

**SKRINING BAKTERI PADA KULIT PISANG DENGAN MENGGUNAKAN MEDIA NUTRIENT AGAR DAN BLOOD AGAR****BACTERIAL SCREENING ON BANANA SKIN BY USING NUTRIENT AGAR AND BLOOD AGAR MEDIA****Sanatang, Tiara Mayang Pratiwi Lio**

Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis STIKES Mandala Waluya Kendari

Corresponding outhor : chemist_ana82@yahoo.com

Abstrak

Pisang (*Musa paradisiaca*) merupakan salah satu komoditi terbesar produk hasil pertanian di Indonesia, namun limbah dari kulit pisang belum termanfaatkan secara optimal. Bakteri yang terdapat pada kulit pisang dapat digunakan sebagai agen dalam proses industri. Bakteri simbiosis kulit pisang dapat menghasilkan senyawa yang dapat digunakan dalam industri kesehatan, pangan dan farmasi. Penelitian ini bertujuan mengisolasi bakteri simbiosis pada kulit pisang (Mas, Kepok dan Raja) pada media Nutrien Agar dan untuk mengetahui sifat hemolisis bakteri tersebut dalam melisis sel darah merah dengan menggunakan media Blood Agar. Isolasi bakteri simbiosis pada 3 jenis kulit pisang dilakukan dengan menggunakan teknik pengenceran sampai 10^{-7} . Inokulum bakteri pada pengenceran 10^{-7} ditanam pada media Nutrien Agar dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Hasil dari penanaman bakteri diperoleh bentuk koloni yang beragam dari setiap kulit pisang yang tumbuh dalam media Nutrien Agar. Pada media Blood Agar memperlihatkan sifat hemolisis dari bakteri dan sifat patogennya. Dari hasil penanaman di Media Blood Agar terdapat 4 isolat yang bersifat hemolisis alfa (α) yaitu sampel KPM1, KPK1, KPK2, KPR1 sedangkan isolat bakteri yang bersifat hemolisis beta (β) yaitu sampel KPR2, dan isolat yang bersifat hemolisis gamma (γ) yaitu KPM2. Dari hasil menunjukkan bahwa terdapat terdapat isolat bakteri simbiosis Kulit Pisang Raja (KPR2) yang bersifat patogen.

Kata Kunci: Bakteri Simbiosis Kulit Pisang, Nutrien Agar, Blood Agar**Abstract**

Banana (*Musa paradisiaca*) are one of the largest commodity agricultural products in Indonesia, but waste from banana peels has not been optimally used. Bacteria found in banana peels can be used as agents in industrial processes. Banana skin symbiont bacteria can produce compounds that can be used in the health, food and pharmaceutical industries. This research aims to isolate symbiont bacteria on banana skin (Mas, Kepok and Raja) in nutrient media Agar and to know the hemolysis properties of the bacteria in lysis red blood cells using Blood Agar media. Isolation of symbiont bacteria on 3 types of banana peel is carried out using dilution techniques up to 10^{-7} . Bacterial inoculums at dilution 10^{-7} are planted in agar nutrient media and incubation at room temperature for 24 hours. The result of the planting of bacteria obtained a diverse colony form of each banana skin that grows in the media Nutrient Agar. In blood media Agar showed the hemolysis properties of bacteria and their pathogenic properties. From the planting in Media Blood Agar there are 4 isolates that are hemolysis alpha (α) namely samples KPM1, KPK1, KPK2, KPR1 while bacterial isolates that are hemolysis beta (β) namely KPR2 samples, and isolates that are gamma hemolysis (γ) namely KPM2. From the results showed that there are isolates of symbiont bacteria Banana Skin (KPR2) that are pathogenic.

Key Word : Banana Skin Symbiont Bacteria, Nutrient Agar, Blood Agar

Pendahuluan

Pisang (*Musa paradisiaca*) adalah salah satu komoditas utama produk pertanian di Propinsi Sulawesi Tenggara. Menurut data Badan Pusat Statistik Prov. Sulawesi Tenggara pada tahun 2018, produksi buah pisang terbanyak berada di Kabupaten Muna sebesar 70.066 kuintal per tahun disusul dengan Latar belakang penelitian tidak lebih dari 500 kata yang berisi latar belakang dan permasalahan yang akan diteliti, tujuan khusus, dan urgensi penelitian. Pada bagian ini perlu dijelaskan uraian tentang spesifikasi khusus terkait dengan skema. Kabupaten Kolaka Utara dan Kabupaten Konawe sebesar 58.984 kuintal/tahun dan 42.099 kuintal/tahun (BPS Sultra, 2019). Melimpahnya produksi buah pisang dapat menyebabkan masalah bagi lingkungan karena adanya kulit dari buang pisang. Kulit pisang merupakan salah satu limbah agroindustri yang tersedia dalam jumlah melimpah dan harga yang sangat murah. Limbah kulit pisang menyumbang sekitar 30% dari berat buah mentah utuh. Kulit pisang kaya akan karbohidrat, selulosa, vitamin, protein dan berbagai mineral (Lie dkk, 2001). Kandungan dari limbah kulit pisang berupa karbohidrat dan serat kasar sebesar 18,5 g dan 1,52 g per 100 g kulit pisang (Setiawati dkk, 2013). Dengan kandungan tersebut maka potensi untuk ditemukan bakteri pendeградasi karbohidrat cukup tinggi. Beberapa jenis bakteri yang berpotensi untuk ditemukan adalah golongan bakteri *Lactobasillus*. *Lactobasillus* merupakan salah satu bakteri probiotik yang banyak dimanfaatkan di industri kesehatan, pangan dan farmasi. Nurdyansyah dkk (2018) menyatakan bahwa tepung kulit pisang yang difermentasi dengan *Lactobasillus casei* dapat menghasilkan metabolit/free cell. Selama ini kebutuhan akan obat dan terapi semakin meningkat. Oleh karena itu, dibutuhkan obat atau terapi alternatif dengan memanfaatkan limbah di alam untuk mengurangi efek dampak lingkungan. Mikroba yang tersebar di alam adalah produsen obat/terapi yang banyak digunakan secara komersil. Meskipun obat/terapi telah banyak yang dibuat secara sintesis kimia dan rekayasa senyawa, namun alam tetap sebagai sumber utama untuk menemukan obat baru. Penelitian dalam skrining mikroroganisme untuk memperoleh senyawa aktif menjadi perhatian dunia.

Buah pisang (*Musa paradisiaca*) merupakan salah satu tanaman buah yang banyak diolah menjadi produk makanan seperti keripik pisang, pisang goreng dan sebagainya (Prabawati dkk, 2008). Buah pisang yang diolah menjadi produk makanan biasanya akan menghasilkan limbah berupa kulit pisang, pisang busuk dan bonggol pisang (Dewati, 2008). Kulit pisang sebagai salah satu biomassa merupakan sumber potensial karena secara umum mengandung karbohidrat sebesar 18,5 % yang merupakan sumber gula (Sharrock dan Lusty, 1999). Tingginya kadar karbohidrat memungkinkan ditemukannya bakteri yang potensial mendegradasi karbohidrat. Bakteri yang simbiosis dengan kulit pisang akan menghasilkan sejenis metabolit yang digunakan untuk membantu dalam proses metabolisme karbohidrat dan melindungi diri dari gangguan luar. Beberapa bakteri seperti *Enterococcus durans*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *L. curieae*, *Weissella cibaria* dan *Pediococcus acidilactici* ditemukan terdapat pada pisang (Mills dan Bone, 2002). Oleh karena itu, Penelitian ini menggunakan media Nutrien Agar untuk memperoleh isolate bakteri simbiosis kulit pisang dan Blood Agar untuk melihat sifat hemolisis dari bakteri simbiosis kulit pisang.

Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksploratif yaitu mencari dan mengidentifikasi bakteri simbiosis kulit pisang (*Musa paradisiaca*). Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu:

1. Pengambilan Limbah Kulit Pisang (*Musa paradisiaca*)

Sumber isolat bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit pisang yang hasil produk olahan makanan yang berada di dalam kota Kendari. Kulit pisang yang diambil

adalah kulit pisang yang masih segar dan belum mengalami pembusukan. Kulit pisang kemudian dimasukkan dalam plastik steril untuk dibawa ke laboratorium.

2. Isolasi Bakteri Simbion Kulit Pisang (*Musa paradisiaca*)

Bakteri simbion diisolasi dengan menggunakan metode pour plate pada media *Nutrient Agar*. Setelah masa inkubasi, dilakukan pengamatan morfologi koloni untuk menentukan isolat yang dimurnikan dengan metode spread plate. Isolat yang telah dimurnikan kemudian disimpan pada agar slant sebagai stok isolat murni untuk pengujian selanjutnya.

3. Uji Hemolisis Bakteri Simbion Kulit Pisang (*Musa paradisiaca*)

Bakteri simbion kulit pisang yang terpilih diuji pada media *Blood Agar* untuk mengetahui sifat hemolisis dari bakteri. Isolat digores di permukaan media *Blood Agar* dan diinkubasi selama 24 jam. Kemampuan hemolisis isolat ditandai dengan terbentuknya zona pada media *Blood Agar*.

Hasil Dan Pembahasan

1. Hasil Isolasi Bakteri Simbion Kulit Pisang (*Musa paradisiaca*)

Berdasarkan hasil isolasi menggunakan media nutrient agar dan pengamatan karakter morfologi koloni diperoleh sebanyak 6 isolat bakteri simbion yaitu isolat KPM1, KPM2, KPR1, KPR2, KPK1 dan KPK2 (Tabel 1).

Tabel 1. Bentuk Koloni Bakteri Simbion Kulit Pisang

No.	Kode isolat	Bentuk	Tepi	Stuktur Dalam	Permukaan	Ukuran	Warna
1	KPM.1	<i>circulair</i>	<i>Entire</i>	<i>Transparant</i>	<i>Flat</i>	0,38	Putih
2	KPM.2	<i>circulair</i>	<i>Entire</i>	<i>Transparant</i>	<i>Low convex</i>	0,18	Putih
3	KPR.1	<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Transparant</i>	<i>Low convex</i>	0,45	Putih
4	KPR.2	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	<i>Transparant</i>	<i>Low convex</i>	0,51	Putih
5	KPK.1	<i>circulair</i>	<i>Entire</i>	<i>Transparant</i>	<i>Flat</i>	0,66	Putih
6	KPK.2	<i>circulair</i>	<i>Entire</i>	<i>Transparant</i>	<i>Low convex</i>	0,12	Putih

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa bentuk koloni bakteri simbion kulit pisang berbeda-beda pada media Nutrien Agar. Dari 3 jenis kulit pisang yang digunakan diperoleh 6 bentuk koloni. Umumnya bentuk dari keenam koloni tersebut adalah bulat namun untuk sampel kulit pisang Raja memiliki 2 koloni dengan bentuk spindle dan irregular. Keenam koloni memiliki tepi dan permukaan yang sama yaitu rata sedangkan ukuran dari koloni berukuran sedang dan kecil. Pigmen warna pada keenam koloni berwarna putih. Secara umum karakter morfologi koloni belum dapat dijadikan dasar untuk identifikasi ketinggian genus, hanya dapat digunakan sebagai dasar dalam perbedaan antar isolat. Semua sel dalam koloni itu sama dan dianggap semua sel itu merupakan keturunan (progeny) satu mikroorganisme dan karena itu mewakili sebagai biakan murni. Menurut Sabdaningsih dkk. (2013) mikroba yang ditumbuhkan pada media akan menunjukkan penampakan

makroskopis yang berbeda-beda pada pertumbuhannya. Perbedaan ini disebut dengan karakteristik kultur, yang digunakan sebagai dasar untuk memisahkan mikroba dalam kelompok taksonomik.

3. Hasil Uji Hemolisis Bakteri Simbion Kulit Pisang (*Musa paradisiaca*)

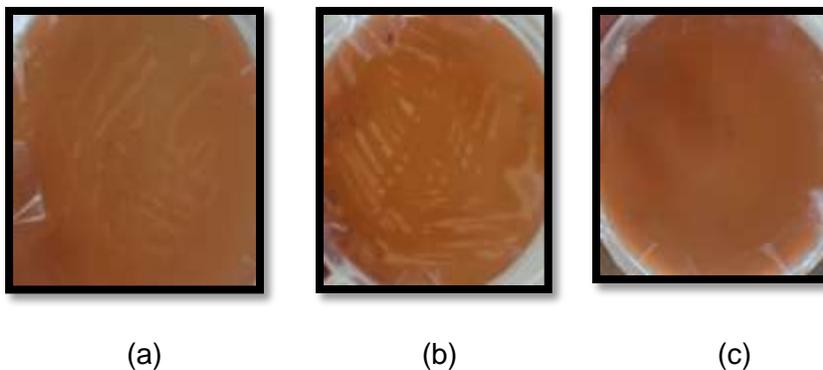
Uji hemolisis dilakukan terhadap 6 isolat yang telah berhasil dimurnikan. Seluruh isolat diuji dengan menggunakan media *Blood Agar*. Kemampuan hemolisis bakteri isolat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kemampuan Hemolisis Isolat Simbion Kulit Pisang (*Musa paradisiaca*)

No.	Kode Sampel	Hemolisis	Keterangan
1	KPM.1	α	Hemolisis Sebagian
2	KPM.2	γ	Non hemolisis
3	KPK.1	α	Hemolisis Sebagian
4	KPK.2	α	Hemolisis Sebagian
5	KPR.1	α	Hemolisis Sebagian
6	KPR.2	β	Hemolisis sempurna

Berdasarkan karakteristik pertumbuhannya pada medium BA memperlihatkan berbagai tipe hemolisa, yaitu hemolisa alfa, beta, dan gamma, (Gambar 1). Hal ini ditandai dengan terbentuknya daerah zona hemolisa (daerah bening) di sekitar koloni bakteri (Mudatsir, 2015). Dari Tabel 2 terlihat bahwa sampel dengan kode KPM2 menghasilkan hemolisis γ (gamma) yang menandakan bahwa sampel tersebut tidak mampu menghemolisis darah.

Blood Agar merupakan media yang digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam melisis darah. Bakteri penghasil enzim ekstraseluler dapat melisiskan sel darah merah pada agar (hemolisis). Aktifitas ini ditandai dengan adanya zona jernih disekeliling koloni (beta hemolisis), kehijauan (alpha hemolisis) dan untuk bakteri yang tidak menghemolisa darah tidak terjadi perubahan pada sekeliling koloni bakteri (gamma /non hemolisis) (Adzkie dkk, 2017).



Gambar 1. Uji Hemolisis pada Media Blood Agar (a) Hemolisis α (b) Hemolisis β (c) Hemolisis γ

Sampel yang menunjukkan beta hemolisis bersifat toksik karena dapat melisis sel darah hospes. Hal ini sesuai dengan penelitian Hajar dkk (2015) yang menyatakan bahwa bakteri patogen mampu menghemolisis eritrosit sehingga pada media *blood agarplate* akan terlihat zona hemolisis di sekitar koloni. Hemolisis merupakan eksoprotein yang mempunyai aktivitas enzimatis maupun toksin, sehingga bakteri yang membentuk hemolisis bersifat patogen.

Berbagai penelitian tentang pemanfaatan limbah kulit pisang sebagai sumber bakteri baru telah banyak dilakukan. Salah satunya dilakukan oleh Sukmawati (2018) yang berhasil mengisolasi bakteri selulolitik pada limbah kulit pisang. Indeks zona bening tertinggi dari isolat bakteri yang diperoleh sebesar 3 mm dan indeks zona bening terendah dari isolat bakteri adalah 0,8 mm.

Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu berdasarkan hasil isolasi bakteri dari kulit pisang diperoleh sebanyak 6 isolat bakteri (KPM1, KPM2, KPK1, KPK2, KPR1 dan KPR2) dengan karakteristik dan kemampuan hemolisis yang berbeda-beda berdasarkan uji hemolisis diperoleh bahwa isolat bakteri KPR2 tergolong dalam bakteri patogen yang ditandai dengan terbentuknya zona bening secara sempurna (hemolisis β) di sekitar koloni bakteri.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana hibah pada Penelitian Dosen Pemula ini serta kepada LPPM STIKES Mandala Waluya kendari yang telah memfasilitasi dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Adzkie Muhammad, Nunuk Aries Nurulita, Arif Budiman. 2017. Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih Pada Pasien Rawat Inap Di RSUD Prof. Dr Margono Soekarjo Purwokerto. Pharmacy, Vol.14 No. 02:247-263
- Badan Pusat Statistik Sulawesi Tenggara. 2019 (Diakses tanggal 18 Juli 2019)
- Dewati, R. 2008. Limbah Kulit Pisang Kepok sebagai Bahan Baku Pembuatan Ethanol. [monograf]. UPN, Surabaya
- Hajar , Siti., T. Zahrial Helmi , Darmawi , Al Azhar , Fakhrurrazi , Azhar. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Staphylococcus Aureus Pada Vagina Sapi Aceh. Jimvet. 2(3):341-350.
- Li, R. M., Chen, R., & Xiao, Z. C. (2001). The analysis of the nutritional components of banana peel. Journal Zhanjiang Norm Coll, 22, 42-45.
- Mills, S and K.Bone., 2002., Principles and Practice of Phytotherapy: Modern Herbal Medicine., Edinburgh, Schotland, Churral Livingstone.
- Mudatsir. 2015. Penggunaan Darah Kadarluarsa Sebagai Media Isolasi Dan Identifikasi Streptococcus Faecalis. Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh

- Nurdyansyah., Fafa Dan Umar Hafidz Asyari Hasbullah. 2018. Optimasi Fermentasi Asam Laktat Oleh *Lactobacillus Casei* Pada Media Fermentasi Yang Disubstitusi Tepung Kulit Pisang. *Journal Of Biology*, 11(1): 64-71.
- Prabawati S., Suyanti dan D.A Seytabudi. 2008. Teknologi Pascapanen dan Tekhnik Pengolahan Pisang. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian dan Pengembangan Pertanian.
- Sabdaningsih, A., Budiharjo, A., Dan Kusdiyantini, E., 2013, Isolasi Dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) Dari Perairan Kutuh Bali, *Jurnal Biologi*, Vol 2 (2):11-17.
- Sukmawati, 2018., Isolasi Bakteri Selulolitik dari Limbah Kulit Pisang. *BIOTROPIC*. Vol. 2 No. 1. Hal: 46-52.
- Setiawati, D. R., A. R. Sinaga, dan T. K. Dewi. 2013. Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok. *Jurnal Teknik Kimia* No. 1, Vol. 19, hlm. 9-15.
- Sharrock, S and C.Lusty., 1999. Nutritive Value of Banana. *INIBAP Annual Report*. 28031.