

Probiotic Antibacterial Activity Test Of Bali Salak Fruit (*Salacca zalacca* var *Amboinensis*) Against *Staphylococcus aureus*

Anak Agung Istri Mas Padmiswari^{1*} & Nadya Treesna Wulansari¹

¹Program Studi Sarjana Teknologi Pangan, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Denpasar, Bali Indonesia;

Article History

Received : December 14th, 2022

Revised : February 01th, 2023

Accepted : July 12th, 2023

*Corresponding Author:

A.A. Istri Mas Padmiswari,
Program Studi Sarjana
Teknologi Pangan, Institut
Teknologi dan Kesehatan Bali,
Denpasar, Bali, Indonesia;
Email:
anakagungpadmi@gmail.com

Abstract: One of the sources of natural antioxidants comes from salak fruit (*Salacca zalacca*). Indonesia has various varieties of salak fruit such as pondoh salak, manggala salak, granulated sugar and balinese salak. Bali salak is one of the local Balinese salak varieties. This study aims to determine the probiotic antibacterial activity test of Balinese salak fruit juice against *Staphylococcus aureus*. The method used in this study was Completely Randomized (CRD) in laboratory scale experiments (in vitro). Laboratory-scale in vitro research was carried out at the ITEKES Bali Food Engineering and Processing Laboratory and the Agricultural Technology Laboratory at Udayana University which will be carried out between August 2021 and October 2021. Testing for antibacterial activity uses the well diffusion method. NA media containing *Staphylococcus aureus* isolates. Data analysis used analysis of variance (ANOVA). The results of the study found that *Staphylococcus aureus* bacteria could be prevented by using a probiotic drink, zalacca juice.

Keywords: Salak Bali, *Staphylococcus aureus*, probiotics.

Pendahuluan

Pergeseran pola hidup manusia saat ini berdampak pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif, misalnya penyakit kardiovaskuler, diabetes melitus tipe II, hipertensi, dan kanker yang dapat dipicu oleh aktivitas radikal bebas (Suiraoaka, 2012). Adanya antioksidan dapat mengurangi atau mencegah aktivitas radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh (Afsari *et al.*, 2016). Senyawa yang dapat memperlambat atau menghentikan oksidasi senyawa lain disebut antioksidan (Prameswari dan Widjanarko, 2014). Reaksi kimia yang dikenal sebagai oksidasi dapat menghasilkan pembentukan radikal bebas, yang dapat memicu reaksi berantai yang dapat merusak sel (Astuti, 2012). Buah salak (*Salacca zalacca*) salah satu sumber antioksidan alami (Saputri *et al.*, 2022).

Jenis buah salak yang ada di Indonesia sangat banyak, antara lain salak gula pasir, salak pondoh, salak manggala, dan salak bali (Khasanah, 2016). Salak bali adalah varietas salak bali lokal. Memiliki nilai ekonomi yang

relatif tinggi, dimakan sebagai buah segar serta dimanfaatkan sebagai bahan baku industri makanan (Sukewijaya *et al.*, 2009). Proses panen buah salak Bali dilakukan pada usia 5 – 5,5 bulan pada saat seludanya terbuka (Waluyo, 2020).

Salak bali memiliki kandungan lemak 0,1 gr, vitamin C 0,4 mg, zat besi 2,1 mg, protein 0,5 gr, karbohidrat 13,6 gr, kalsium 94 mg, dan fosfor 25 mg (Karta dan Susila, 2016). Aktivitas antioksidan pada salak Bali sebesar $130,20 \pm 11,21$ $\mu\text{mol vit C/g db}$ lebih tinggi dibandingkan dengan varietas salak pondoh dan nglumut (Ariviani *et al.*, 2013). Antioksidan dalam buah salak lebih tinggi dibandingkan buah lain (Puspita & Ningsih, 2016). Minuman probiotik dapat dikembangkan dari buah salak bali karena mengandung antioksidan.

Mikroorganisme hidup yang berpotensi memberi manfaat atau meningkatkan kesehatan inang disebut dengan probiotik (WHO). Minuman probiotik memiliki efek menyehatkan karena mengandung mikroorganisme hidup (Kartika *et al.*, 2019).

Fungsi menyehatkan dari minuman probiotik diantaranya memelihara dan melindungi sistem pencernaan terutama lambung dan usus, meredakan peradangan dan iritasi saluran pencernaan, mencegah diare, dan mencegah kanker kolon (Khurniawan, 2015). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa kebiasaan mengonsumsi produk probiotik memainkan peran yang baik dalam kesehatan, terutama dalam memperkuat kerangka kerja yang aman.

Manfaat konsumsi probiotik dapat meningkatkan pertahanan terhadap kekebalan non-spesifik (Pratiwi, 2020). Minuman probiotik dapat menjaga kesehatan tubuh karena dibuat dari mikroorganisme hidup. Bakteri probiotik terkandung dalam minuman probiotik (Wulansari *et al.*, 2022). Efek kesehatan yang ditimbulkan yaitu mencegah diare dan mencegah pertumbuhan bakteri patogen (Suhartini, 2009). Proses fermentasi yang terjadi dalam minuman probiotik dapat mengubah arom, rasa, kandungan makanan, dan tekstur (Gianti & Evanuari, 2011). Hasil penelitian Tamminen *et al.*, (2013) menemukan hasil proses fermentasi mengurangi kadar gula dan mengasamkan makanan sehingga menghasilkan rasa baru.

Ekstrak buah salah dapat mencegah bakteri *Escherichia coli* (Nurina *et al.*, 2014) dan *Salmonella typhi* (Ismadi *et al.*, 2019). Senyawa antibakteri terhadap bakteri patogen gram negatif seperti *Escherichia coli* menghasilkan bakteri endofit dari daging buah salak (Nasution dan Mayasari, 2022). Jus buah juga dapat digunakan untuk membuat minuman probiotik, meskipun bahan utamanya saat ini adalah susu. Minuman probiotik berbahan dasar buah salak Bali diharapkan dapat menghasilkan produk kaya antioksidan dengan efek menguntungkan bagi sistem pencernaan, serta dapat menambah nilai jual bahan pangan khas lokal Bali.

Bahan dan Metode

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian *in vitro* skala laboratorium dilakukan di Laboratorium Rekayasa dan Pengolahan Pangan ITEKES Bali serta Laboratorium Teknologi Pertanian Universitas Udayana yang akan dilakukan pada rentang bulan Agustus 2021 hingga Oktober 2021.

Variabel penelitian

Variabel bebas akan mempengaruhi variabel terikat. Variabel bebas berupa isolat bakteri *Staphylococcus aureus* minuman probiotik sari buah salak bali. Variabel terikat dapat mempengaruhi variabel bebas. Variabel bebas adalah hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ditinjau dari diameter zona hambatan.

Alat dan bahan penelitian

Penelitian menggunakan bahan yang terdiri dari salak bali (*Salacca zalacca*), gula, stater (SCOBY), air mineral, tissue, alkohol 70%, kertas label dan aluminium foil, sarung tagan, isolat bakteri *Staphylococcus aureus*, kapur anti semut, Nutrient Agar (NA), antibiotika ampicillin, akuades steril, dan alkohol 70% dan 96%. Pembuatan minuma probiotik buah salah menggunakan alat berupa sutil kayu, pinset non logam, pisau, panci, juicer, kain serbet, karet, kertas filter, timbangan analitik, toples kaca 1 liter, kain saring, kompor, sprayer, baskom plastik, talenan, gelas ukur dan botol kemasan 250 ml.

Jenis penelitian

Percobaan skala laboratorium (*in vitro*) menggunakan eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian menggunakan konsentrasi gula 10% dengan perlakuan lama fermentasi 0,3,6,9,12, 15 dan 18 dengan masing-masing tiga kali ulangan.

Instrumen penelitian

Instrumen yang digunakan dalam mengamati dayaambat bakteri terdiri dari alat pelubang (*cork borer*), bunsen, *autoclave*, gelas beaker, cawan petri, tabung erlemeyer, timbangan analitik, penangas, spatula, pipet, *laminar air flow*, inkubator, kapas, kamera dan alat tulis.

Prosedur penelitian

Proses pembuatan sari buah

Salak Bali dikupas dan bijinya dibuang, lalu dicuci bersih. Setelah dibersihkan, salak ditimbang dan dipotong-potong dengan diameter sekitar 2 cm. Kemudian, salak dan air digabungkan dengan perbandingan 1:1.

Campuran tersebut kemudian diayak, dipanaskan selama sepuluh menit pada suhu 50°C, dan gula ditambahkan dengan perbandingan satu banding empat ke dalam campuran. Kemudian, pada saat itu, dibersihkan dan didinginkan.

Fermentasi sari buah

Sari buah salak yang sudah dingin sebanyak 1 liter dituangkan dalam toples kaca. Menambahkan strater SCOBY dan menutup rapat menggunakan kain serbet serta diikat. Saat waktu perlakuan, toples kaca dидiamkan pada suhu ruang. Selanjutnya, fermentasi sari buah salak dipisahkan dari lapisan selulosa. Menyaring sari buah salah agar terpisah dari residu yang ada pada sari buah salak disaring.

Proses pembuatan inokulum mikroba uji

Pembuatan inokulum *Staphylococcus aureus* dengan menginokulasikan 1 ose koloni murni bakteri berumur 24 jam ke dalam 5 ml aquades steril dalam Erlenmeyer 50 ml. Mengambil sebanyak 1 ml biakan bakteri yang telah diencerkan. Memasukkan bakteri pada tabung reaksi pertama berisi aquades steril 9 ml, sehingga volumenya menjadi 10 ml. Tabung tersebut disebut dengan pengenceran 10⁻¹. Selanjutnya, mengambil 1 ml pada pengenceran 10⁻¹ dan memasukkannya pada tabung kedua, begitu seterusnya sampai pengenceran 10⁻⁹ (Widiyanti, 2004). Pengenceran bakteri yang digunakan dalam penelitian adalah sampel dengan pengenceran 10⁻⁵. Hal ini dikarenakan pada pengenceran 10⁻⁵ pertumbuhan koloni bakteri paling merata. Metode *pour plate* digunakan untuk mengambil 1 ml bakteri pada pengenceran 10⁻⁵ dan ditanami pada media Nutrient Agar (NA) (Pelczar *et al.*, 1993).

Uji antagonis minuman probiotik buah salak bali terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Metode sumur difusi digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri. Menggunakan *cork borer* 5 mm, media NA yang mengandung isolat *Staphylococcus aureus* dibentuk menjadi sumur difusi. Sumur difusi dimasukkan sebanyak 20 µL sari buah salah dengan fermentasi 3 dan 6 hari dan pada kontrol negatif dimasukkan aquades dan kontrol positif dimasukkan antibiotika ampisillin. Melakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Daya hambat dan

dilakukan pengukuran diameter yang terbentuk setelah masa inkubasi selesai.

Analisis data

Analisis sidik ragam (ANOVA) digunakan untuk menganalisis data. Uji jarak berganda *Dunca's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf nyata 5% dilakukan apabila ada perbedaan pada $p < 0,05$.

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Efektivitas minuman probiotik sari buah salak bali terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* diukur menggunakan diameter zona hambat. Peningkatan lama proses fermentasi dimulai pada fermentasi hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12, ke-15, dan ke-18. Diameter zona hambatan yang dihasilkan dari minuman probiotik ini merupakan data utama dalam penelitian ini. Senyawa bioaktif minuman probiotik sari buah salak dan kandungan SCOBY menghasilkan zona hambat, atau area kosong, yang mengelilingi sumur difusi. Hasil pengukuran daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata daya hambat yang terbentuk pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Waktu fermentasi	Rata-rata
0 hari	0,00 ± 0,00
3 hari	0,00 ± 0,00
6 hari	6,12 ± 0,17
9 hari	6,43 ± 0,24
12 hari	6,68 ± 0,28
15 hari	8,85 ± 0,37
18 hari	0,00 ± 0,00

Hasil pengujian menemukan adanya variasi rata-rata daya hambatan, dilihat dari lamanya pematangan minuman probiotik bahan alam salak (Tabel 1). Fermentasi hari ke-0 dan ke-3 tidak menghambat pertumbuhan bakteri. Rata-rata daya hambat hari ke-6 dan ke-9 yaitu 6,12 ± 0,17 mm dan 6,43 ± 0,24 mm. Daya hambat pada hari ke-12 sebesar 6,68 ± 0,28 mm. Fermentasi ke-15 menghasilkan daya hambat tertinggi pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 8,85 ± 0,37 mm. Berbeda jauh dengan hari ke-18 yang tidak menunjukkan hambatan apapun.

Fermentasi hari ke-0 dan ke-3 tidak terdapat zona hambat karena waktu fermentasi minuman probiotik buah salak yang relative singkat sehingga zat yang terdapat pada buah salak belum menunjukkan reaksinya terhadap bakteri tersebut. Zona hambat mulai terbentuk pada fermentasi hari ke-6, ke-9, dan ke-12. Ukuran daya hambat yang terbentuk pada suatu antibakteri bersifat lemah, sedang, kuat dan sangat efektif terhadap pertumbuhan bakteri. Daya hambat dengan kategori sedang terbentuk pada hari ke-6, k-9, dan ke-12.

Daya hambat paling tinggi terbentuk pada hari ke-15 sebesar $8,85 \pm 0,37$ mm. Namun daya hambat ini juga masih dalam kategori sedang. Perubahan besar terjadi pada hari ke 18 dimana tidak ditemukan daya hambat dari fermentasi minuman probiotik buah salak. Hal ini diduga disebabkan oleh lamanya waktu fermentasi. Hilangnya daya hambat pada hari ke 18 mungkin juga disebabkan oleh faktor lain seperti temperatur inkubasi, waktu pengeringan/pengeringan suspensi dan kekeruhan suspensi.

Daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus dapat dihentikan pertumbuhannya dengan minuman probiotik yang terbuat dari sari buah salak Bali. Proses penghambatan terjadi karena adanya campuran dinamis tanin, alkaloid, dan flavonoid buah salak. Sifat antimikroba hadir dalam senyawa dinamis. Cara kerja senyawa flavonoid sebagai antimikroba dengan menghambat membran sel melalui pembentukan senyawa kompleks (Rante *et al.*, 2017). Senyawa tersebut menghambat metabolisme energi bakteri dengan mencegah bakteri menggunakan oksigen dan merusak membran sel bakteri. Tanin adalah senyawa fenolik dengan gugus hidroksil dan gugus terkait seperti gugus karboksil yang bekerja dengan baik untuk membentuk kompleks dengan protein dan makromolekul lainnya (Assya *et al.*, 2022).

Tanin berbahaya bagi organisme mikroskopis, parasit dan ragi. Toksisitas tanin sebagai antibakteri karena dapat mengendurkan dinding sel atau lapisan sel, mengganggu kekeruhan sel bakteri, dan menahan perkembangannya disebabkan oleh pergerakan fenolat yang merupakan koagulan protein (Rante *et al.*, 2017). Kemampuan ekstrak buah salak

untuk menghentikan pertumbuhan bakteri sudah banyak dilaporkan. Salah satunya Nurina (2014) melaporkan ekstrak buah salak dapat mencegah pertumbuhan *Escherichia coli*. Ekstrak buah salak Bali efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Esherichia coli* (Wulansari *et al.*, 2022). Pertumbuhan antibakteri yang optimal terlihat pada fementasi hari ke-15 (Wulansari *et al.*, 2021).

Kesimpulan

Minuman sari buah salak probiotik berpotensi menghentikan pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Fermentasi hari ke-15 terlihat terbentuknya inhibisi kategori tinggi. Fermentasi ke-6, ke-9, dan ke-12 kemudian terlihat terbentuknya inhibisi kategori sedang. Penting untuk melakukan penelitian tentang lama waktu penuaan yang ideal untuk mendapatkan pengendalian diri yang tinggi.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Institut Teknologi dan Kesehatan Bali yang sudah memberikan dana hibah penelitian.

Referensi

- Afsari, R. Kusmiyati, Merta, IW. (2016). Pengaruh pemberian ekstrak daun sirih merah (*piper crocatum*) terhadap penurunan kadar gula darah mencit (*mus musculus*). *Jurnal biologi tropis*. 16 (1): 49-55. DOI: 10.29303/jbt.v16i1.216
- Arivianti, S., & Parnanto, N. H. R. (2013). Kapasitas antioksidan buah salak (*Salacca edulis* REINW) kultivar pondoh, nglumut dan Bali serta korelasinya dengan kadar fenolik total dan vitamin C. *Agritech*, 33(3), 324-333. DOI: <https://doi.org/10.22146/agritech.9555>
- Assya, A. A., Ikhlas, O., Putri, N. P., & Niawanti, H. (2022). Pengaruh Pengeringan Terhadap Kadar Tanin Teh Herbal Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*). *jurnal ATMOSPHERE*, 3(1), 1-7. DOI: <https://doi.org/10.36040/atmosphere.v3i1.4654>
- Astuti, S. (2012). Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal

- bebas. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 13(2), 126-136. DOI: <http://dx.doi.org/10.23960/jtihp.v13i2.126%20-%20136>
- Gianti, I., & Evanuarini, H. (2011). The effect of sugar addition and time of storage on physical quality of fermented milk. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*, 6(1), 28-33. URL: <https://jitek.ub.ac.id/index.php/jitek/article/view/95>
- Ismadi, I. T., Pestariati, P., & Astuti, S. S. E. (2019). Uji Antibakteri Ekstrak Buah Salak (*Salacca Edulis*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi* Secara In Vitro. *Analisis Kesehatan Sains*, 8(1).
- Karta, I. W., & Susila, E. (2015). Kandungan gizi pada kopi biji salak (*Salacca Zalacca*) produksi kelompok tani abian salak desa sibetan yang berpotensi sebagai produk pangan lokal berantioksidan dan berdaya saing. *VIRGIN: Jurnal Ilmiah Kesehatan Dan Sains*, 1(2). URL: <https://jurnal.undhirabali.ac.id/index.php/virgin/article/view/60>
- Kartika, K., Rahayuningsih, M., & Setyaningsih, D. (2019). Karakteristik Kefir Dengan Penambahan Puree Umbi Gembili. *EDUFORTECH*, 4(2). DOI: <https://doi.org/10.17509/edufortech.v4i2.19372>
- Khasanah, N. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Biji Salak Pondoh (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss.) dengan Menggunakan Metode DPPH. *Skripsi*. Universitas Islam Indonesia.
- Khurniawan, A. (2015). Pangan Fungsional dan Kesehatan. *JAMC idea's*, 2(1).
- Nasution, R. A., & Mayasari, U. (2022). Uji Potensi Bakteri Endofit Dari Daging Buah Salak Pondoh (*Salacca Edulis*) Dan Salak Padangsidempuan (*Salacca Sumatrana*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Escherichia coli*. *KLOROFIL: Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 6(2), 21-24. DOI: <http://dx.doi.org/10.30821/kfl:jibt.v6i2.12354>
- Nurina, C. I. E., Samingan, S., & Iswadi, I. (2014). Uji Antimikroba Ekstrak Buah Salak (*Salacca edulis*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Biologi Edukasi: Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 6(1), 19-23. URL: <https://jurnal.usk.ac.id/index.php/JBE/article/view/2271>
- Prameswari, O. M., & Widjanarko, S. B. (2014). Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan dan agroindustri*, 2(2), 16-27.
- Pratiwi, A. R. (2020). *Pangan Untuk Sistem Imun*. SCU Knowledge Media.
- Puspitasari, E., & Ningsih, I. Y. (2016). Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Varian Gula Pasir Menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 13(1), 116-126. URL: <https://jurnalnasional.ump.ac.id/index.php/PHARMACY/article/view/893>
- Rante, B. K., Assa, Y. A., & Gunawan, P. N. (2017). Uji daya hambat getah kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *e-GiGi*, 5(2). URL: <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/e-gigi/article/view/17127>
- Saputri, R. K., Albari, A., & Nisak, S. C. (2022). Pengaruh Basis Minyak Terhadap Karakteristik Dan Daya Bersih Sabun Transparan Ekstrak Kulit Salak (*Salacca Zalacca*): The Effect Of Oil Clening Power Of Transparent Soap Snakefruit Rind Extract (*Salacca zalacca*). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(2), 245-254. DOI: <https://doi.org/10.37874/ms.v7i2.311>
- Suhartini. (2009). Prospek ubi jalar sebagai bahan baku minuman probiotik. *Jurnal Iptek Tanaman Pangan*, 4, 169-180.
- Suirakoa, I. P. (2012). *Penyakit degeneratif*. Yogyakarta: Nuha Medika, 45(51).
- Sukewijaya, I. M., Rai, I. N., & Mahendra, M. S. (2009). Development of salak bali as an organic fruit. *Asian Journal of Food and Agro-Industry, special Issue*, 37-S43.
- Tamminen, M., Salminen, S., Ouweland, A.C., (2013). Fermentation of carrot juice by probiotics: viability and preservation of adhesion. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 2, 10-15.

Tim Biofarmaka IPB. (2006). *Studi Pemetaan Tanaman Obat di Sentra Produksi Pulau Jawa. Kerjasama BPOM, LPPM, IPB dan Pusat Studi Biofarmaka*. Bogor.

Waluyo, T. (2020). Analisis Pendapatan Dan Nilai Tambah Pengolahan Wine Salak Di Desa Sibetan, Karangasem, Bali. *Jurnal Ilmu dan Budaya*, 41(71). DOI: <http://dx.doi.org/10.47313/jib.v41i71.961>

Wulansari, N. T., Padmiswari, A. I. M., & Damayanti, I. A. M. (2022). The Effectiveness Probiotic Drink of Salak Bali (*Salacca zalacca*) in Inhibiting Growth of

Escherichia coli. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(3), 934-939. DOI: 10.29303/jbt.v22i3.3515

Wulansari, N. T., Padmiswari, A. I. M., Gandamayu, I. B. M., Suryati, N. W. N., & Raningsih, N. M. 2022. Edukasi Masyarakat Tentang Potensi Minuman Probiotik Sari Buah Salak Bali (*Salacca zalacca*) Sebagai Antibakteri Di Desa Sumerta Kelod. *Jurnal Abdimas ITEKES Bali*, 2(1), 68-73. DOI: <https://doi.org/10.37294/jai.v2i1.447>