

SUKSESI BAKTERI PADA FERMENTASI KULIT BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr)

BACTERIAL SUCCESSION IN PINEAPPLE PEEL FERMENTATION (Ananas comosus (L.) Merr)

Irna W. Pelealu¹, Helen J. Lawalata², Anita C. Tengker³, Herry M. Sumampow⁴, Danny Posumah⁵

ABSTRACT

*The utilization of pineapple peel in the fermentation process produces bacteria and probiotics that are beneficial for human health. The fermentation process is carried out to enhance the nutrition, shelf life, and organoleptic properties of food products. The presence of microbes, especially bacteria, is believed to play an important role in the fermentation process of pineapple peel. However, the specific bacteria involved in the fermentation of pineapple peel are not yet fully known. The aim of this research is to study the bacterial succession during the fermentation of pineapple peel (*Ananas comosus* (L.) Merr) and to identify the types of bacteria obtained during the fermentation process. This research uses a qualitative descriptive laboratory-based method by conducting morphological identification of bacteria and biochemical testing to determine the types of bacteria present in the fermentation of pineapple peel. Based on the identification data, 11 bacterial isolates were found during the fermentation of pineapple peel. The isolates were identified macroscopically and then subjected to a series of biochemical tests. The results of the research indicate that the microorganisms involved in the fermentation of pineapple peel belong to the genera *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., and *Lactobacillus* sp.. The microbial succession during pineapple peel fermentation shows that the bacterial population of the genus *Staphylococcus* sp. dominates on day 0 of fermentation, while the genus *Bacillus* sp. undergoes a succession pattern, experiencing growth on day 1 and continuing to increase until day 3. Meanwhile, bacteria from the genus *Lactobacillus* sp. only appeared on day 1 of fermentation.*

Keywords: *Bacterial Succession, Pineapple Peel, Fermentation.*

¹Department of Biology Education
Manado State University
Indonesia
irnawpelealu@gmail.com

²Department of Biology Education
Manado State University
Indonesia
lawalata_helen@yahoo.com

³Department of Biology Education
Manado State University
Indonesia
anitatenker@gmail.com

⁴Department of Biology Education
Manado State University
Indonesia

⁵Department of Biology Education
Manado State University
Indonesia
dannyposumah@unima.ac.id

1. PENDAHULUAN

Buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) merupakan salah satu jenis buah yang tersebar luas di seluruh Indonesia. Pada umumnya, pemanfaatan buah nanas terbatas hanya pada daging buahnya, yang diolah menjadi produk seperti jus, selai, salad, dan sirup. Namun, hanya sekitar 53% dari buah nanas yang dapat dikonsumsi, sedangkan 47% sisanya adalah kulit yang biasanya dibuang setelah proses pengupasan. Hal ini menyebabkan limbah dalam jumlah besar dari proses pengolahan buah nanas^[1]. Kulit nanas mengandung vitamin C, karotenoid, serta flavonoid, namun seringkali hanya dianggap sebagai limbah^[2]. Selain itu, kulit nanas memiliki kadar bromelain yang tinggi.^[3] Mengingat kulit nanas memiliki kandungan senyawa yang bermanfaat bagi tubuh, maka potensinya dapat dikembangkan menjadi produk bernilai ekonomis tinggi yang bisa diterima oleh konsumen.

Keunggulan kulit buah nanas terletak pada kandungan flavonoid dan bromelain yang cukup tinggi. Flavonoid berfungsi sebagai senyawa antioksidan, sedangkan enzim bromelain memiliki berbagai aktivitas, seperti anti-edema (mencegah pembengkakan akibat gangguan organ), anti-trombotik, dan anti-inflamasi (mengurangi peradangan)^[4]. Sebagai limbah organik, kulit nanas kaya akan nutrisi dan dapat didaur ulang untuk dijadikan makanan atau minuman. Salah satu metode pengolahan yang bisa diterapkan adalah fermentasi kulit nanas sebagai alternatif pemanfaatan limbah ini.

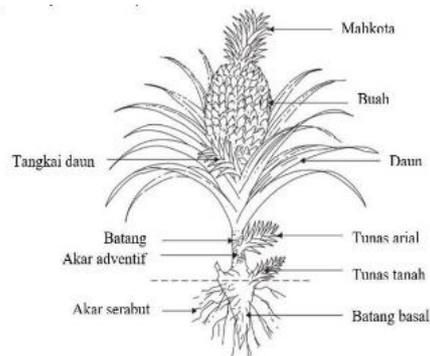
Fermentasi merupakan metode pengolahan bahan pangan dengan bantuan mikroorganisme, di mana karbohidrat dalam bahan pangan diubah menjadi asam atau alkohol. Fermentasi kulit nanas

menghasilkan bakteri dan probiotik yang berperan dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh, memperlancar pencernaan, dan mencegah peradangan pada usus, yang tentunya sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia. Salah satu contoh produk fermentasi berbahan kulit nanas adalah tepache. Proses fermentasi ini bertujuan untuk meningkatkan kandungan nutrisi, memperpanjang masa simpan, serta memperbaiki karakteristik organoleptik bahan pangan. Meskipun mikroorganisme, khususnya bakteri, diyakini memiliki peran penting dalam fermentasi kulit nanas, jenis-jenis bakteri yang terlibat dalam proses tersebut hingga saat ini belum sepenuhnya diketahui. Untuk itu, penulis mengangkat judul “Suksesi bakteri pada fermentasi kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)”.

2. KAJIAN PUSTAKA

Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Nanas adalah tanaman herba tahunan dari kelas monokotil yang dapat tumbuh dalam berbagai musim. Tumbuhan ini berkembang melalui tunas samping yang membentuk cabang vegetative dari mana buah dihasilkan (Gambar 1). Nanas merupakan buah majemuk yang terdiri dari 100 hingga 200 bunga yang menyatu dalam bentuk bulat panjang. Buah nanas berwarna hijau dan berubah menjadi kuning saat matang, dengan rasa bervariasi dari asam hingga manis. Buah nanas memiliki mahkota terbuka, mata buah besar, dan aroma khas ketika siap dipanen^[5].



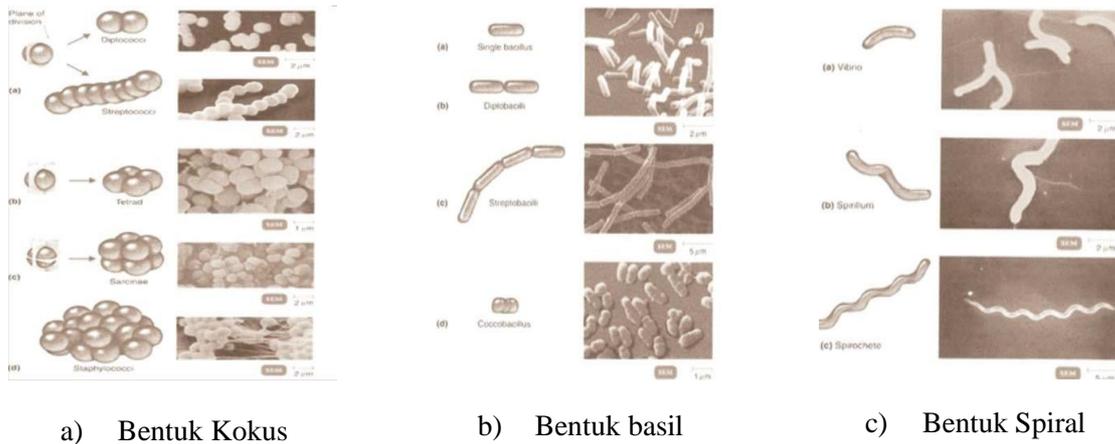
Gambar 1. Morfologi Tanaman Nanas

Fermentasi

Fermentasi merupakan proses kimia di mana substrat organik diubah melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme^[6]. Dalam proses ini, starter yang terdiri dari populasi mikroorganisme diperlukan untuk diinokulasikan ke media fermentasi dengan jumlah dan kondisi fisiologis tertentu^[7]. Berbagai enzim, seperti amilase, protease, dan lipase, berperan dalam mengubah polisakarida, protein, dan lemak menjadi komponen yang lebih stabil, seperti asam, alkohol, karbon dioksida, peptida, asam amino, dan asam lemak. Perubahan ini mempengaruhi tekstur, aroma, dan rasa produk akhir, menjadikannya berbeda dari produk awal. Fermentasi dapat dilakukan secara spontan, tanpa penambahan mikroorganisme, atau tidak spontan, dengan penambahan starter. Mikroorganisme aktif selama proses ini untuk mengubah bahan yang difermentasi menjadi produk akhir yang diinginkan^[6]. Keberhasilan fermentasi tergantung pada jenis organisme yang digunakan, serta faktor-faktor seperti suhu, pH awal, inokulum, substrat, dan kandungan nutrisi medium^[8].

Bakteri

Bakteri dapat diukur menggunakan satuan mikrometer (μm), ukuran sel bakteri berkisar antara 0,2 sampai 2,0 μm . Terdapat 3 bentuk dasar bakteri berdasarkan sel bakteri yakni bentuk kokus, basil dan spiral^[9] (Gambar 2).



Gambar 2. Bentuk Sel Bakteri^[9]

Tidak hanya itu, terdapat juga struktur tambahan bakteri berupa cambuk (*flagella*), kapsul (*capsule*), endospore (*endospore*). Struktur bakteri cambuk (*flagella*) memiliki bentuk seperti rambut dan bentuknya tipis, biasanya ditemukan pada sel bakteri yang berbentuk basil^[10]. Bakteri dengan struktur kapsul dapat diidentifikasi dengan mudah oleh manusia. Sementara, bakteri dengan struktur endospora merupakan bakteri yang memiliki ketahanan terhadap lingkungan fisik, karena adanya kompleks asam dipikolat-kalsium-peptidoglikan dan selubung spora yang impermeabel.

Seperti halnya makhluk hidup, bakteri juga dapat berkembang biak, dan pertumbuhannya dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti nutrisi, pH, suhu, oksigen, serta kelembapan. Identifikasi bakteri dapat dilakukan melalui pengujian morfologi, fisiologi, serta uji biokimia. Proses ini melibatkan perincian, deskripsi, dan perbandingan yang rinci dengan mikroorganisme sejenis

Uji Morfologi Bakteri

Pengamatan morfologi bakteri dibagi menjadi makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis, koloni dinilai berdasarkan bentuk, permukaan, tepi, dan warna yang dapat dilihat dengan mata, seperti bentuk circular atau warna keputihan. Mikroskopis melibatkan pengamatan pergerakan, pembelahan biner, serta bentuk dan ukuran sel yang berubah saat fiksasi dan pewarnaan. Pewarnaan gram membedakan bakteri gram positif, yang mempertahankan warna ungu karena dinding selnya tebal dan rendah lipid, dari gram negatif, yang berwarna merah karena kristal violet larut dalam alkohol

Uji Fisiologi Bakteri

Pengamatan fisiologi bakteri dilakukan untuk mengidentifikasi jenis bakteri berdasarkan aktivitas atau pergerakan selularnya. Uji motilitas dapat digunakan untuk mempelajari pergerakan bakteri^[12]. Pengamatan fisiologis ini melibatkan berbagai uji biokimia.

Uji Biokimia Bakteri

Uji biokimia bertujuan untuk mengamati kandungan kimia dalam sel bakteri, cara sel mengolah senyawa tersebut, dan interaksi kimia yang terjadi. Uji ini mengungkapkan sifat fisiologis bakteri yang tidak bisa dilihat dari morfologinya saja. Contoh uji biokimia adalah uji sitrat, yang menunjukkan apakah bakteri memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon^[17], melalui proses perubahan warna dari hijau menjadi biru yang diakibatkan oleh penggunaan sitrat, yang menyebabkan asam menghilang dan

meningkatkan pH^[14]. Selain itu, uji motilitas mengukur pergerakan bakteri dengan menggunakan *reagen test*, dengan hasil positif menandakan adanya flagel^[15], sementara uji katalase mendeteksi enzim katalase dengan munculnya gelembung setelah penambahan hidrogen peroksida^[11].

Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan bakteri membentuk endospora dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti kekurangan nutrisi atau kekeringan medium. Pewarnaan ini menggunakan *malachite green* untuk menyoroti endospora dan safranin untuk mengontraskan sel vegetatif^[18], di mana hasil positif akan menunjukkan endospora berwarna hijau^[19].

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari-Mei 2024, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Manado.

3.2 Alat dan Bahan

Alat: Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *magnetic stirrer*, *hot plate*, timbangan analitik, *autoclave*, inkubator, vortex, cawan petri, tabung reaksi, tube, Erlenmeyer, jarum ose, pipet tetes, mikropipet, tip, mortar dan alu, Bunsen, mikroskop, *Laminar Air Flow*, kaca objek, penjepit kaca objek, botol semprot, aluminium foil, masker, kertas, kapas, tisu, dan sarung tangan.

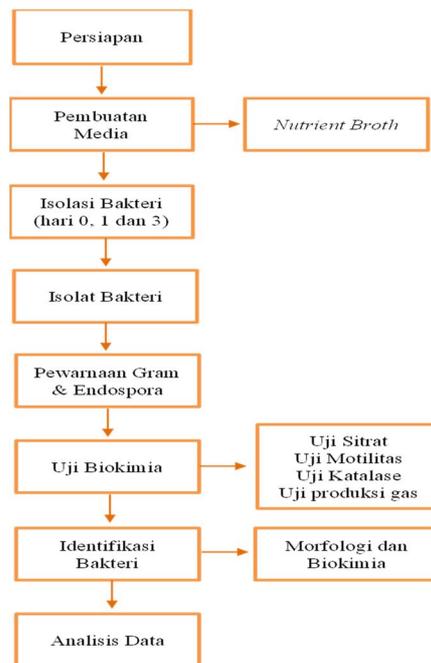
Bahan: Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi media *Nutrient Broth* (NB), agar-agar, media *Simmon's citrate agar*, akuades, *crystal violet*, larutan iodine, safranin, alkohol 96%, hidrogen peroksida (H₂O₂), *malachite green*, spiritus, serta sampel fermentasi kulit buah nanas.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian deskriptif kualitatif berbasis laboratorium dengan melakukan identifikasi bakteri secara morfologi dan pengujian biokimia untuk mengetahui jenis bakteri pada fermentasi kulit buah nanas.

3.1.1 Rancangan dan Diagram Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara bertahap yaitu meliputi tahap pembuatan Fermentasi dari kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr), tahap isolasi bakteri, kemudian analisis mikrobiologis dan uji biokimiawi (Gambar 3).



Gambar 3. Diagram Penelitian

3.1.2 Prosedur Penelitian

1. Preparasi/Tahapan Persiapan Sampel

Buah nenas yang telah diperoleh dicuci terlebih dahulu, kemudian kulitnya dikupas dan dimasukkan ke dalam wadah atau toples. Selanjutnya, gula merah dilarutkan dengan cara dimasak bersama air sambil diaduk hingga mendidih dan gula larut sepenuhnya. Setelah larutan gula mendidih, biarkan hingga dingin sebelum dituangkan ke dalam toples yang berisi kulit nenas. Pastikan kulit nenas terendam seluruhnya dalam air, karena kulit yang tidak terendam dan terkena udara akan membusuk. Aduk campuran gula dan air hingga merata. Tutup wadah dengan kain yang diikat menggunakan karet atau tali, kemudian fermentasi dilakukan selama 3 hari dengan pengambilan sampel pada hari ke-0, hari ke-1, dan hari ke-3.

2. Isolasi Bakteri

Langkah pertama adalah mengambil 5 gram sampel kulit nenas yang telah dihaluskan, kemudian sampel tersebut dimasukkan ke dalam 50 ml akuades steril. Selanjutnya dilakukan proses pengenceran bertingkat hingga konsentrasi 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} . Dengan metode pour plate, hasil pengenceran dituangkan ke dalam cawan petri dan ditambahkan medium NB (*Nutrient Broth*) yang dicampur dengan agar. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 hari hingga terbentuk koloni bakteri. Setiap koloni yang menunjukkan perbedaan morfologi diisolasi, kemudian dilakukan proses pemurnian. Koloni yang telah diisolasi dimurnikan pada medium NB dan agar menggunakan metode streak quadran hingga didapatkan koloni yang terpisah ^{[16][17]}.

3. Pewarnaan Gram

Langkah awal dalam membuat apusan bakteri adalah membersihkan kaca objek dengan alkohol 70% dan tisu untuk menghilangkan noda. Setelah itu, jarum ose disterilkan di atas api Bunsen dan dibiarkan dingin. Bakteri diambil menggunakan jarum ose, diletakkan di tengah kaca objek yang sudah diberi akuades steril, lalu diratakan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Selanjutnya, apusan bakteri difiksasi dengan melewatkannya di atas nyala Bunsen. Untuk pewarnaan Gram, *crystal violet* ditetaskan ke apusan bakteri selama 1 menit, dibilas dengan akuades, kemudian iodine ditambahkan selama 1 menit dan dibilas kembali. Alkohol 98% digunakan sebagai *decolorizer* selama

30 detik sebelum dibilas lagi, dan akhirnya safranin ditambahkan selama 1 menit. Setelah dibilas dan dikeringkan, apusan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x untuk mencatat bentuk sel dan sifat Gram^[9].

4. Pewarnaan Endospora

Satu ose biakan murni bakteri diambil dan disuspensikan dalam akuades di atas kaca objek. Preparat tersebut kemudian difiksasi di atas api Bunsen. *Malachite green* diteteskan ke preparat dan didiamkan selama 10 menit di atas penangas air. Setelah itu, preparat diangkat, didinginkan, dan dibilas dengan air mengalir. Kemudian, satu tetes safranin ditambahkan dan dibiarkan selama 30 detik sebelum dibilas lagi dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat diamati di bawah mikroskop. Hasil positif ditunjukkan oleh sel vegetatif berwarna merah dan spora yang berwarna hijau^[9].

5. Uji Biokimia

a. Uji Sitrat

Media *Simmon's citrate agar* ditimbang sebanyak 0,50 gram, kemudian dilarutkan dalam 21 mL akuades di dalam erlenmeyer. Setelah itu, media disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah selesai, media dikeluarkan dan didinginkan pada suhu ruangan dalam posisi setengah miring hingga memadat. Selanjutnya, isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose, ditusukkan hingga $\frac{3}{4}$ bagian media, lalu digores pada bagian miring media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Uji Motilitas

Media uji motilitas dibuat dengan mencampurkan *Nutrient Broth* dan 75% agar-agar sehingga menghasilkan media semi-solid^[14]. Isolat yang sudah dimurnikan diambil menggunakan satu ose, kemudian digoreskan pada medium agar miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

c. Uji Katalase

Sebanyak 0,17 gram *Nutrient Broth* ditimbang dan dilarutkan dalam 21 mL akuades di dalam erlenmeyer. Setelah itu, media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media tersebut kemudian dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 7 mL. Isolat bakteri diambil secara aseptik menggunakan jarum ose dan diinokulasikan ke dalam media, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, ditambahkan 5 tetes H₂O₂ 3% ke dalam tabung reaksi.

d. Uji Produksi Gas

Uji produksi gas dilakukan untuk menentukan apakah bakteri bersifat homofermentatif atau heterofermentatif. Tabung reaksi yang dilengkapi dengan tabung Durham diisi dengan 5 ml media *Nutrient Broth*. Isolat bakteri kemudian diinkubasi secara aerob pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika hasil uji positif, akan terbentuk gelembung udara di dalam tabung Durham akibat produksi CO₂, serta media akan tampak keruh.

e. Identifikasi

Identifikasi bakteri dilakukan menggunakan panduan dari buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* edisi ke-9^[20].

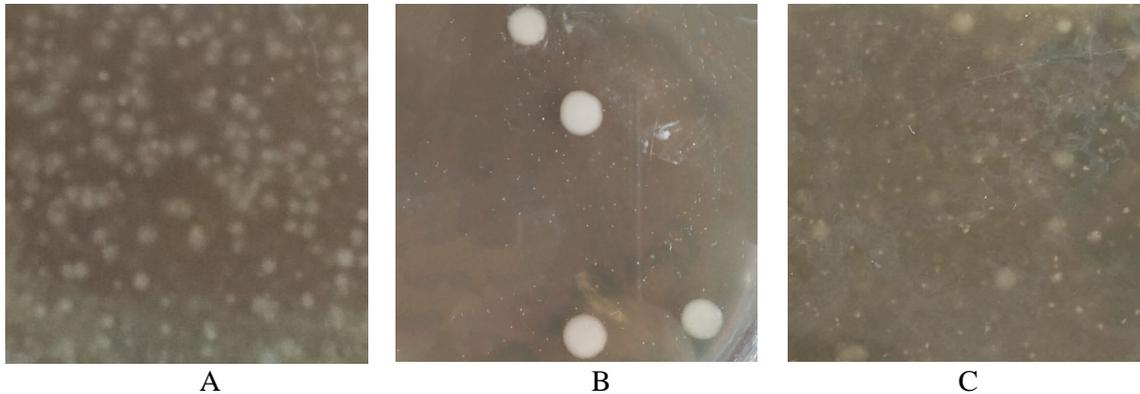
3.1.3 Analisis Data

Data-data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif kualitatif yang disajikan dalam bentuk tabel dan paragraf dengan melakukan identifikasi bakteri meliputi karakteristik makroskopik yang terdiri dari bentuk serta warna koloni, dan karakteristik mikroskopis yang dapat diamati meliputi bentuk sel, dan pewarnaan dari isolat bakteri yang diperoleh secara morfologi dan pengujian biokimia untuk mengetahui jenis bakteri pada fermentasi kulit buah nanas.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dari kulit nanas dilakukan melalui metode pengenceran hingga seri 10⁻⁷ untuk mengurangi jumlah mikroba. Setelah itu, sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 hari. Koloni yang memiliki ciri fisik berbeda kemudian dimurnikan menggunakan medium NB dan agar dengan metode quadran streak hingga diperoleh koloni yang terpisah (Gambar 4).



Gambar 4 Koloni Bakteri Pada Fermentasi Kulit Buah Nanas: A. Isolasi hari 0; B. Isolasi hari 1; C. Isolasi hari 3

Perubahan pH merupakan faktor penting dalam suksesi bakteri, di mana setiap spesies bakteri memiliki rentang pH optimal. Pengukuran pH pada sampel kulit nanas memungkinkan pengamatan suksesi bakteri selama fermentasi. Hasil pengukuran pH sampel kulit nanas disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 1. Perubahan pH Pada Fermentasi Kulit Buah Nanas Selama 3 Hari Fermentasi

Sampel	Nilai pH
KN0 (hari 0)	7
KN1 (hari 1)	7
KN3 (hari 3)	5

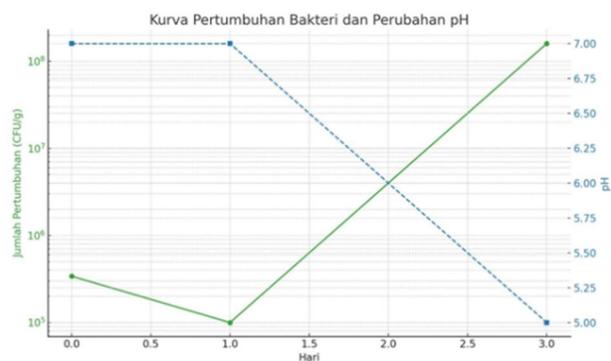
Selanjutnya dilakukan perhitungan koloni menggunakan cara *Standart Plate Count* (SPC), cara ini memiliki syarat khusus berdasarkan statistik untuk memperkecil kesalahan dalam perhitungan. Jumlah koloni yang dilaporkan terdiri dari 2 digit angka yaitu angka satuan dan angka sepersepuluh. Bila diperoleh perhitungan < 30 dari semua pengenceran, maka hanya dari pengenceran terendah yang dilaporkan, misal diperoleh 34 koloni maka ditulis $3,4 \times 10^5$ CFU/g. Data tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabel seperti yang dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 2. Jumlah mikroba pada kulit buah nanas selama 3 hari fermentasi

Sampel	Jumlah rata-rata pertumbuhan
KN0 (hari 0)	$3,4 \times 10^5$ CFU/g
KN1 (hari 1)	1×10^5 CFU/g
KN3 (hari 3)	$1,6 \times 10^8$ CFU/g

Pada gambar 5 kurva pertumbuhan menunjukkan adanya pola suksesi bakteri, Kondisi pH bakteri pada fermentasi hari 0 berada pada pH 7 mendukung jumlah pertumbuhan bakteri yang signifikan yaitu $3,4 \times 10^5$ CFU/g. Pada hari 1 meskipun pH tetap netral, jumlah pertumbuhan bakteri menurun menjadi 1×10^5 CFU/g. Pada hari 3 terjadi penurunan pH menjadi 5, penurunan pH selama fermentasi kulit buah nanas disebabkan oleh produksi asam organik oleh bakteri asam laktat serta

mikroorganisme lainnya. Meskipun pH menurun jumlah pertumbuhan bakteri melonjak drastis menjadi $1,6 \times 10^8$.



Ket*) ——— Jumlah pertumbuhan (CFU/g)
 - - - - - pH

Gambar 5. Kurva pertumbuhan Bakteri dan perubahan pH pada proses fermentasi kulit buah nanas (0,1, 3 hari)

4.2 Karakterisasi Bakteri

Berdasarkan hasil isolasi bakteri yang terdapat pada fermentasi kulit buah nanas, diperoleh 11 isolat bakteri. Isolat bakteri tersebut kemudian diamati karakteristik morfologi dan biokimia, dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Morfologi koloni bakteri yang diperoleh selama proses fermentasi kulit buah nanas (*Ananas Comosus (L.) Merr*) (hari 0, 1 dan 3).

No	Kode Isolat	Morfologi Koloni				
		Bentuk	Elevasi	Tepian	Permukaan Koloni	Warna
1	KN0.5 (1)	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	<i>Dull</i>	Putih Susu
2	KN0.5 (2)	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	<i>Dull</i>	Putih Susu
3	KN0.6 (1)	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	<i>Dull</i>	Putih Susu
4	KN0.6 (2)	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	<i>Dull</i>	Putih Susu
5	KN1.5 (1)	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	<i>Cloudy</i>	Putih
6	KN1.5 (2)	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	<i>Cloudy</i>	Putih
7	KN1.6 (1)	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	<i>Cloudy</i>	Putih
8	KN1.7 (1)	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	<i>Cloudy</i>	Putih
9	KN3.5 (1)	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	<i>Glistening</i>	Bening
10	KN3.6 (1)	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	<i>Glistening</i>	Bening
11	KN3.7 (1)	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	<i>Glistening</i>	Bening

Ket*) KN0: Kulit nanas hari 0; KN1: Kulit nanas hari 1; KN3: Kulit nanas hari 3. *Circular*: Bulat ; *Irregular*: Tak beraturan ; *Undulate*: Bergelombang ; *Raised*: Terangkat ; *Dull*: Kusam ; *Entire*: Rata ; *Cloudy*: Berawan ; *Flat*: Datar ; *Glistening*: Mengkilap.

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni pada Tabel 4.3, terdapat 4 isolat bakteri berwarna putih susu, 4 isolat putih, dan 3 isolat bening. Koloni berbentuk bulat dan tidak beraturan dengan elevasi terangkat atau datar, serta tepian bergelombang atau rata. Untuk mengidentifikasi dari 11 isolat bakteri ini, dilakukan pemrograman profil berdasarkan hasil uji biokimia yang tercantum dalam tabel berikut.

Tabel 4. Profile matching isolat bakteri pada proses fermentasi kulit buah nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr) (hari 0, 1 dan 3.)

No	Kode Isolat	Bentuk Sel	Gram	Spora	Sitrat	Motilitas	Katalase	Gas	Jenis Bakteri
1	KN0.5 (1)	Coccus	+	+	+	+	+	+	<i>Staphylococcus</i> sp.
2	KN0.5 (2)	Coccus	+	+	+	+	+	+	<i>Staphylococcus</i> sp.
3	KN0.6 (1)	Coccus	+	+	+	+	+	+	<i>Staphylococcus</i> sp.
4	KN0.6 (2)	Coccus	+	+	+	+	+	+	<i>Staphylococcus</i> sp.
5	KN1.5 (1)	Basil	+	+	+	+	-	-	<i>Lactobacillus</i> sp.
6	KN1.5 (2)	Basil	+	+	+	+	-	-	<i>Lactobacillus</i> sp.
7	KN1.6 (1)	Basil	+	+	+	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp.
8	KN1.7 (1)	Basil	+	+	+	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp.
9	KN3.5 (1)	Coccus	+	+	+	+	+	+	<i>Staphylococcus</i> sp.
10	KN3.6 (1)	Basil	+	+	+	+	+	+	<i>Bacillus</i> sp.
11	KN3.7 (1)	Coccus	+	+	+	+	+	+	<i>Staphylococcus</i> sp.

Ket*) *Basil*: Batang ; *Coccus*: Batang

Setelah dilakukan profile matching dapat diketahui bahwa bakteri yang terdapat pada Fermentasi kulit buah nanas diduga dari genus *Staphylococcus* sp., *Lactobacillus* sp., dan dari genus *Bacillus* sp.

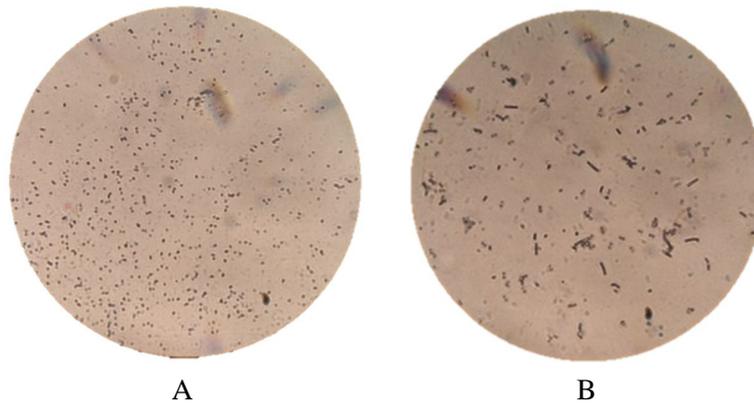
4.3 Suksesi Pertumbuhan Bakteri

Selama fermentasi kulit buah nanas, terjadi perubahan pH dan jumlah pertumbuhan mikroba yang menunjukkan perbedaan aktivitas dan kondisi pertumbuhan mikroba. Pada hari 0, pH netral (pH 7) mendukung pertumbuhan *Staphylococcus* sp. Berdasarkan data yang diperoleh pertumbuhan *Staphylococcus* sp. pada hari 0 berjumlah $3,4 \times 10^5$ CFU/g.

Koloni bakteri *Staphylococcus* sp, dapat tumbuh optimal pada pH 7-7,5 dan mampu bertahan hidup dalam rentang pH 4,2-9,3. Namun, pada hari 1, meski pH tetap netral, pertumbuhan bakteri menurun menjadi 1×10^5 CFU/g, diikuti oleh adaptasi *Lactobacillus* sp. dan *Bacillus* sp. Hampir semua bakteri genus *Lactobacillus* dapat tumbuh pada pH 3 dan 7, ini menyatakan bahwa genus *Lactobacillus* sp. mampu tumbuh pada pH netral. Pada hari 3, pH turun menjadi 5 dan jumlah bakteri meningkat tajam menjadi $1,6 \times 10^8$ CFU/g, didominasi oleh *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp., sementara *Lactobacillus* sp. tidak lagi terdeteksi. Perubahan ini menunjukkan dinamika suksesi mikroba selama fermentasi, ditandai dengan perombakan jaringan, perubahan tekstur, aroma, dan pH^[21].

4.4 Pewarnaan Gram

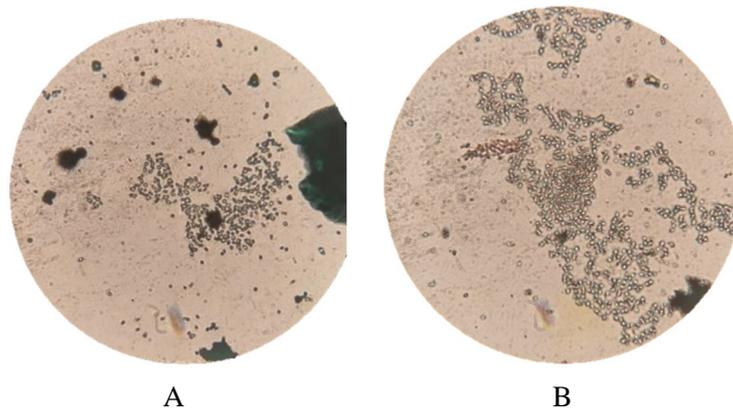
Berdasarkan pengamatan pewarnaan Gram terhadap 11 isolat bakteri, semua isolat menunjukkan sifat Gram positif dengan warna ungu, serta bentuk sel kokus (bulat) dan basil (batang) (Gambar 6). Pewarnaan Gram berfungsi untuk membedakan bakteri Gram positif dan negatif^[22], di mana bakteri Gram positif mempertahankan kompleks kristal violet meskipun diberi alkohol, sedangkan bakteri Gram negatif kehilangan warna tersebut dan mengambil warna merah safranin. Perbedaan warna ini mencerminkan perbedaan struktur dinding sel, di mana Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal, sementara Gram negatif mengandung lipid lebih tinggi.



Gambar 6. Pewarnaan Gram A. Isolat KN0. 5(2); B. Isolat KN1. 5(2)

4.5 Pewarnaan Endospora

Beberapa bakteri, terutama dari genus *Bacillus*, dapat membentuk spora sebagai respons terhadap kondisi lingkungan yang tidak mendukung, seperti kekurangan nutrisi atau kekeringan. Pewarnaan spora memerlukan pewarna khusus, yaitu *malachite green* 5%, sementara sel vegetatif diwarnai dengan safranin 0,5% untuk membedakan (Gambar 7). Bakteri berspora akan berwarna hijau, sementara bakteri non-spora akan berwarna merah. Dalam penelitian ini, pewarnaan endospora menunjukkan bahwa 11 isolat bakteri mampu membentuk spora, menghasilkan hasil positif.



Gambar 7. Pewarnaan endospora. A. Isolat KN1.5 (5); B. Isolat KN1.5 (2)

4.6 Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi sifat fisiologis bakteri yang telah diisolasi dan memastikan bahwa bakteri tersebut sesuai dengan yang diharapkan. Uji ini penting untuk menghindari kesalahan identifikasi karena beberapa spesies bakteri memiliki sifat yang mirip ^[24]. Pada penelitian ini, uji biokimia yang dilakukan meliputi uji sitrat, uji motilitas, uji katalase, dan uji produksi gas.

4.6.1 Uji Sitrat

Uji sitrat bertujuan untuk menguji kemampuan bakteri memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri yang mampu menggunakan sitrat akan menaikkan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. Dari penelitian, 11 isolat bakteri menunjukkan hasil positif karena medium berubah warna menjadi biru, di mana perubahan warna medium menjadi biru menandakan reaksi positif, sedangkan tetap hijau menunjukkan reaksi negatif.

4.6.2 Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan untuk mengamati pergerakan bakteri. Hasil positif ditandai dengan pertumbuhan menyebar dan media menjadi keruh, sedangkan hasil negatif terlihat dari pertumbuhan di sepanjang garis inokulasi tanpa kekeruhan. Dari hasil penelitian, 11 isolat bakteri menunjukkan pertumbuhan menyebar dan media keruh, menandakan hasil positif untuk uji motilitas.

4.6.3 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri mampu memecah H₂O₂ menjadi oksigen dengan adanya enzim katalase, yang ditunjukkan oleh terbentuknya gelembung setelah penambahan H₂O₂ 3%. Berdasarkan hasil penelitian, 11 isolat bakteri menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya gelembung pada media.

4.6.4 Uji Produksi Gas

Uji produksi gas dilakukan untuk menentukan apakah bakteri bersifat homofermentatif atau heterofermentatif. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara di tabung Durham dan media yang keruh, sedangkan hasil negatif ditunjukkan tanpa adanya gelembung. Dari penelitian, 9 isolat menunjukkan hasil positif, sedangkan 2 isolat negatif. Tabung Durham berfungsi menangkap gas fermentasi karbohidrat, di mana gelembung udara terbentuk jika bakteri menghasilkan gas saat mengkatabolisme karbohidrat

5. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa dalam proses fermentasi kulit buah nanas, bakteri genus *Staphylococcus* sp. mendominasi pada hari ke-0, kemudian mengalami fase dormansi pada hari ke-1 dan muncul kembali pada hari ke-3, sementara genus *Bacillus* sp. tumbuh pada hari ke-1 dan terus meningkat hingga hari ke-3. Genus *Lactobacillus* sp. terdeteksi hanya pada hari ke-1. Mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi ini berasal dari genus *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., dan *Lactobacillus* sp. Oleh karena itu, penelitian ini dapat menjadi acuan untuk studi lebih lanjut mengenai bakteri yang terlibat dalam fermentasi kulit buah nanas.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Wahyuni, S. A., Kadarusno, A. H., & Suwerda, B. (2016). Pemanfaatan *Saccharomyces Cereviceae* Dan Limbah Buah Nanas Pasar Beringharjo Yogyakarta Untuk Pembuatan Bioetanol. *Sanitasi: Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 7(4), 151-159.
- [2] Erukainure, O.L., J.A. Ajiboye, R.O. Adejobi, O.Y. Okafor, S.O. Adenekan. 2011. Protective Effect Of Pineapple (*Ananas Comosus*) Peel Extract On Alcohol- Induced Oxidative Stress In Brain Tissues Of Male Albino Rats. *Asian Pac. J. Trop. Disease*. 5-9.
- [3] Punbasayakul, N., Samart, K., & Sudmee, W. (2018, January). Antimicrobial Activity Of Pineapple Peel Extract. In *Proceeding Of Innovation Of Functional Foods In Asia Conference*.
- [4] Suerni E, Alwi M, Guli MM. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas Comosus* L. Merr), Salak (*Salacca Eduilis Reinw.*) Dan Mangga Kweni (*Mangifera Odorata Griff.*) Terhadap Daya Hambat *Staphylococcus Aureus*. *Biocelebes*. 7(1):1-8.
- [5] Prihatman, K. (2000). Nanas (*Ananas Comosus*). *TTG Budidaya Pertanian*. Jakarta, 17.
- [6] Suprihatin, D. S. P. (2010). Pembuatan Asam Laktat Dari Limbah Kubis. *Makalah SEMNAS Ketahanan Pangan Dan Energi, Teknik Kimia Soebardjo Brotohartandjono, Surabaya*.
- [7] Prabowo, A. (2011). Pengawetan Dedak Padi Dengan Cara Fermentasi. URL: <http://Sumsl.Litbang.Deptan.Go.Id/Index.Php/Component/Content/Article/53-It-1/206-Dedak-Padi>, 6.
- [8] Suhartini, S., Hidayat, N., & Rosaliana, E. (2013). Influence Of Powdered Moringa Oleifera Seeds And Natural Filter Media On The Characteristics Of Tapioca Starch Wastewater. *International Journal Of Recycling Of Organic Waste In Agriculture*, 2, 1-11.

- [9] Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L. 2010. Microbiology : An Introduction. 10th Ed. California : Benjamin & Cummings.
- [10] Boleng, D. T. (2015). Bakteriologi Konsep-Konsep Dasar.
- [11] Hadioetomo R. S. 1993. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. PT. Gramedia, Jakarta.
- [12] Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sudewi, S. (2019). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Alga Turbinaria Ornata (Turner) J. Agardh Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*, 8(2), 351-359.
- [13] Ummamie, L., Rastina, R., & Erina, E. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Escherichia Coli Dan Staphylococcus Aureus Pada Keumamah Di Pasar Tradisional Lambaro, Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 1(3), 574-583.
- [14] Ulfa, M., Khairi, N., & Maryam, F. (2016). Formulasi Dan Evaluasi Fisik Krim Body Scrub Dari Ekstrak Teh Hitam (Camellia Sinensis), Variasi Konsentrasi Emulgator Span-Tween 60. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 4(4), 179-185.
- [15] Widowati, R., Handayani, S., & Lasdi, I. (2019). Aktivitas Antibakteri Minyak Nilam (Pogostemon Cablin) Terhadap Beberapa Spesies Bakteri Uji. *Jurnal Pro-Life*, 6(3), 237-249.
- [16] Lawalata, H. J., Rengkuan, M. D., & Howan, D. H. O. (2018). Identifikasi Fenotipik Dan Genotipik Bakteri Asam Laktat Penghasil Antibakteri Dari Buah Langsung (Lansium Domesticum) Matang.
- [17] Lawalata, H.J Dan Satiman, U. 2015. Identification Of Lactic Acid Bacteria Proteolytic Isolated From An Indonesian Traditional Fermented Fish Sauce Bakasang By Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA). *Int. Journal Of Chemtech Research*. 8 (12) Pp 630-636.
- [18] Zahid, A. H., Han, Q., Jia, X., Li, S., Hangjia, H., & Liu, H. (2020). Highly Stable 3D Multilayered Nanoparticles-Based B-Bi2O3 Hierarchitecture With Enhanced Photocatalytic Activity. *Optical Materials*, 109, 110389.
- [19] Fitrah, I. D. (2013). Isolasi Pasteurella Multocida Pada Kuda Dan Sensitivitasnya Terhadap Antibiotik. *Jurnal Medika Veterinaria*, 7(2).
- [20] Holt, R. I. (2004). Diagnosis, Epidemiology And Pathogenesis Of Diabetes Mellitus: An Update For Psychiatrists. *The British Journal Of Psychiatry*, 184(S47), S55-S63.
- [21] Nur, H. S. (2010). Sukses Mikrobiologi Dan Aspek Biokimiawi Fermentasi Mandai Dengan Kadar Garam Rendah. *Makara Journal Of Science*, 13(1), 3.
- [22] Fitri, L., & Yasmin, Y. (2011). Isolasi Dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 3(2), 20-25.
- [23] Cappuccino Dan Sherman, 2013:73-74).
- [24] Haryani, Y., Chainulfiffah., Rustiana. 2012. Fermentasi Karbohidrat Oleh Isolat Salmonella Sp. Dari Jajanan Pinggir Jalan. *Jurnal Ind.Che.Acta*. ISSN 2085-0050
- [25] Lawalata, H. J., Kumajas, J., Tengker, S. M., Runtuwene, K. M., Hasani, R. S., & Weken, M. M. (2023). Lactic Acid Bacteria as an Exopolysaccharides (EPS) Producing Starter from Pakoba Fruit (Syzygium sp.), Endemic Species at Minahasa, North Sulawesi. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, 17(4).