+12,6+13,4}{3} = 12,8 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{13,4+11,2+12,6}{3} = 12,4 \text{ mm}$$

### **M7TB2**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{11,4+13,6+11,2}{3} = 12,06 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{10,6+10,6+11,4}{3} = 10,86 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{11,2+9,6+11,6}{3} = 10,8 \text{ mm}$$

### **M3TA**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{8+7,6+6,4}{3} = 7,33 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{7,8+7,4+8}{3} = 7,73 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{6,2+6,8+7,6}{3} = 6,86 \text{ mm}$$

### **P6TB**

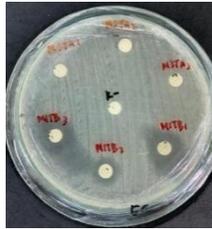
$$\text{Ulangan 1} = \frac{14,2+11,4+15}{3} = 13,53 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{9,2+8,4+9,4}{3} = 9 \text{ mm}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{7,4+6,2+7,9}{3} = 7,16 \text{ mm}$$

### Lampiran 3. Gambar hasil penelitian

- Uji aktivitas antibakteri isolat minuman fermentasi yang tidak berpotensi terhadap *Escherichia coli*



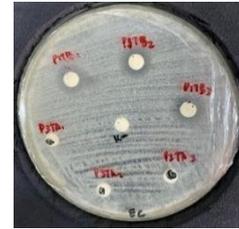
M3TA



M5TB, M7TB(1)



M8TB



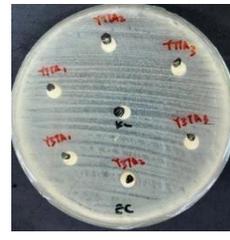
P3TA



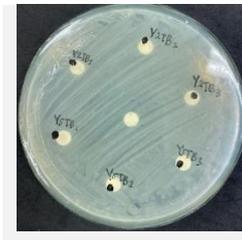
P8TB



Y2TA, Y1TB



Y7TA, Y5TA

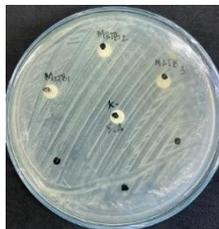


Y3TB, Y8TA



KRB4, KRB24

- Uji aktivitas antibakteri isolat minuman fermentasi yang tidak berpotensi terhadap *Staphylococcus aureus*



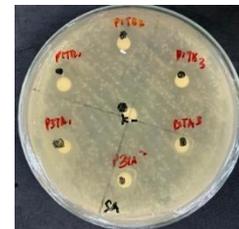
M2TB



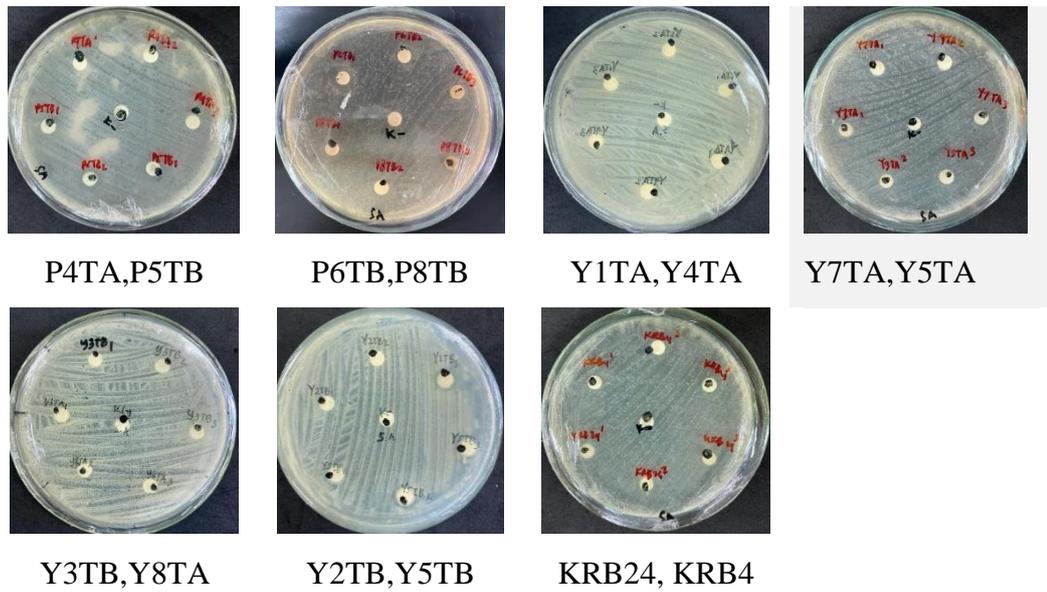
M5TB, M7TB1

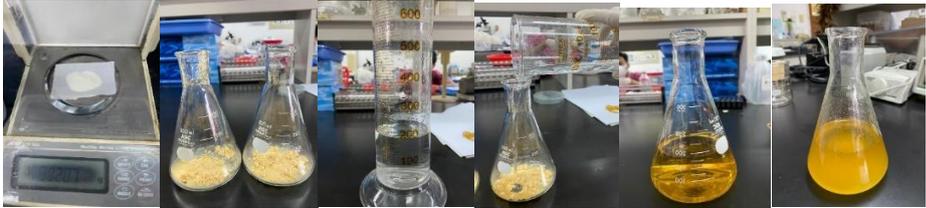


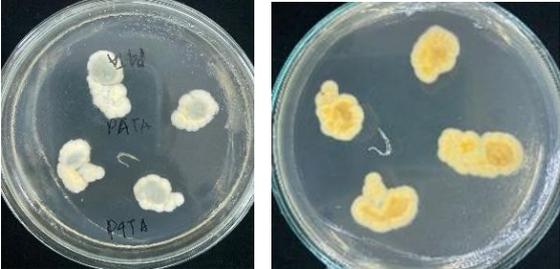
M8TB

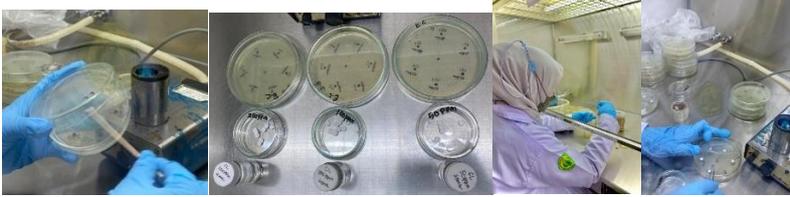


P1TB, P3TA



No.	Gambar
1	Persiapan alat-alat yang digunakan 
2	Sterilisasi alat dan bahan 
3	Pembuatan Media MEA 
4	Cek pH media

	
5	<p>Media yang sudah dibuat dituangkan ke cawan petri</p> 
6	<p>Persiapan isolat minuman fermentasi dari -80oC</p> 
7	<p>Cek makroskopik isolat minuman fermentasi yang tumbuh</p> 
8	<p>Preparasi dan mikroskop</p> 
9	<p>Pembuatan media LB padat dan cair</p> 

10	<p>Sonikasi dan penyaringan</p> 
11	<p>Sentrifugasi</p> 
12	<p>Cek OD bakteri</p> 
13	<p>Aktivitas antibakteri</p> 
14	<p>Cek warna morfologi jamur menggunakan Colour chart</p> 

#### Lampiran 4. Istilah

- **Deskripsi Karakter morfologi pada tabel 3,6,9**

<i>Circular</i>	Bentuk koloni melingkar
<i>Irregular</i>	Bentuk koloni tidak berpola
<i>Filamentous</i>	Bentuk koloni berbenang-benang
<i>Spindel</i>	Bentuk seperti lensa
<i>Powdery</i>	Permukaan kering seperti ada bubuk
<i>Mucoid</i>	Koloni basah dan lengket
<i>Cottony</i>	Mengkasas
<i>Wolly</i>	Seperti woll
<i>Velvety</i>	Premadani
<i>Entire</i>	Tepi koloni tegas dan rata
<i>Undulate</i>	Tepi koloni bergelombang
<i>serrate</i>	tepi koloni berbentuk geligi

- **Kode isolat**

No.	Kode isolat	Sumber isolat
1	M1TB	Tuak Bogor B
2	M2TB	Tuak Bogor B
3	M5TB	Tuak Bogor B
4	M7TB(1)	Tuak Bogor B
5	M7TB(2)	Tuak Bogor B
6	M8TB	Tuak Bogor B
7	M3TA	Tuak Bogor A
8	P1TB	Tuak Bogor B
9	P5TB	Tuak Bogor B
10	P6TB	Tuak Bogor B
11	P8TB	Tuak Bogor B
12	P3TA	Tuak Bogor A
13	P4TA	Tuak Bogor A

14	Y1TA	Tuak Bogor A
15	Y2TA	Tuak Bogor A
16	Y4TA	Tuak Bogor A
17	Y5TA	Tuak Bogor A
18	Y7TA	Tuak Bogor A
19	Y8TA	Tuak Bogor A
20	Y1TB	Tuak Bogor B
21	Y2TB	Tuak Bogor B
22	Y3TB	Tuak Bogor B
23	Y5TB	Tuak Bogor B

- **Istilah kode warna**

<b>Kode</b>	<b>Ket. Group</b>	<b>H.C.C</b>	<b>B.C.C</b>
11.B	<i>Yellow Group</i>	<i>Naples yellow</i> HCC 403/1	
12.A	<i>Yellow Group</i>	<i>Aureolin HCC 3</i>	
12.D	<i>Yellow Group</i>	<i>Aureolin HCC</i> 3/3,	<i>Pastel Yellow</i> BCC 232
15.A	<i>Yellow- Orange</i> <i>Group</i>	<i>Buttercup HCC 5</i>	
17.C	<i>Yellow- Orange</i> <i>Group</i>	<i>Indian Yellow</i> HCC 6/1	
19.B	<i>Yellow-Orange Group</i>	<i>Saffron Yellow</i> HCC 7/3	
20.A	<i>Yellow- Orange</i> <i>Group</i>		
22.B	<i>Yellow- Orange</i> <i>Group</i>	<i>Orange Buff HCC</i> 507	
22.C	<i>Yellow-Orange Group</i>	<i>Orange Buff HCC</i> 507/1	

23.C	<i>Yellow-Orange Group</i>	<i>Cadmium Orange</i> HCC 8/2	
131.A	<i>Green Group</i>	<i>Winchester Green</i> CC 106	
143.B	<i>Green Group</i>	<i>Scheele's Green</i> HCC 860	<i>Grass Green</i> BCC 103,
146.A	<i>Yellow-Green Group</i>		
155.A	<i>White Group</i>		
155.D	<i>White Group</i>		
157.C	<i>Green White Group</i>		
157.D	<i>Green White Group</i>		
159.A	<i>Orange-White Group</i>		<i>Honeysuckle</i> BCC 62
160.D	<i>Greyed-Yellow Group</i>		
161.A	<i>Greyed-Yellow Group</i>		
162.C	<i>Greyed-Yellow Group</i>		<i>Tuscan Yellow</i> BCC 233
165.A	<i>Greyed-Orange Group</i>		<i>Beech Brown</i> BCC 69
165.B	<i>Greyed-Orange Group</i>		<i>Almond Shell</i> BCC 67
167.A	<i>Greyed-Orange Group</i>		
177.B	<i>Greyed-Orange Group</i>		
177.C	<i>Greyed-Orange Group</i>		
190.B	<i>Greyed-Orange Group</i>		
199.A	<i>Greyed-Green Group</i>		

200.D	<i>Brown Group</i>		
202.A	<i>Black Group</i>		
202.D	<i>Black Group</i>		

- **Istilah singkatan**

PPM = Part per million
LDH = Lebar daya hambat
H.C.C = <i>Horticultural Colour Chart</i>
B.C.C = <i>British Colour Council Dictionary of Colour Standards</i>
CFU = <i>Colony Forming Unit</i>

### Lampiran 5. Analisis data

Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Minuman Fermentasi yang berpotensi terhadap *Escherichia coli*.

#### Descriptives

LDH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
K+ 50 PPM	6	15.9589	.83500	.34089	15.0826	16.8352	14.80	16.93
K+ 100 PPM	6	17.4733	.45877	.18729	16.9919	17.9548	16.73	18.06
K+ 200 PPM	6	19.6183	1.00017	.40832	18.5687	20.6679	18.06	20.86
M1TB	3	18.2200	4.85481	2.80293	6.1600	30.2800	13.00	22.60
M7TB(2)	3	13.0867	1.59676	.92189	9.1201	17.0532	12.13	14.93
P4TA	3	11.8633	.87877	.50736	9.6804	14.0463	11.20	12.86
P5TB	3	14.0833	3.40171	1.96398	5.6330	22.5337	11.26	17.86
P1TB	3	13.5300	.35341	.20404	12.6521	14.4079	13.13	13.80
P6TB	3	8.8433	.84595	.48841	6.7419	10.9448	7.93	9.60
Y1TA	3	8.1733	.79154	.45700	6.2070	10.1396	7.26	8.66
Y4TA	3	8.1400	.53507	.30892	6.8108	9.4692	7.53	8.53
Y2TB	3	10.4400	1.54700	.89316	6.5970	14.2830	8.66	11.46
Total	48	13.2801	5.33087	.76944	11.7321	14.8280	.00	22.60

#### ANOVA

LDH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1240.894	12	103.408	38.195	<.,001
Within Groups	94.759	35	2.707		
Total	1335.653	47			

## LDH

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

kode_isolat	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
K-	3	.0000							
Y4TA	3		8.1400						
Y1TA	3		8.1733						
P6TB	3		8.8433	8.8433					
Y2TB	3		10.4400	10.4400	10.4400				
P4TA	3		11.8633	11.8633	11.8633	11.8633			
M7TB(2)	3			13.0867	13.0867	13.0867	13.0867		
P1TB	3				13.5300	13.5300	13.5300		
P5TB	3				14.0833	14.0833	14.0833	14.0833	
K+ 50 PPM	6					15.9589	15.9589	15.9589	15.9589
K+ 100 PPM	6						17.4733	17.4733	17.4733
M1TB	3							18.2200	18.2200
K+ 200 PPM	6								19.6183
Sig.		1.000	.187	.078	.212	.102	.060	.095	.207

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.391.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

### Descriptives

LDH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
K+ 50 PPM	6	10.5633	.19023	.07766	10.3637	10.7630	10.33	10.86
K+ 100 PPM	6	10.7183	.46944	.19165	10.2257	11.2110	10.33	11.53
K+ 200 PPM	6	12.5867	.27354	.11167	12.2996	12.8737	12.26	13.00
M3TA	3	7.3067	.43547	.25142	6.2249	8.3884	6.86	7.73
M7TB 2	3	9.8967	3.27830	1.89273	1.7529	18.0404	7.16	13.53
P6TB	3	11.2400	.71077	.41037	9.4743	13.0057	10.80	12.06
Total	30	9.6180	3.67525	.67100	8.2456	10.9904	.00	13.53

Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Minuman Fermentasi Tuak *Staphylococcus aureus*

### LDH

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

kode_isolat	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
K-	3	.0000			
M3TA	3		7.3067		
M7TB 2	3			9.8967	
K+ 50 PPM	6			10.5633	10.5633
K+ 100 PPM	6			10.7183	10.7183
P6TB	3			11.2400	11.2400
K+ 200 PPM	6				12.5867
Sig.		1.000	1.000	.563	.141

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.818.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

### ANOVA

LDH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	367.174	6	61.196	57.353	<.,001
Within Groups	24.541	23	1.067		
Total	391.715	29			