

Potensi air nira aren (*Arenga pinnata* Merr.) sebagai sumber isolat bakteri asam asetat (BAA)

The potent of arenga palm sap as acetic acid bacteria (AAB) resource

Yunita¹, Yulia Sari Ismail^{1*}, Feni Wahyuni Maha¹

¹Jurusan Biologi FMIPA Unsyiah, Darussalam, Banda Aceh, Indonesia, *Email: ysismail@unsyiah.ac.id

Abstract: Aren (*Arenga pinnata* Merr.) is one of the most well-grown palm trees in Aceh. One of the products that can be produced by this palm is nira. Nira is a sweet liquid obtained from bunches of flowers that have not bloomed. Water content in fresh juice ranges between 80-85% and sucrose about 15%. This situation is very suitable for the growth of microorganisms. Isolation and characterization of types of bacteria in plant products such as palm sugar until now is still limited. In addition, considering Aceh is one of the spreading areas of *Arenga* palm and palm sugar potentials in producing isolates of Acetic Acid Bacteria (AAB), then the research to identify bacteria who plays a role in acetic acid fermentation in nira should be conducted. The parameters observed were colonies morphology and cells morphology. The morphology of colonies was observed by growing isolates on solid PYG media, and then the shapes, colors, edges and elevations were observed visually. Meanwhile cell morphology was observed by using Gram staining. The results showed that there are four isolates of AAB isolated from the water of palm juice (*Arenga pinnata* Merr.). Based on the book of Bergey's Determinative Bacteriology, the four isolates belong to the family Acetobacteriaceae. Therefore, aren (*Arenga pinnata* Merr.) has potential as a plant that can be a resource of AAB isolates.

Keywords: *Arenga pinnata* Merr., Nira, Acetic Acid Bacteria (AAB)

Abstrak: Aren (*Arenga pinnata* Merr.) merupakan salah satu tumbuhan palma yang dapat tumbuh dengan baik di Aceh. Salah satu produk yang dapat dihasilkan oleh aren adalah nira. Nira merupakan cairan manis yang diperoleh dari tandan bunga yang belum mekar. Kadar air pada nira segar berkisar antara 80 – 85% dan sukrosa sekitar 15%. Keadaan tersebut sangat cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme. Isolasi dan karakterisasi jenis-jenis bakteri pada produk tumbuhan seperti nira aren sampai saat ini masih terbatas. Selain itu, mengingat Aceh merupakan salah satu daerah persebaran tumbuhan aren dan potensi nira aren untuk menghasilkan isolat Bakteri Asam Asetat (BAA), maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang berperan dalam aktivitas fermentasi asam asetat pada nira aren. Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah morfologi koloni dan morfologi sel. Morfologi yang diamati pada penelitian ini adalah morfologi koloni dan morfologi sel. Morfologi koloni diamati dengan cara menumbuhkan isolat pada media padat PYG, kemudian bentuk, warna, tepian dan elevasi diamati secara visual. Sementara itu morfologi sel diamati dengan menggunakan pewarnaan Gram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat empat isolat BAA yang diisolasi dari air nira aren (*Arenga pinnata* Merr.). Berdasarkan buku Bergey's Determinative Bacteriology, keempat isolat tersebut tergolong ke dalam famili Acetobacteriaceae. Oleh karena itu aren (*Arenga pinnata* Merr.) berpotensi sebagai tumbuhan yang bisa menghasilkan isolat BAA.

Kata kunci: *Arenga pinnata* Merr., Nira, Bakteri Asam Asetat (BAA)

Pendahuluan

Aren (*Arenga pinnata* Merr.) merupakan salah satu tumbuhan palma yang dapat tumbuh dengan baik di Aceh. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan tahunan dengan diameter batang berkisar 122,4 – 129 cm dan tinggi berkisar 14,23 – 13,8 m (Ferita *et al.*, 2015), tumbuh tegak dan soliter (Pitopang *et al.*, 2008). Tumbuhan aren memiliki banyak manfaat antara lain berperan dalam konservasi lahan dan air, penghasil ijuk, bahan bangunan, dan bahan makanan. Salah satu bahan makanan yang dapat dihasilkan oleh aren adalah nira.

Nira merupakan cairan manis yang diperoleh dari tandan bunga yang belum mekar. Kadar air pada nira segar berkisar antara 80 – 85% dan sukrosa sekitar 15%. Keadaan tersebut sangat cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme yang terdapat pada nira adalah khamir dan bakteri (Yeni *et al.*, 2011). Salah satu mikroorganisme yang diduga terdapat pada air nira adalah *Acetobacter*. *Acetobacter* termasuk ke dalam golongan Bakteri Asam Asetat (BAA) yang merupakan kelompok bakteri yang mampu mengoksidasi alkohol dan gula, khususnya mengoksidasi etanol menjadi asam asetat (Barlina dan Lay, 1994). Secara luas BAA sudah digunakan dalam industri komersial seperti produksi asam asetat, glukonat dan surbose (Kozaki *et al.*, 1998).

Isolasi dan karakterisasi jenis-jenis bakteri pada produk tumbuhan seperti nira aren sampai saat ini masih terbatas. Selain itu, mengingat Aceh merupakan salah satu daerah persebaran tumbuhan aren dan potensi nira aren untuk menghasilkan isolat BAA, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang berperan dalam aktivitas fermentasi asam asetat pada nira aren.

Metode Penelitian Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah inkubator, autoklaf, Erlenmeyer, lemari pendingin, lampu bunsen, cawan petri, gelas ukur, tabung reaksi, mikroskop binokuler, kaca objek, *glass spreader*, jarum ose, *colony counter*, timbangan analitik, pipet ukur, botol semprot, toples, *magnetic stirrer*, gelas

objek, gelas penutup, pinset, mikroskop, wadah fermentasi, kamera digital, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah air nira, media *Pepton Yeast Extract-Glucose* (PYG), media NA, media MR-VP, media TSIA, etanol 90%, akudes 1 liter, kristal violet, lugol iodin, alkohol aseton, safranin, kapas, keastase oksidase, kertas lakmus, kertas label, dan *aluminium foil*.

Metode Penelitian

Sterilisasi alat dan bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C pada tekanan uap 15 atm selama 15-20 menit (Bibiana, 1994).

Pengambilan sampel

Air nira diperoleh dari pedagang air nira yang terdapat di Seulimum, Aceh Besar dan dibawa ke laboratorium untuk disaring menggunakan kain penyaring yang sudah steril. Selanjutnya air nira dimasukkan ke dalam toples kaca bertutup rapat dan dibiarkan selama tiga hari di tempat yang bersuhu konstan, agar bakteri dapat berkembang. BAA diisolasi dari air nira aren yang telah difermentasikan ini.

Pengamatan pH larutan dan pengukuran kadar alkohol

Tingkat keasaman atau pH diukur dengan menggunakan kertas pH. Pengukuran dilakukan selama proses fermentasi berlangsung selama 5 hari. Pengukuran kadar alkohol dilakukan dengan menempatkan nira aren ke dalam alat piknometer yang memiliki volume, ditimbang, dan dilakukan penghitungan kadar alkohol dengan menggunakan rumus:

$$\text{Berat jenis ()} = \frac{m_f (g)}{v_t (ml)}$$

Isolasi bakteri

Isolasi BAA dari nira aren dilakukan dengan metode pengenceran sampai 10^{-5} . Masing-masing seri pengenceran diambil 1 ml dan dilakukan pencawan dengan metode *pour plate* pada media PYG. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 27°C selama

24-48 jam. Koloni yang tumbuh pada cawan petri dipindahkan dengan metode cawan gores untuk dimurnikan pada media agar PYG yang lain.

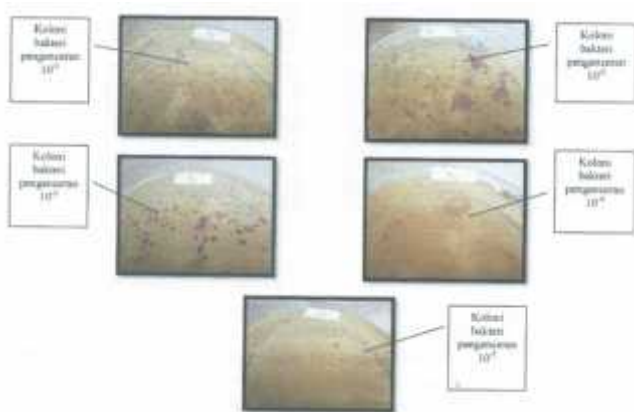
Identifikasi bakteri

Isolat-isolat yang diperoleh diidentifikasi dengan berpedoman pada buku *Bergey's Determinative Bacteriology*, dengan melakukan pengamatan morfologi sel (bentuk sel dan uji pewarnaan Gram) dan morfologi koloni (warna, ukuran, dan bentuk koloni). Pengamatan bentuk sel dilakukan dengan mengamati bakteri dibawah mikroskop sehingga diketahui bentuk selnya kokus, batang atau spiral. Pewarnaan Gram dilakukan sesuai dengan Hadjoetomo (1993) sementara pengamatan morfologi koloni dilakukan sesuai dengan Isenberg (1992).

Hasil dan Pembahasan

Isolasi BAA dari Air Nira Aren

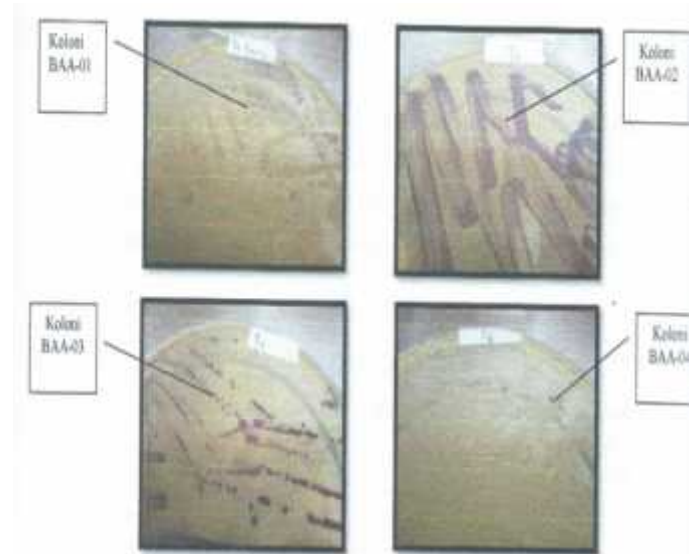
Prinsip dari isolasi mikroba yaitu memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Hasil isolasi BAA yang dilakukan dengan metode pengenceran dan ditumbuhkan pada media PYG menggunakan metode cawan tuang pada suhu 27°C dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil isolasi BAA pada media padat PYG

Setelah proses isolasi, dilakukan pemurnian terhadap BAA dengan metode cawan gores pada

media yang sama dan diinkubasi dengan suhu 27°C selama 24-48 jam. Prinsip dari pemurnian bakteri yaitu untuk mendapatkan koloni bakteri yang terpisah. Dari hasil isolasi didapatkan 4 isolat yaitu BAA-01, BAA-02, BAA-03 dan BAA-04, dapat dilihat pada Gambar. 2.



Gambar 2. Hasil pemurnian BAA pada media PYG

Karakterisasi Morfologi Isolat BAA

Keempat isolat hasil pemurnian berhasil tumbuh dengan baik pada media PYG. Ciri khas keempat isolat bakteri ini yaitu mampu tumbuh pada media PYG yang telah ditambahkan etanol 90% sebanyak 30 ml dalam 1 liter akuades. Media PYG yang ditambahkan etanol merupakan media spesifik bagi BAA, sehingga bakteri yang dapat tumbuh pada media tersebut merupakan jenis BAA. Menurut Kozaki *et al* (1998), BAA mendapatkan energi dari oksidasi etanol. Oleh karena itu jenis BAA mampu tumbuh pada media yang ditambahkan etanol.

Morfologi yang diamati pada penelitian ini adalah morfologi koloni dan morfologi sel. Morfologi koloni diamati dengan cara menumbuhkan isolat pada media padat PYG, kemudian bentuk, warna, tepian dan elevasi diamati secara visual. Sementara itu morfologi sel diamati dengan menggunakan pewarnaan Gram.

Morfologi koloni

Morfologi isolat BAA-01, BAA-02, BAA-03 dan BAA-04 memiliki morfologi koloni yang berbeda (Gambar 2. dan Tabel 1.) bentuk koloni dari suatu bakteri dipengaruhi oleh umur dan faktor lingkungan yaitu faktor makanan (media tumbuh) dan suhu pertumbuhan (minimum, optimum dan maksimum) (Hadioetomo, 1993).

Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni isolat BAA-01, BAA-02, BAA-03 dan BAA-04

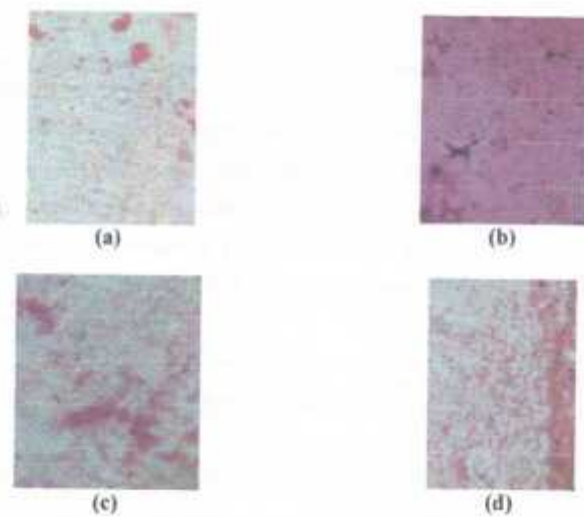
Kode Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel	
	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
BAA-01	Bundar	Krem	Licin	Timbul	Negatif	Batang
BAA-02	Bundar	Ungu muda	Licin	Timbul	Negatif	Batang
BAA-03	Bundar	Ungu pekat	Licin	Timbul	Negatif	Batang
BAA-04	Bundar	Tidak berwarna	Licin	Timbul	Negatif	Batang

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa keempat jenis isolat memiliki morfologi koloni yang hampir sama dan perbedaan hanya terletak pada warnanya saja. Warna koloni bakteri disebabkan karena adanya pigmentasi oleh salah satu dari karotenoid, antosianin, melanin, tripirilmethene dan phenazine. Masing-masing pigmen tersebut akan memberikan warna yang berbeda. Satu isolat tidak berwarna, satu isolat BAA lainnya berwarna krem yang diduga isolat tersebut memiliki pigmen phenazin, sementara dua isolat yang berwarna ungu diduga mengandung antosianin (Barrow dan Feltham, 1993).

Morfologi Sel

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa sel keempat isolat tergolong kedalam kelompok bakteri Gram Negatif yang berbentuk batang (basil) (Tabel 1 dan Gambar 3) Menurut Kozaki, *et al* (1998), BAA termasuk bakteri Gram negatif dengan bentuk sel batang dan memiliki daya adaptasi yang baik pada cairan dengan kandungan gula dan alkohol. Hasil akhir pewarnaan Gram yang dilakukan memperlihatkan warna merah muda yang dikarenakan bakteri Gram negatif tidak dapat

mempertahankan pewarna utama ketika dibilas dengan alkohol (Gambar 3).



Gambar 3 Hasil pengamatan pewarnaan Gram: (a) Isolat BAA-01; (b) Isolat BAA-02; (c) Isolat BAA-03; (d) Isolat BAA-04 (Pembesaran 10x40)

Posisi peptidoglikan yang berada di antara dua membran menyulitkan pembentukan kompleks iodine sehingga akan langsung luntur ketika dibilas dengan alkohol. Dinding sel bakteri Gram negatif hanya memiliki satu atau dua lembar peptidoglikan, namun secara struktural lebih kompleks. Membran luar pada dinding sel bakteri Gram negatif mengandung lipopolisakarida, yaitu karbohidrat yang terikat dengan lipid. Sedangkan bakteri Gram positif mampu mempertahankan kristal violet sebagai pewarna utama, sehingga hasil pewarnaan Gram yang ditunjukkan oleh bakteri Gram positif adalah biru dan ungu (Hadioetomo, 1993).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat empat isolat BAA yang diisolasi dari air nira aren (*Arenga pinnata* Merr.). Berdasarkan buku *Bergey's Determinative Bacteriology*, keempat isolat tersebut tergolong ke dalam famili *Acetobacteriaceae*. Oleh karena itu aren (*Arenga pinnata* Merr.) berpotensi sebagai tumbuhan yang bisa menghasilkan isolat Bakteri Asam Asetat (BAA).

Daftar Pustaka

- Akuba, R.H. 2004. Profil Aren. Pengembangan Tanaman Aren. **Prosiding Seminar Nasional Aren**. Tondano. Balai Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. , 9 Juni. hlm.1-9.
- Barlina R dan Lay A. 1994. Pengolahan Nira Kelapa untuk Produk Fermentasi Nata decoco, Alkohol dan Asam Cuka. **Jurnal Penelitian Kelapa**. 7 (2). Balai Penelitian Kelapa, Manado.
- Barrow, G. I. And Feltham, R. K. A. 1993. **Cowan and Steel's for the Identification of Medical Bacteria**. Cambridge University Press, USA.
- Bibiana, W. L. 1994. **Analisis Mikrobiologi di Laboratorium**. Raja Grafindo, Jakarta.
- Ferita, I. Tawarati. Z, Syarif. 2015. Identifikasi dan Karakterisasi Tanaman Enau (*Arenga pinnata*) di Kabupaten Gayo Lues. **Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversity Indonesia**. Volume 1, Nomor 1, Maret 2015, Halaman 31-37.
- Hadioetomo, R. S. 1993. **Mikrobiologi Dasar dalam Praktek**. Gramedia, Jakarta.
- Heyne, K. 1950. **Tumbuhan Berguna Indonesia**. Jilid I. Terjemahan dari De Nuttige Planten Van Indonesia oleh Badan Litbang Kehutanan, Jakarta.
- Isenberg, H. D. 1992. **Clinical Microbiology Procedures Handbook**. Long Island Campus for Albert Einstein College of Medicine New Hyde Park, New York.
- Ismanto, A. 1995. **Pohon Kehidupan: Aren (*Arenga pinnata* Merr.)** Badan Pengelola Gedung Manggala Wanabakti dan Prosea Indonesia, Jakarta.
- Pitopang, R. I, Khaeruddin. A, Tjoa. I,F, Burhanuddin. 2008. Pengenalan Jenis-Jenis Pohon yang Umum di Sulawesi. **Panduan Lapangan**. Universitas Tadulako, Sulawesi Tengah.
- Purwoko, T. 2007. **Fisiologi Mikroba**. Bumi Aksara, Jakarta.
- Rindengan, B dan E.Manaroinsong. 2009. **Aren: Tanaman Perkebunan Penghasil Bahan Bakar Nabati (BBM)**. Pusat penelitian dan Pengembangan Perkebunan. hlm.1-22.
- Rumokoi, M. M. M. 1990. Manfaat Tanaman Aren (*Arenga pinnata* Merr.). **Buletin Balitka** No. 10 Tahun 1990 hal: 21-28. Balai Penelitian Kelapa, Manado.
- Williams, W. S. and R. E. Cannon. 1989. Alternative Environmental Roles for Cellulose Produced by *Acetobacter xylium*. **Applied and Environmental Microbiology**. American Society for Microbiology.
- Yeni, F. Hidayat, A. Dan Reni, M. 2011. Isolasi dan Aktivitas Fermentasi Bakteri Asam Asetat pada Nira Nipah. **Jurnal Pendidikan Matematika dan IPA**. Volume 2, Nomor 1, Januari 2011, Halaman 1-10.