

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI CUKA BUAH NANAS MADU
(*Ananas comosus* (L) Merr) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus auerus



TUGAS AKHIR

Oleh :

NOVIA MIZROTUN

18080109

PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI
POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA TEGAL

2021

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI CUKA BUAH NANAS MADU
(*Ananas comosus* (L) Merr) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus auerus



TUGAS AKHIR

Ditujukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Dalam Mencapai Gelar Derajat

Ahli Madya Program Studi Diploma III Farmasi

Oleh :

NOVIA MIZROTUN

18080109

PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI

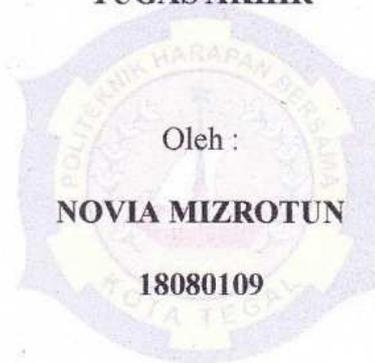
POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA TEGAL

2021

HALAMAN PERSETUJUAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI CUKA BUAH NANAS MADU
(*Ananas comosus* (L) Merr) TERHADAP BAKTERI
Staphylococcus auerus

TUGAS AKHIR



DIPERIKSA DAN DISETUJUI OLEH :

PEMBIMBING I

Inur Tivani, S.Si., M.Pd.
NIDN. 0610078502

PEMBIMBING II

apt. Heni Purwantiningrum, M.Farm
NIDN. 0607048101

10/1

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir diajukan oleh:

NAMA : Novia Mizrotun

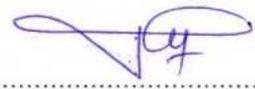
NIM : 18080109

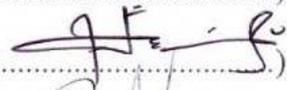
Jurusan/ Program studi : Diploma III FARMASI

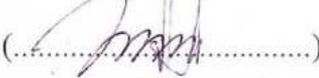
Judul Tugas Akhir : UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI CUKA BUAH
NANAS MADU (*Ananas comosus* (L) Merr)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Tim penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untk memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi Pada Jurusan/ Program Studi Diploma III Farmasi, Politeknik Harapan Bersama.

TIM PENGUJI

Ketua Sidang : apt. Meliyana Perwita Sari, M.Farm. (.....)

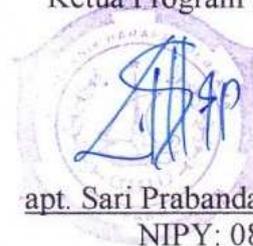
Penguji 1 : apt. Heni Purwantiningrum, M.Farm. (.....)

Penguji 2 : Joko Santoso, M.Farm (.....)

Tegal, 31 Maret 2021

Program Studi Diploma III Farmasi

Ketua Program Studi



apt. Sari Prabandari, S.Farm., M.M.
NIPY: 08.051.223

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tugas Akhir ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

NAMA	: Novia Mizrotun
NIM	: 18080109
Tanda Tangan	
Tanggal	: 31 Maret 2021

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Politeknik Harapan Bersama, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Novia Mizrotun
NIM : 18080109
Jurusan / Program Studi : Diploma III Farmasi
Jenis Karya : Tugas Akhir

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Politeknik Harapan Bersama **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas tugas akhir saya yang berjudul:

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI CUKA BUAH NANAS MADU (*Ananas comosus* (L) Merr) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Politeknik Harapan Bersama berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Politeknik Harapan Bersama

Pada Tanggal : 31 Maaret 2021

ng Menyatakan

Novia Mizrotun)

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

“Ilmu pengetahuan itu pahit pada awalnya, dan manis pada akhirnya. Pahit karena harus susah payah mendapatkannya, dan manis ketika kita memetikinya. Maka mulailah dengan penuh keyakinan, menjalankan dengan penuh keikhlasan dan menyelesaikan dengan penuh kebahagiaan”

PERSEMBAHAN

♥ Orang tuaku tercinta dan terkasih

Terimakasih untuk Ibu Rasmini dan Bapak Suwarjo atas do'a dan dukungannya yang tidak pernah berhenti tcurahkan disetiap harinya untukku. Terimakasih untuk terkasih Hamada Asahi yang selalu memotivasi, mensupport dan menyemangati.

♥ Dosenku

Terimakasih kepada pembimbing-pembimbing Ibu Inur Tivani, S.Si, M.Pd dan Ibu Heni Purwantiningrum, M.Farm. Apt yang telah memberikan ilmu dan masukannya.

♥ Sahabat-sahabatku tersayang

Termakasih untuk teman seperjuangan kelas D, Ayu Novita Putri, Rizki Jihan Afiatun, Veronika Nurul Hidayah, Tri Yana Dewi dan Fifi Yuniana yang selalu memberikan semangat dan selalu ada disaat susah maupun senang.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayahnya dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI CUKA BUAH NANAS MADU (*Ananas comosus* (L) Merr) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***” tepat pada waktunya. Tugas Akhir ini diajukan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Ahli Madya pada Program Studi Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama.

Dalam proses penelitian dan penyusunan Tugas Akhir ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari semua pihak baik bera moril maupun materil, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Nizar Suhendra, S.E., M.P.P. selaku Direktur Politeknik Harapan Bersama yang telah memberikan kesempatan pada kami untuk menuntut ilmu di Politeknik Harapan Bersama Tegal.
2. Ibu apt. Sari Prabandari, S.Farm., M.M. selaku Ka. Prodi Diploma III Farmasi Poiteknik Harapan Bersama.
3. Ibu Inur Tivani, S.Si., M.Pd. selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu guna memberi pengarahan dan saran dalam menyusun Tugas Akhir.
4. Ibu apt. Heni Purwantiningrum, M.Farm. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan dorongan serta arahan.
5. Bapak dan Ibu Dosen Politeknik Harapan Bersama.

6. Seluruh Karyawan Laboratorium Diploma III Farmasi yang telah membantu dalam penelitian.
7. Orang Tua dan terkasih yang telah memberi dorongan hingga terselesaikan Tugas Akhir ini.
8. Teman-teman seangkatan, senasib dan seperjuangan khususnya kelas D.
9. Member “Treasure” khususnya Hamada Asahi yang secara tidak langsung memberikan semangat dan motivasi untuk menggapai baju toga sebelum memakai baju pengantin.

Penulis menyadari dalam penulisan Tugas Akhir ini banyak kekurangan dan jauh dari sempurna untuk itu dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran guna perbaikan dan penyempurnaan Tugas Akhir ini.

Akhir kata penulis berharap semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Tegal, 31 Maret 2021

Novia Mizrotun

INTISARI

Mizrotun, Novia., Tivani, Inur., Purwantiningrum, Heni., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Nanas Madu (*Ananas comosus* (L) Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Penyakit kulit merupakan salah satu masalah kesehatan yang banyak terjadi di Indonesia. Penyakit kulit dapat disebabkan oleh adanya bakteri patogen salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini dapat mengakibatkan timbulnya jerawat dan bisul. Hal ini mendorong semakin banyaknya penggunaan sediaan yang berasal dari bahan alam. Buah nanas madu (*Ananas comosus* (L) Merr) merupakan tanaman dari bahan alam yang didalamnya mengandung enzim bromelin dan flavonoid yang berkhasiat sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada cuka buah nanas madu (*Ananas comosus* (L) Merr) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan 3 varian lama fermentasi.

Jenis penelitian ini bersifat eksperimen yang dilakukan di laboratorium Politeknik Harapan Bersama. Metode yang dilakukan adalah fermentasi secara anaerob dengan 3 variasi lama fermentasi yaitu 7 hari, 14 hari dan 21 hari. Uji antibakteri dengan difusi sumuran dilakukan untuk memperoleh data berupa zona hambat bakteri. Analisis zona hambat menggunakan *One Way ANOVA*.

Berdasarkan uji aktivitas antibakteri, cuka buah nanas madu (*Ananas comosus* (L) Merr) dengan fermentasi 14 hari memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* paling efektif yaitu rata-rata luas zona hambat 137,63 mm² dengan rata-rata diameter 14,39 mm, fermentasi 21 hari termasuk dalam daya hambat efektif dengan luas daya hambat 20,25 mm² dengan rata-rata diameter 7,67 mm, sedangkan fermentasi 7 hari tidak nampak daya hambat.

Kata Kunci : Buah Nanas Madu, Cuka, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Mizrotun, Novia., Tivani, Inur., Purwantiningrum, Heni., 2021. Tests Of Antibacterial Activity Test of Sweet Pineapple (Ananas comosus (L) Vinegar on Staphylococcus aureus Bacteria.

Skin disease is one of the health problems that mostly occur in Indonesia. Skin disease can be caused by the presence of pathogenic bacteria, one of which is Staphylococcus aureus bacteria. The bacteria can cause pimples and boils or other skin problems. This has led to different preference of using natural ingredients to reduce the problems. The study purposed at determining antibacterial activities in sweet pineapple vinegar againts the growth of Staphylococcus aureus bacteria using 3 different fermentation processes.

The study applied an experimental risearch conducted at microbiologi laboratory in Politeknik Harapan Bersamausing anaerob fermentation method. 3 different fermentation proceses were administered within 7,14 and 21 days. Antibacterial test's were carried out using well diffusion to get data of bacterial growts inhibition and the tested by applying One way ANOVA statistical calculation.

Bused on test of antibacterial activity, the vinegar in 14 days fermentation process growth inhibition with the average of 137,63 mm² and 14,39 mm 21 days fermentation process resulted effective whit the average of 20,25mm² and 7,67 mm in contrast, 7 days fermentation process showed null activity in bacterial growts inhibition.

Keywords: Sweet Pineapple Fruit, Vinegar, Antibacterial, Staphylococcus aureus

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vi
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	vii
PRAKATA.....	viii
INTISARI.....	x
<i>ABSRTACT</i>	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
1.6 Keaslian Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan Pustaka	6

2.1.1 Buah Nanas	6
2.1.2 Fermentasi.....	8
2.1.3 Cuka	10
2.1.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.1.5 Media Pembiakan Bakteri.....	16
2.1.6 Metode Pengujian Antibakteri.....	18
2.1.7 Inokulum dan Cara Mendapatkan Biakan Murni	21
2.1.8 Sterilisasi.....	24
2.2 Hipotesis.....	26
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	27
3.1 Objek Penelitian	27
3.2 Sampel dan Teknik Sampling	27
3.3 Variabel Penelitian	27
3.3.1 Variabel Bebas	27
3.3.2 Variabel Terikat	27
3.3.3 Variabel Kontrol	28
3.4 Teknik Pengambilan Data	28
3.4.1 Cara Pengumpul Data	28
3.4.2 Alat dan Bahan	28
3.4.3 Cara Kerja.....	29
3.5 Cara Analisis	41
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	42
4.1 Pembuatan Cuka Buah Nanas	42

4.2 Evaluasi Sediaan Cuka Buah Nanas Madu	43
4.3 Persiapan Uji Bakteri	47
4.4 Uji Daya Hambat Bakteri	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	60

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	4
Tabel 4.1 Hasil Uji Organoleptis	44
Tabel 4.2 Gambar Daya Hambat Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Nanas Madu terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	49
Tabel 4.3 Diameter dan Luas Total Uji antibakteri Cuka Buah Nanas Madu terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Tabel 4.4 Luas Daerah Hambat Cuka Buah Nanas Madu Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Tabel 4.5 Data Hasil <i>One-way Anova</i> Daya Hambat.....	52
Tabel 4.6 Luas Daerah Total dan Daerah Hambat Kontrol Positif Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Nanas	6
Gambar 2.2 Hasil Pewarnaan <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Gambar 3.1 Skema persiapan sampel	30
Gambar 3.2 Skema Pembuatan Cuka.....	31
Gambar 3.3 Skema Uji Organoleptis	31
Gambar 3.4 Skema Uji pH.....	32
Gambar 3.5 Skema Sterilisasi Alat	34
Gambar 3.6 Skema Pembuatan Media NA	35
Gambar 3.7 Skema Pembuatan Media BHI.....	36
Gambar 3.8 Skema Pembuatan Media MHA.....	37
Gambar 3.9 Skema Pembuatan Inokulum.....	38
Gambar 3.10 Skema Pengujian Daya Antibakteri	40
Gambar 4.1 Perubahan pH Selama Proses Fermentasi	45
Gambar 4.2 Perubahan Kadar Asam Asetat Selama Proses Fermentasi.....	46

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kulit merupakan salah satu masalah kesehatan yang terjadi di Indonesia. Pada studi epidemiologi, 97% dari 389 kasus adalah dermatitis kontak, dimana 66,3% disebabkan karena dermatitis kontak iritan dan 33,7% adalah dermatitis kontak alergi (Zania, dkk, 2018). Hal ini disebabkan karena kurangnya perhatian masyarakat terhadap kesehatan kulit. Kulit merupakan bagian terluar yang melapisi seluruh permukaan tubuh. Penyakit kulit dapat disebabkan adanya bakteri patogen salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*, dikarenakan bakteri ini dapat mengakibatkan timbulnya jerawat dan bisul (Abu, dkk, 2015).

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan penyakit pada kulit, saluran pernapasan dan saluran pencernaan pada manusia. Bakteri ini masuk melalui folikel-folikel rambut, muara kelenjar keringat dan luka-luka kecil (Lenny, 2016). Namun *Staphylococcus aureus* menjadi masalah yang serius dikarenakan meningkatnya resistensi bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik salah satunya yaitu methicillin (Negara, 2016). Pemberian antibiotik dari bahan sintetik dapat mencegah terjadinya infeksi, namun tidak sedikit yang memberikan efek samping seperti iritasi. Dengan ditemukannya beberapa kasus resistensi tersebut, biaya pengobatan dan kondisi penyakit akan lebih tinggi. Oleh karena itu diperlukan usaha untuk mengembangkan penggunaan sediaan berbahan herbal yang dapat membunuh bakteri untuk

menghindari terjadinya iritasi tersebut (Ariyanti, dkk, 2012). Salah satu tanaman yang memiliki potensi antibakteri tersebut adalah buah nanas (Makalew, dkk 2016).

Buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) merupakan tanaman yang dapat hidup diberbagai musim. Menurut Makalew, dkk (2016) tanaman nanas memiliki khasiat untuk kesehatan yang dikaitkan dengan kandungan enzim bromelin yang ada dalam buah nanas. Enzim bromelin mempunyai khasiat sebagai anti-inflamasi, aktivitas fibrinolitik, antibakteri dan dapat mencegah agregasi platelet . Akan tetapi buah nanas tidak dapat bertahan lama pada suhu ruang. Oleh sebab itu diperlukan suatu proses untuk mengolah buah nanas segar menjadi produk, salah satunya yaitu cuka. Cuka memiliki masa simpan yang lama dikarenakan kandungan asam asetatnya dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang menyebabkan keracunan pada makanan sebesar 0,1% (Leasa, 2015).

Berdasarkan uraian di atas, penulis tertarik untuk mengetahui uji aktivitas antibakteri cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya perasan daging buah nanas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 9,25 mm pada konsentrasi 100% (Gunawan dkk, 2019).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Adakah pengaruh perbedaan lama fermentasi cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ?
2. Berapa lama fermentasi cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah buah nanas yang didapat dari daerah Guci Kab. Tegal
2. Buah nanas yang digunakan buah yang masih segar yang diperoleh dari daerah Guci Kab. Tegal
3. Pembuatan cuka menggunakan metode fermentasi
4. Lama fermentasi 7 hari, 14 hari dan 21 hari
5. Uji evaluasi sediaan cuka meliputi uji organoleptis, uji pH dan uji kadar asam asetat
6. Aktivitas uji antibakteri menggunakan menggunakan metode difusi sumuran.
7. Bakteri uji menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus*
8. Uji yang dilakukan adalah mengukur diameter daya hambat

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan lama fermentasi cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui berapa lama fermentasi cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.5 Manfaat penelitian

1. Memberi informasi tentang pemanfaatan buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) dalam cuka
2. Menambah pengetahuan khususnya pembaca tentang khasiat buah nanas madu (*Ananas comosus* (L) Merr) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Meningkatkan pemanfaatan sumber daya alam Indonesia khususnya buah nanas madu (*Ananas comosus* (L) Merr)

1.6 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

No	Pembeda	(Firdausni, 2013)	(Gunawan dkk, 2019)	Peneliti
1.	Judul penelitian	Pengaruh Konsentrasi Gula Dan Ragi Dalam Pembuatan Cuka Dari Rosella (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L) Terhadap Mutu Cuka Rosella	Uji Antibakteri Perasan Buah Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L) Merr) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Uji Aktivitas Antibakteri Cuka Buah nanas (<i>Ananans comosus</i> (L) Merr) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>

Lanjutan Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

2.	Sampel Penelitian	Rosella	Perasan daging buah nanas	Cuka buah nanas madu
3.	Variable Penelitian	Cuka dari rosella dengan konsentrasi gula (10, 15, 20, 25) % dan ragi (2, 4, 6) gr dengan lama fermentasi selama 3 minggu. Uji yang dilakukan uji pH, Kandungan asam asetat, kadar sari dan uji aktifitas antioksidan. Alat yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL)	Perasan daging buah nanas (<i>Ananas comosus</i> (L) Merr) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Uji aktivitas antibakteri perasan daging buah nanas (<i>Ananas comosus</i> (L) Merr) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> menggunakan metode difusi cakram.	Cuka buah nanas (<i>Ananas comosus</i> (L) Merr) dengan lama fermentasi 7, 14 dan 21 hari. Uji aktivitas antibakteri cuka buah nanas (<i>Ananas comosus</i> (L) Merr) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> tempat pengambilan sampel, suhu dan waktu inkubasi, media tumbuh, proses pembuatan cuka, uji aktivitas antibakteri, dan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>
4	Metode Ekstrasi	Fementasi	Perasan daging buah nanas	Fermentasi
5	Hasil Penelitian	Cuka rosella pada 20% penambahan ragi 6gr memiliki pH 2,67, asama asetat 14,80%, kadar sari 7,15% dan 5 inhibisi 31% cuka buah rosella mengandung senywa fenolik dan flavonoid.	Perasan daging buah nanas memiliki efektifitas atibakteri terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan pada konsentrasi 100% yang paling efektif menghambat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Cuka buah nanas madu pada fermentasi 14 hari memiliki daya hamat palng baik sebesar 137,63 mm ² dengan diameter 14,39 mm.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Buah Nanas



Gambar 2.1 Buah Nanas

2.1.1.1 Klasifikasi Buah nanas

Klasifikasi tumbuhan nanas (Anggita, 2017) :

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuh-tumbuhan)
Sub Kingdom	: <i>Tracheobionta</i> (tumbuhan berbiji)
Super Divisii	: <i>Spermatophyta</i> (tumbuhan berbiji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Zingiberidae</i>
Bangsa	: <i>Bromeliales</i>
Suku	: <i>Bromeliaceae</i>
Marga	: <i>Ananas</i>
Jenis	: <i>Ananas comosus</i> (L) Merr.

2.1.1.2 Morfologi Buah Nanas

Tanaman nanas madu merupakan salah satu buah tropis yang memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi. Hal ini disebabkan nanas madu memiliki rasa yang lebih manis dibanding dengan nanas lainnya, sehingga nanas madu banyak dikonsumsi oleh masyarakat (Risalah, 2018)

Buah nanas termasuk kedalam buah majemuk karena terdiri dari kumpulan buah buah kecil berjumlah 100-200. Saat bunga mekar bakal biji pada buah nanas berguguran, sehingga yang menjadi biji pada buah yang telah masak sangatlah sedikit. Dengan ciri-ciri yang dimiliki oleh biji buah nanas yaitu bentuknya bulat telur, berwarna coklat, dan berukuran kecil (Sumardi, 2014).

2.1.1.3 Kandungan Buah Nanas

Menurut Murniati (2010), buah nanas mempunyai berbagai macam kandungan gizi yaitu protein, lemak, karbohidrat, fosfor, kalori, zat besi, vitamin (A, B). Selain itu terdapat juga kandungan magnesium, kalsium, natrium, kalium, dekstrosa, sukrosa (gula tebu), enzim bromelin. Enzim bromelin merupakan 95% campuran protease sistein, yang dapat menghidrolisis protein (proteolisis) dan tahan terhadap panas (Silaban, 2016). Buah nanas madu juga mengandung flavonoid, alkaloid, dan tannin (Yusliana, 2019). Flavonoid

merupakan senyawa fenol yang berfungsi sebagai antibakteri dan jamur (Wahyuni dkk, 2014).

2.1.1.4 Manfaat Buah Nanas

Buah nanas yang sudah masak memiliki khasiat untuk mengurangi asam lambung yang berlebihan, membantu mencerna makanan di lambung, antiradang, peluruh air seni (diuretik), membesihkan jaringan kulit yang mati, mengganggu pertumbuhan sel kanker, menghambat penggumpalan pada trombosit (sel darah putih). Buah nanas yang belum matang rasanya asam, berkhasiat mengacu enzim pencernaan, antelmintik, diuretik, peluruh haid, abortifum, mukolitik, dan pencahar. Buah nanas juga bias sebagai antipiretik (Sinaga, 2019).

2.1.2 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimia pada substrat organik, karbohidrat, protein, lemak atau lainnya, melalui kegiatan katalis biokimia yang dikenal sebagai enzim yang dihasilkan oleh jenis mikroba tertentu. Secara biokimia fermentasi juga dapat diartikan sebagai pembentukan energi melalui senyawa organik. Proses fermentasi glukosa dapat diubah secara anaerob menjadi alkohol oleh bermacam-macam mikroorganisme (Habibah, 2015).

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi menurut (Asam,2019)

yaitu:

1. pH

pH dari media sangat mempengaruhi terhadap pertumbuhan bakteri. Akan tetapi setiap mikroorganisme mempunyai pH minimal, maksimal, dan optimal untuk pertumbuhannya. pH yang optimal untuk pertumbuhan yeast berkisar 4,0-4,5 . Jika lebih rendah fermentasi alkohol akan berjalan dengan lambat.

2. Nutrien

Dalam pertumbuhannya mikroba membutuhkan nutien. Nutrient yang dibutuhkan di golongan menjadi dua golongan yaitu nutrient makro dan mikro. Nutrient makro meliputi karbon, nitrogen, fosfor dan kalium. Unsur mikro meliputi vitamin dan mineral-mineral seperti kalsium, magnesium, natrium, sulfur, clorin, besi, mangan, tembaga, kobalt, seng, molobdenem dan almunium.

3. Temperature

Mikroorganisme mempunyai temperature maksimal, optimal, dan minimal untuk pertumbuhannya. Temperature selama fermentasi perlu diperhatikan dikarenakan temperature mempunyai efek langsung terhadap pertumbuhan yeast juga mempengaruhi pada komposisi produk akhir. Jika temperature terlalu tinggi akan menonaktifkan yeast dan jika temperature

sangat rendah yeast akan menjadi tidak aktif. Temperatur optimal untuk yeast berkisar 25-30°C dan temperature maksimal antara 35-47°C. Beberapa jenis yeast dapat hidup pada suhu 0°C.

2.1.3 Cuka

2.1.3.1 Pengertian Asam Cuka

Asam cuka atau biasa disebut asam asetat merupakan senyawa asam kimia oraganik yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan. Asam cuka mempunyai rumus empiris $C_2H_4O_2$ atau sering kali ditulis CH_3COOH . Asam cuka murni (disebut asam cuka glasial) adalah cairan hidrokopis tak berwarna dan memiliki titik beku 16,7°C. Asam cuka merupakan hasil olahan makanan melalui fermentasi. Fermentasi glukosa secara anaerob dan menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan etanol. Fermentasi etanol secara aerob menggunakan bakteri *Acetobacter aceti* menghasilkan asam cuka (Rahma, 2019).

2.1.3.2 Fermentasi Glukosa Menjadi Etanol

Ragi tape adalah salah satu jenis dari biakan campuran yang memiliki peluang untuk memproses sari buah nanas madu secara fementasi, jika dilihat dari komposisi mikroba yang terdapat pada ragi tersebut. Ragi tape mengandung khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan untuk

mengubah glukosa menjadi etanol atau alkohol (Awidyanata, dkk, 2020). Jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang ditambahkan berkisar 3-10% dari volume medium fermentasi (Rahma, 2019).

2.1.3.3 Fermentasi Etanol Menjadi Asam Cuka

Asam cuka dihasilkan melalui proses fermentasi etanol menjadi asam cuka dengan menggunakan *Acetobacter aceti*. Ragi tape mengandung bakteri *Acetobacter aceti* yang sangat berperan dalam proses fermentasi dan dapat membantu dalam proses pembentukan asam asetat (Awidyanata, dkk, 2020). Pertumbuhan *Acetobacter aceti* akan optimal pada kondisi aerob. Hal ini dikarenakan bakteri *Acetobacter aceti* termasuk dalam bakteri aerob obligatif yaitu bakteri yang tidak dapat hidup tanpa adanya oksigen. Jumlah *Acetobacter aceti* yang digunakan dalam proses fermentasi ini berkisar antara 5-15% dari jumlah media fermentasi (Rahma, 2019).

2.1.3.4 Macam-macam cuka

1. Cuka Apel

Cuka apel yaitu hasil dari fermentasi buah segar yang mula-mulanya gula diubah menjadi alkohol (*etanol*), kemudian alkohol diubah menjadi asam asetat. Manfaat cuka apel sebagai antibiotik alami pembasmi bibit penyakit membantu mengontrol dan menormalkan berat badan.

2. Cuka Anggur

Cuka anggur yaitu cairan asam asetat yang dihasilkan melalui proses fermentasi gula dengan menggunakan bantuan *mikroorganisme*. Manfaat cuka anggur adalah untuk menurunkan jumlah lemak yang ada dalam tubuh.

3. Cuka Putih

Cuka putih tidak seperti cuka anggur yang difermentasikan dari anggur, cuka putih ini dibuat dari alkohol. Cuka putih mempunyai tingkat 5% tingkat keasaman.

4. Cuka Kesemek

Cuka kesemek biasanya digunakan sebagai bahan tambahan pada makanan pada makanan raja. Lama masa frementasinya selama 3 bulan jika diinginkan rasa yang lebih maka fermentasi dilakukan lebih dari 6 bulan dan frementtasi dilakukan dengan pemeraman.

5. Cuka Gandum

Cuka yang dihasilkan dari proses fermentasi gandum berwarna kecoklatan dan berubah menjadi cairan yang bening setelah proses penyulingan.

6. Cuka Coconut Vinegar

Cuka yang dibuat dari air kelapa yang rasanya tidak terlalu asam, tetapi mempunyai aroma yang kuat, biasanya

digunakan pada beberapa masakan agar efek rasa gurih.

7. Cuka Palm Vinegar

Cuka yang dibuat dari getah buah nipa muda yang mempunyai rasa dan aroma yang kuat, biasanya digunakan sebagai pelengkap menu masakan yang rasa pedas.

8. Cuka Rice Vinegar

Cuka yang dibuat dari beras warna warna yang bervariasi yaitu putih merah dan hitam. Rasanya ringan dan aroma lembut ini adalah cuka yang paling banyak digunakan untuk pelengkap makanan.

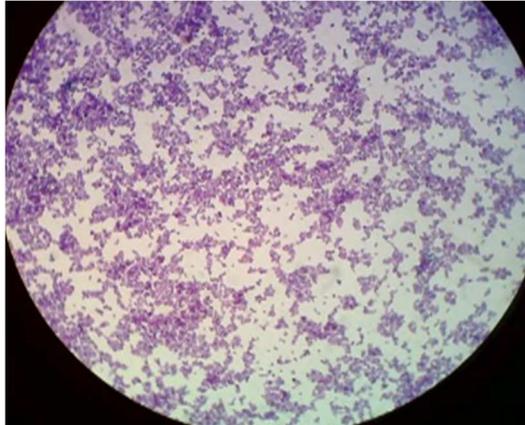
9. Cuka Cane Vinegar

Cuka yang dibuat dari gula tebu pilihan yang berwarna coklat keemasan dan mempunyai aroma lembut dan rasa manis dan sedikit pahit.

10. Cuka Honey Vinegar

Cuka yang dibuat dari madu berwarna kecoklatan yang memiliki aroma dan rasa yang kuat dan menyengat. Dapat digunakan sebagai pengobatan alternative dan pelengkap makanan (Irmayana, 2017).

2.1.4 *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.2 Hasil Pewarnaan *Staphylococcus aureus*

(Inayatullah, 2012)

2.1.4.1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Menurut (Atikah, 2013), klasifikasi *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

- Divisi : *Protophyta* atau *Schizophyta*
- Kelas : *Schizomycetes*
- Bangsa : *Eubacteriales*
- Suku : *Micrococcaceae*
- Marga : *Staphylococcus*
- Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.1.4.2. Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat memiliki diameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur,

fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (Syahrurachman dkk, 2010). Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Berdasarkan bakteri yang tidak membentuk spora, maka *Staphylococcus aureus* termasuk jenis bakteri yang paling kuat tahannya. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen. Pada lempeng agar, koloninya berbentuk bulat dengan diameter 1-2 mm, cembung, buram, mengkilat dan konsistensinya lunak. Koloni yang dibentuk berwarna abu-abu hingga kuning tua kecoklatan namun koloni bakteri yang masih sangat muda tidak berwarna. Batas suhu untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 15°C dan 40°C dan paling cepat berkembang pada suhu 37°C. Diantara semua bakteri yang tidak membentuk spora, *Staphylococcus aureus* termasuk jenis kuman yang paling kuat. Bakteri ini dapat hidup selama berbulan-bulan dalam media agar miring yang disimpan di lemari es maupun pada suhu kamar dan dapat bertahan dalam zat kimia yaitu alkohol 50-70% selama satu jam (Firdaus, 2014).

2.1.5 Media Pembiakan Bakteri.

Media pembiakan bakteri merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi atau zat-zat hara yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme, dan dipakai juga sebagai komponen dasar untuk membuat media biakan lain. Susunan dan kadar nutrisi suatu media untuk pertumbuhan mikroba dapat tumbuh optimal. Hal ini perlu dikemukakan mengingat banyak senyawa yang menjadi zat penghambat atau racun bagi mikroba jika kadarnya terlalu tinggi, misalnya garam dari asam lemak, gula dan sebagainya (Annisa, 2015).

Beberapa contoh media yang umum digunakan :

1. *Nutrient Agar* (NA)

Media *Nutrient Agar* (NA) merupakan media khusus karena dibuat sebagai tempat menumbuhkan mikroba yang sudah diketahui komposisi pembuatannya. Media NA dibuat dengan komposisi agar-agar yang sudah padat sehingga media NA dapat disebut dengan nutrient padat yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Fungsi agar-agar hanya sebagai pengental namun bukan zat makanan pada bakteri, agar dapat mudah menjadi padat pada suhu tertentu. Media NA merupakan salah satu media padat yang memiliki komposisi agar-agar yang telah dipanaskan dan mencair dengan suhu 95°C (Koswana, 2011).

2. *Brain Heart Infusion* (BHI)

Media *Brain Heart Infusion* (BHI) adalah media nutrisi yang digunakan untuk mengisolasi dan membudidayakan macam-macam jenis mikroorganisme. Medium BHI ini diperlukan untuk keperluan media cair dalam budidaya mikroorganisme, termasuk bakteri aerob dan anaerob, tetapi biasanya lebih dikhususkan untuk budidaya bakteri anaerob. Pada mulanya media BHI digunakan oleh Rosenow yang menambahkan jaringan otak ke dalam kaldu dekstrosa, yang menentukan formula ini efektif sebagai media untuk budidaya *Streptococcus* (Aslim, 2014).

3. *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Medium MHA yang digunakan dalam prosedur uji kepekaan terhadap antibiotik. Media ini terdiri dari infusa daging dan asama hidrolisa dari kasein. Agar merupakan perantara padat dan starch atau zar tepung yang berperan sebagai koloid pelindung terhadap bahan racun yang timbul dari dalam media tersebut. Media MHA disimpan dibawah suhu 25⁰C dan digunakan sebelum kadaluarsa, untuk media yang sudah jadi di simpan pada suhu 2-8⁰C yang tahan selama 1 minggu dan sebelum digunakan dikeringkan selam 30 menit pada suhu 37⁰C (Aslim, 2014).

2.1.6 Metode Pengujian Antibakteri

Pada uji ini, yang akan diukur adalah proses pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen mikroba. Salah satu manfaat dari uji antibakteri diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Penentuan setiap kepekaan kuman terhadap suatu obat dengan menentukan kadar obat terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan kuman *in vitro*. Menurut (Koswara, 2011) ada beberapa cara pengujian antibakteri antara lain:

2.1.6.1 Metode Difusi

Pada metode ini penentuan aktivitas di dasarkan pada ketentuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah di inokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan dibentuk di sekeliling zat antimikroba pada waktu tertentu masa inkubasi. Pada metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara :

1. Cara cakram (*Disc*)

Cara ini dilakukan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap macam obat-obatan. Pada cara ini digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut lalu diletakan pada lempengan agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian di inkubasi pada waktu tertentu dan

suhu tertentu, sesuai kondisi optimum dari mikroba uji. Lalu hasil yang telah diperoleh dapat diamati setelah diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37⁰C. Hasil pengamatan dapat dilihat dari ada tidaknya daerah bening yang tebebtuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri. Kelebihan dari metode ini tidak memerlukan peralatan yang khusus dan relative murah. Sedangkan kelemahannya ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi kondisi dan ketebalan medium (Prayoga,2013).

2. Cara parit (*ditch*)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi tentang zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil akan terlihat berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk sekitar parit.

3. Cara sumuran (*hole/cup*)

Pada lempengan agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu

sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan ada tidaknya hambatan di sekeliling lubang.

2.1.6.2 Metode Dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar yang kemudian diinokulasikan dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroba didalam media. Aktivitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambatan minimum (KMH) yang merupakan konsentrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. Menurut (Koswana, 2011) metode ini terdiri dari atas 2 cara antara lain:

1. Pengenceran serial dalam tabung

Pengujian dilakukan dengan menggunakan dengan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inoculum kuman dan larutan antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji aktivitas antibakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan kuman dan diinkubasi pada waktu dan suhu yang sesuai dengan mikroba uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai kadar hambatan minimum (MHM).

2. Penipisan lempeng agar

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar kemudian dituangkan dalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan kuman kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi hambatan minimum (KHM).

2.1.7 Inokulum dan Cara Mendapatkan Biakan Murni

Inokulasi adalah menanam inokula secara aseptis kedalam media steril baik pada media padat maupun media cair. Inokula merupakan bahan yang mengandung mikroba atau biakan mikroba baik dalam keadaan cair maupun padat.

Biakan murni adalah membunuh bakteri dalam suatu biakan yang mana di dalamnya hanya terdapat bakteri yang dibutuhkan tanpa adanya kontaminasi dari mikroba lain. Biakan murni diperlukan untuk keperluan diagnostik, karakterisasi mikroorganisme, industri farmasi dan kegiatan lainnya. Untuk memperoleh biakan murni diperlukan teknik kerja aseptis untuk mencegah terjadinya kontaminasi dengan biakan yang mungkin bersifat patogen. Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Media agar

merupakan substrat yang sangat baik untuk memisahkan campuran mikroorganisme sehingga masing-masing jenisnya menjadi terpisah-pisah. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Teknik yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme pada media agar memungkinkan mikroba tumbuh dengan agak berjauhan dari sesamanya, juga memungkinkan setiap selnya berhimpun membentuk koloni (Pelczar dan Chan, 1986).

Biakan murni umumnya dapat diperoleh dengan cara-cara berikut antara lain:

1. Cara penggarisan yaitu cara pembiakan yang dilakukan pada medium pembiakan padat bentuk lempeng dengan cara membuat garis sebanyak mungkin pada permukaan lempeng medium pembiakan dengan ose atau jarum, bahan pemeriksaan yang terlepas pada garis-garis tersebut semakin lama semakin sedikit, sehingga pada garis-garis terakhir koloni-koloni bakteri terbentuk akan terpisah jauh. Sebelum dilakukan penanaman harus diperhatikan supaya permukaan lempeng medium pembiakan itu kering. (Irianto, 2006).
2. Cara tuang yaitu cara isolasi bakteri yang dilakukan untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri hidup dalam suatu cairan. Cara tuang dilakukan dengan cara suspensi bahan pemeriksaan dibuat pengenceran, dari tiap pengenceran diambil 1 ml dan

diletakan ke dalam pinggan petri steril, kedalam pinggan petri steril tersebut dituang dimedium pembiakan yang telah dicairkan dan didinginkan sampai suhu kira-kira 40°C-50°C, dengan perlahan-lahan pinggan petri digoyang dengan memutar tanpa diangkat dari permukaan meja, sehingga tercampur rata, selanjutnya dilakukan pengeraman yang dilakukan pada suhu yang sesuai selama 18-20 jam, kemudian koloni-koloni dihitung.

3. Cara menanam dalam medium pembiakan miring yaitu dilakukan dengan cara tabung medium pembiakan miring dipegang tangan kiri dibagian ujung bawah. Bahan penanaman diambil dengan jarum dari koloni pada lempeng pembiakan, dengan jari kelingking tangan kanan tutup tabung dijepit dan sambil diputar ditarik keluar, setelah itu mulut tabung dijilatkan pada api, dengan jarak kira-kira 10-15cm, biakan yang melekat pada jarum atau ose ditahan pada permukaan medium biakan miring tersebut, dimulai dari dasar tabung dibuat garis berkelok-kelok ke atas, lalu segera tabung ditutup dan jarum bekas penanaman dipijarkan sebelum diletakan kembali tempatnya, selanjutnya pengeraman dilakukan pada suhu yang sesuai selama 18-20 jam (Irianto, 2006).

2.1.8 Sterilisasi

Menurut Irianto (2006), sterilisasi dapat dilakukan dengan cara, yaitu:

1. Sterilisasi kering

Sterilisasi kering dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

a. Pemijaran

Pemijaran diterapkan pada ose ujung-ujung pinset, dan sudip (spatula) logam.

b. Jilatan api (*Flaming*)

Jilatan api diterapkan terhadap scalpel, jarum, mulut tabung biakan, kaca objek dan kaca penutup. Benda-benda ini dijilatkan pada api bunsen tanpa membiarkan memijar. Dapat juga dilakukan dengan mencelupkannya kedalam spiritus bakar, kemudian dibakar, tetapi cara ini tidak menghasilkan suhu yang cukup tinggi untuk sterilisasi. Cara ini cukup diterapkan permukaan baskom dan mortir.

c. Tanur uap panas (*Hot-Air Oven*)

Sebagian besar sterilisasi kering dilakukan dengan alat ini menggunakan suhu 160-165°C selama 1 jam. Cara ini baik dilakukan terhadap alat-alat kering terbuat dari kaca, seperti tabung reaksi, piringan petri labu, pipet, pinset, skalpel, gunting dll. Juga diterapkan terhadap bahan-bahan kering dan tempat-tempat tertutup bahan serbuk (*talk, dermator*), lemak minyak.

Penyusupan panas kedalam bahan-bahan ini berjaln lambat sekali, karena itu harus disterilkan dalam jumlah sedikit dan dalam lapisan tipis tidak lebih dari 0,5cm dalm pinggan petri. Kadang-kadang dilakukan sterilisasi dalm suhu 170°C selama 2 jam.

2. Sterilisasi Basah

Sterilisasi basah dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

a. Penggodogan dalam air.

Cara ini hanya cukup untuk mematikan mikroorganisme yang tidak berspora. Perebusan dalam air tidak menjamin sterilisasi, akan tetapi dianggap cukup memuaskan untuk tujuan tertentu.

b. Uap mengalir

Uap mengalir bebas digunakan dalam tempat yang tidak tertutup rapat yang dapat menahan uap itu tanpa tekanan. Air mendidih dan uap bebas tidak pernah mencapai suhu lebih dari 100°C (212°F). Cara ini menghasilkan kadaan steril yang tidak dapat dicapai oleh penggodogan 1 jam, karena spora yang resisten dengan penggodogan ini tetap berada dalam keadaan non aktif. Keuntungan penggunaan cara ini tidak membutuhkan cara khusus. Kerugiannya ialah memakan waktu yang lama. Cara ini diterapkan antara lain untuk media gelatin, susu, dan karbohidrat.

c. Uap dalam tekanan

Pensterilan dengan uap dalam tekanan dilakukan dalam *autoklaf*. Dalam autoklaf ini uap berada dalam keadaan jenuh, dan peningkatan tekanan mengakibatkan suhu yang yang tercapai menjadi lebih tinggi yaitu dibawah tekanan 15 lb (2 atmosfer). Suhu dapat meningkat sampai 121°C. bila uap itu dicampur dengan udara yang sama banyak, pada tekanan yang sama, maka suhu yang tercapai hanya 110°C. itu sebabnya udara dalam autoklaf harus dikeluarkan sampai habis untuk memperoleh suhu yang diinginkan (121°C). Dalam suhu tersebut semua mikroorganisme, baik vegetative maupun spora dapat dimusnahkan dalam waktu yang tidak lama, yaitu sekitar 15 menit.

2.2 Hipotesis

1. Ada pengaruh perbedaan konsentrasi cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Pada konsentrasi ketiga cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah uji aktivitas antibakteri cuka buah nanas madu (*Ananas comosus* (L) Merr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.2 Sempel dan Teknik Sampling

Penelitian ini, sample yang digunakan adalah cuka buah nanas madu (*Ananas comosus* (L) Merr) yang dibuat di Laboratorium Politeknik Harapan Bersama dan buah nanas yang diperoleh dari daerah Guci Kab.Tegal. Teknis sampling yang digunakan dengan cara *simple random sampling*, yaitu pengambilan sampel secara acak.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variable yang merupakan sebab timbulnya atau berubahnya variable terikat (Supardi dan Surahman, 2014). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) dengan variasi lama fermentasi 7 hari, 14 hari, dan 21 hari.

3.3.2 Variabel Terikat

Variable Terikat adalah variabel yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Supardi dan Surahman, 2014). Variabel terikat pada penelitian ini adalah luas daerah hambat cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang perlu disamakan dan dibuat konstan, hingga tidak akan mempengaruhi hubungan variabel utama yang diteliti (Supardi dan Surahman 2014). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah tempat pengambilan sampel, suhu dan waktu inkubasi, media tumbuh, proses pembuatan cuka, uji aktivitas antibakteri dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.4 Teknik Pengambilan Data

3.4.1 Cara Pengumpul Data

1. Data yang digunakan yaitu data kuantitatif dan kualitatif
2. Metode Pengambilan data menggunakan eksperimen di Laboratorium farmasi Politeknik Harapan Bersama.

3.4.2 Alat dan Bahan

3.4.2.1 Alat

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu pisau, blender, jarum ose bundar, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, kapas dan lidi, timbangan analitik, kaki tiga, kompor spiritus, penangas, asbes, batang pengaduk, kertas saring, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, aluminium foil, ose steril, autoklaf, corong kaca, botol fermentasi, plastik wrap, korek api, jangka sorong, pH meter, buret, statif, klem.

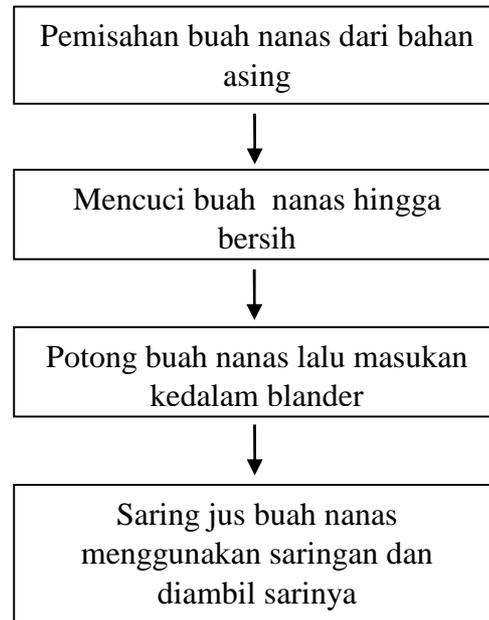
3.4.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah nanas madu (*Ananas comosus* (L) Merr) , ragi tape, daging, otak sapi, hati sapi, sukrosa, agar, indicator pp, NaoH 0,1N , bakteri *Staphylococcus aureus*, aquadest, pepton, dekstroza.

3.4.3 Cara Kerja

3.4.3.1 Persiapan Sampel

Buah nanas dilakukan pemisahan dari dan pembuangan bahan organik dan tumbuhan asing yang menempel, kemudian di cuci sampai bersih. Timbang buah nanas seberat 500 gram, potong kecil-kecil masukan ke dalam bander. Kemudian saring menggunakan saringan dan diambil sarinya.

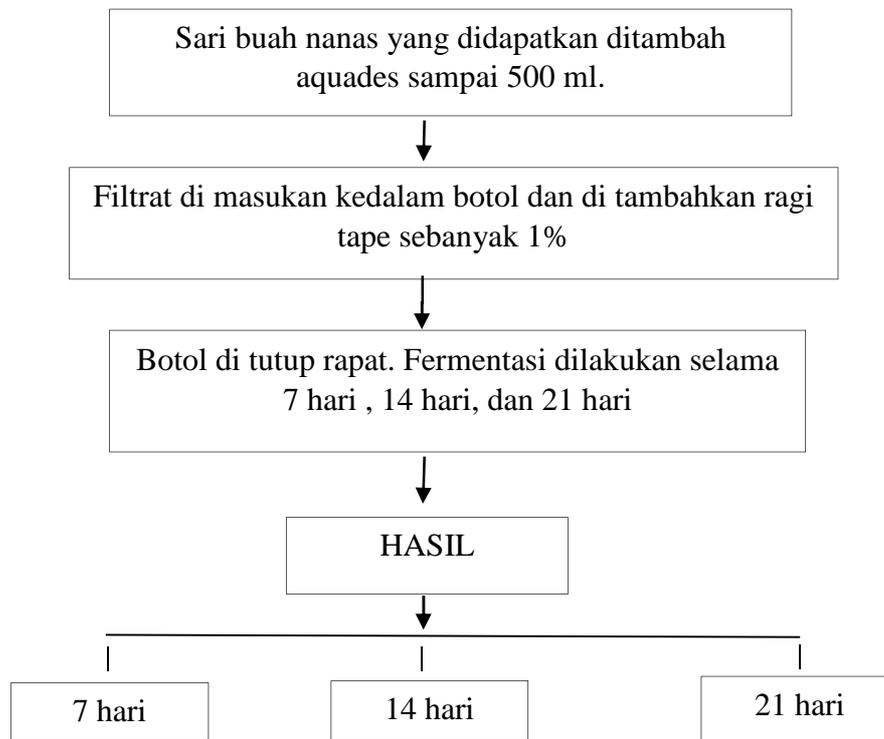


Gambar 3.1 Skema persiapan sempel

(Gunawan dkk, 2019)

3.4.3.2 Proses Fermentasi

Sari buah nanas yang telah didapat ditambahkan aquades sampai 500 ml. Larutan dimasukkan kedalam botol dengan menambahkan ragi tape sebanyak 1%. Botol ditutup rapat. Fementasi dilakukan selama 7 hari, 14 hari dan 21 hari.



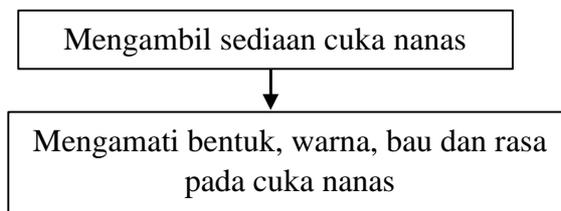
Gambar 3.2 Skema Pembuatan Cuka

(Wulandari dkk,2019 dan Awidyanata, 2020)

3.4.3.3 Evaluasi Cuka Nanas

1. Uji Organoleptis

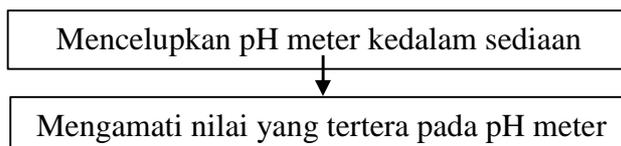
Uji organoleptis dilakukan untuk megamati bentuk, warna, bau dan rasa yang dihasilkan.



Gambar 3.3 Skema Uji Organoleptis (Sugiarti, 2019)

2. Uji pH

Pengukuran pH sediaan dilakukan menggunakan pH meter yang dicelupkan kedalam sediaan, kemudian mengamati angka yang tertera pada pH meter.



Gambar 3.4 Skema Uji pH (Awidyanata dkk, 2020)

3. Uji kadar Asam Asetat

Uji kadar asam asetat dilakukan untuk mengetahui kadar asam asetat pada sediaan cuka fermentasi yang dibuat dengan cara mencari nilai total asam sediaan cuka fermentasi terlebih dahulu, selanjutnya dikalikan dengan BM asam asetat (60,05) untuk mendapatkan kadar asam asetat. Uji total asam asetat dilakukan dengan cara titrasi. Semel di ambi 10ml kemudian ditambahkan 3 tetes indikator phenolphthalein (PP), kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda yang bertahan selama 30 detik.

Perhitungan total asam asetat dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

Total Asam (mEq NaOH/g) :

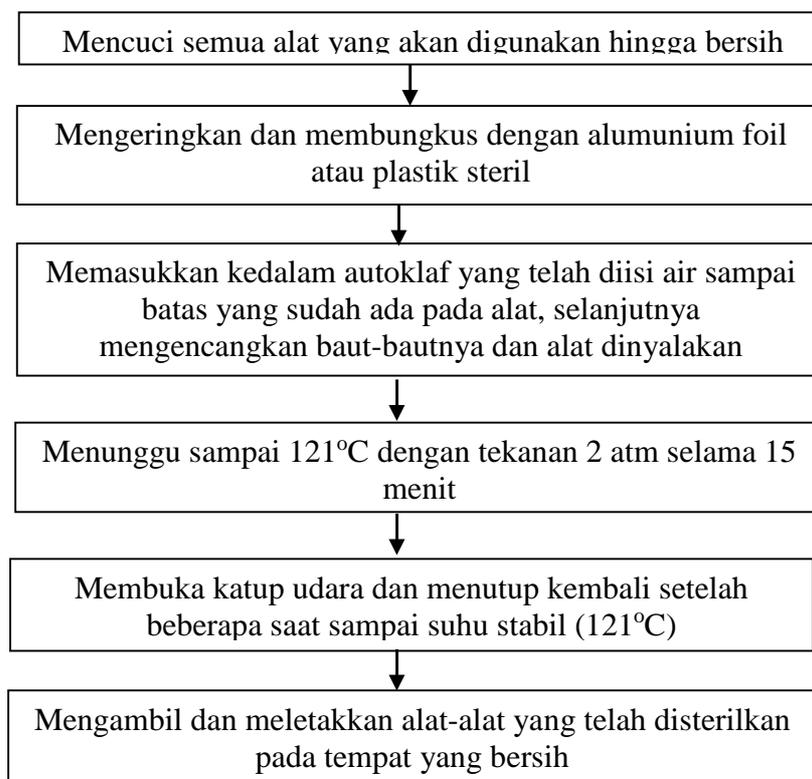
$$\frac{\text{ml titran} \times \text{N NaOH} \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{Sempel (g)}}$$

Kadar Asam Asetat (%) :

$$\frac{\text{ml titran} \times \text{N NaOH} \times \text{Faktor Pengenceran} \times \text{BM asetat (60,05)}}{\text{Sempel (mg)}} \times 100\%$$

3.4.3.4 Sterilisasi Alat

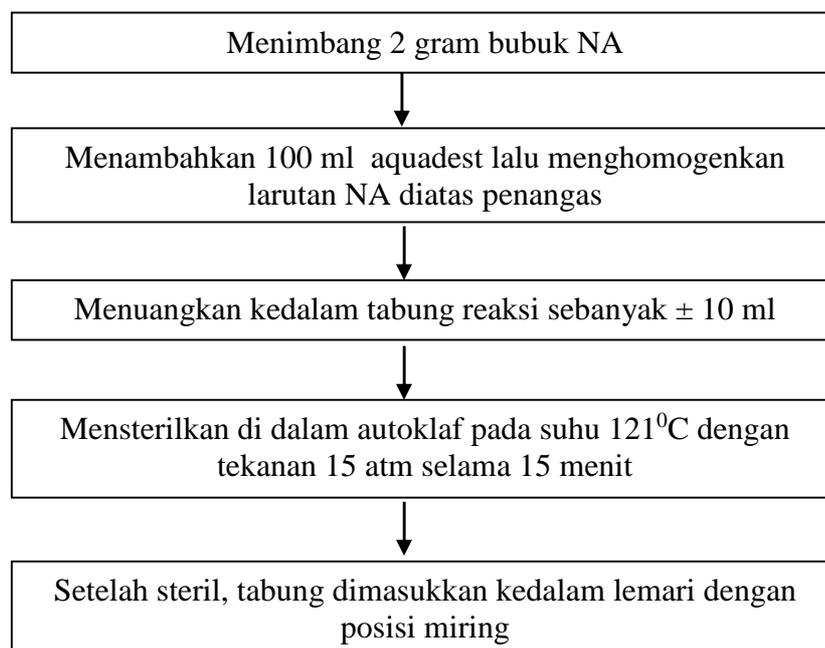
Sterilisasi dilakukan sebelum membuat uji aktivitas bakteri yaitu untuk mensterilkan alat-alat yang digunakan untuk membuat medium bakteri. Pada penelitian ini, sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf yaitu menggunakan uap dalam tekanan, proses tersebut dilakukan pada suhu 121⁰C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Alat-alat yang disterilisasi antara lain: tabung reaksi, jarum ose bundar, petridis, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, penjepit kayu dan kapas dan lidi.



Gambar 3.5 Skema Sterilisasi Alat (Sugiarti, 2019)

3.4.3.5 Pembuatan Media NA (*Nutrient Agar*)

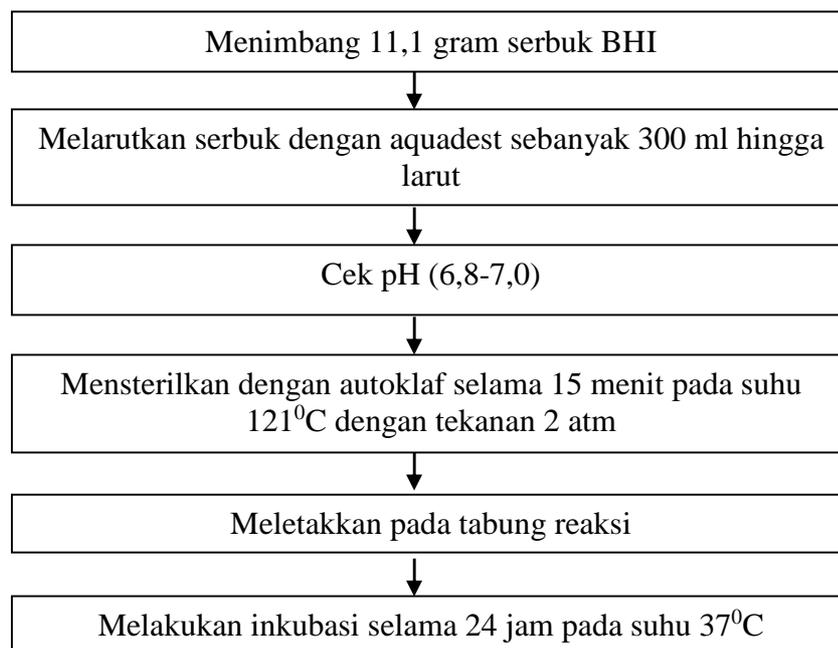
Media *Nutrient Agar* (NA) merupakan media khusus karena dibuat sebagai tempat menumbuhkan mikroba. Pembuatan media NA yang pertama dilakukan adalah menimbang serbuk NA sebanyak 6 gram, larutkan dengan 300 ml aquadest, kemudian cek pH (6,8-7,0). Tuangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 15 ml dan masukan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit, setelah diautoklaf masukkan kedalam lemari pendingin pada posisi miring.



Gambar 3.6 Skema Pembuatan Media NA (Putri, 2019).

3.4.3.5 Pembuatan Media BHI (*Brain Heart Infusion*)

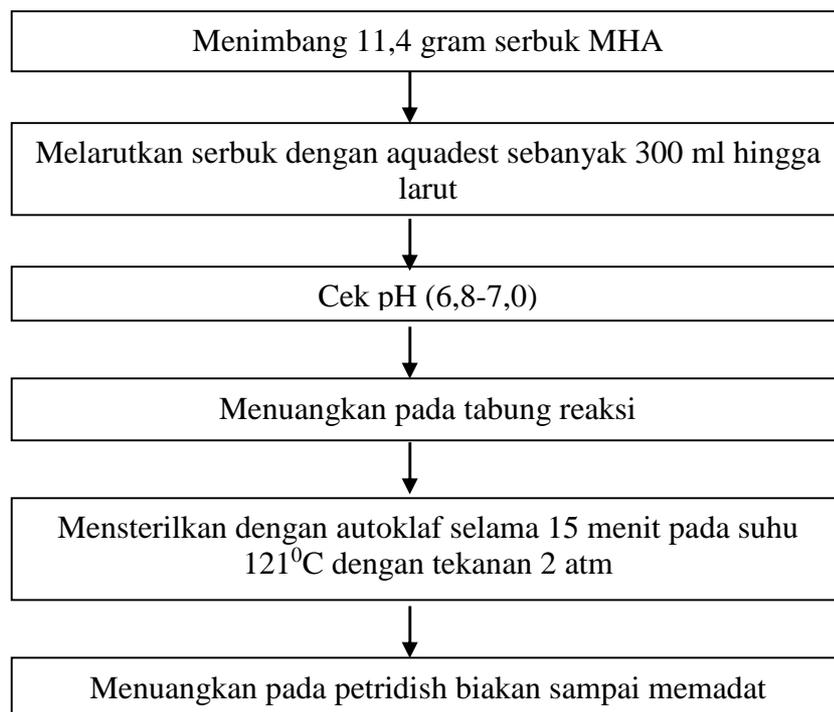
Media *Brain Heart Infusion* (BHI) berfungsi sebagai media untuk membudidayakan atau penyuburan mikroorganisme. Pembuatan medium BHI dilakukan dengan cara menimbang serbuk BHI sebanyak 11,1 gram, larutkan dengan 300 ml aquadest, kemudian cek pH (6,8-7,0). Tuangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 15 mL dan masukan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Melakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.



Gambar 3.7 Skema Pembuatan Media BHI (Putri, 2019)

3.4.3.6 Pembuatan Media MHA (*Muller Hinton Agar*)

Media *Muller Hinton Agar* (MHA) berfungsi sebagai media uji kepekaan terhadap antibiotik. Pembuatan medium MHA dilakukan dengan cara menimbang serbuk MHA sebanyak 11,4 gram, larutkan dengan 300 mL aquadest, kemudian cek pH (6,8-7,0). Tuangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 15 ml dan masukan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Kemudian menuangkan kedalam petridis biakan sampai memadat, melakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

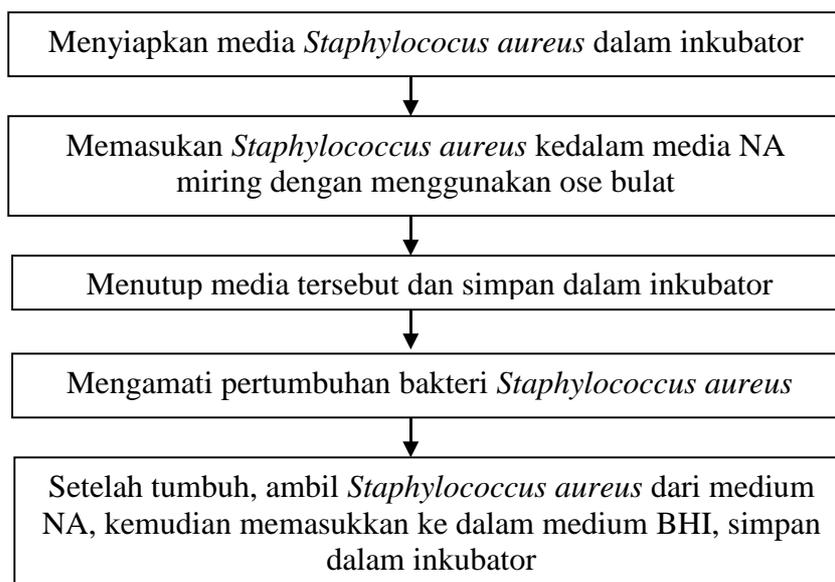


Gambar 3.8 Skema Pembuatan Media MHA (Putri, 2019)

3.4.3.7 Pembuatan Inokulum

Pembuatan inokulum atau penambahan bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu ose koloni *Staphylococcus aureus* dari media induk dan ditanam pada media NA miring dibuat garis lurus dengan menarik dasar tabung lurus keatas dan dilakukan beberapa kali dan proses tersebut diulangi pada media NA yang lain, setelah itu media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian amati perubahan yang terjadi, jika bakteri tersebut tumbuh kemudian proses dilanjutkan dengan menginokulasi pada media BHI dengan cara hasil pembiakan dari media NA miring kemudian diambil dengan menggunakan ose bulat dan

dipindahkan atau dimasukan ke dalam medium BHI yang terdapat koloni bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Proses-proses tersebut dilakukan pada ruang inkas secara aseptik dengan lampu spirtus yang menyala dan menggunakan masker serta sarung tangan.

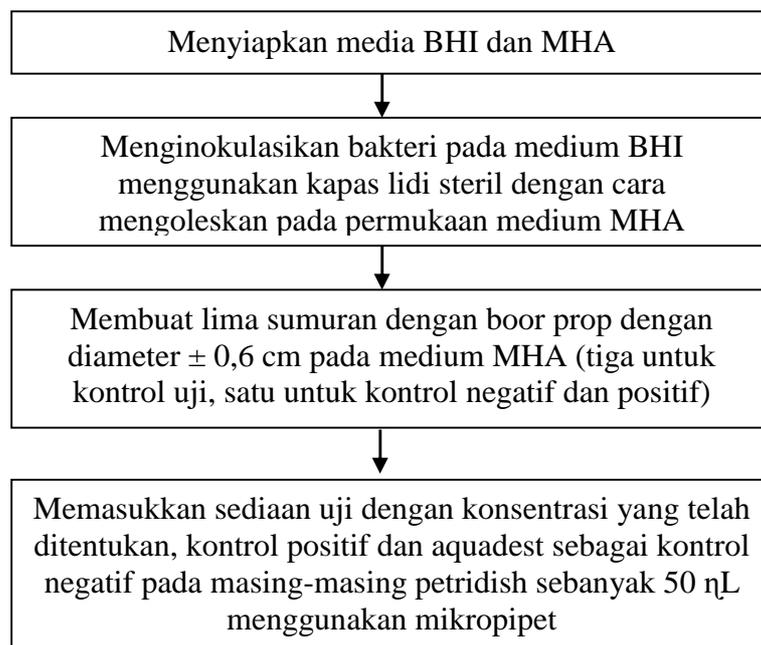


Gambar 3.9 Skema Pembuatan Inokulum (Wulandari, 2019)

3.4.3.8 Pengujian Daya Antibakteri

Pengujian daya antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi (sumuran) yaitu dengan cara mencelupkan pengusap kapas lidi steril pada medium BHI cair kemudian mengoleskannya secara perlahan pada permukaan medium MHA didalam cawan petri sampai rata, biarkan mengering selama 3-5 menit, kemudian membuat lima lubang sumuran pada media tersebut dengan menggunakan boor prop dengan diameter kurang lebih 0,6

cm. Pada penelitian ini dibuat lima lubang sumuran, dimana tiga lubang sumuran digunakan untuk kontrol uji yaitu cuka buah nanas dengan lama fermentasi 7 hari, 14 hari dan 21 hari satu sumuran digunakan untuk kontrol negatif yaitu aquadest, dan satu sumuran untuk kontrol positif yaitu cuka apel, masing-masing sebanyak 50 μ L menggunakan mikropipet, tiap masing-masing lubang sumuran diberi tanda. Rangkaian cara kerja tersebut dilakukan sebanyak tiga kali replikasi, diruang *in case aseptik* dengan lampu spirtus yang menyala serta menggunakan sarung tangan dan masker, untuk menghindari kontaminasi maka dilakukan dengan cara aseptik. Proses selanjutnya adalah inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37⁰C yaitu dilakukan dengan menggunakan inkubator yang telah diatur suhu dan waktunya.



Gambar 3.10 Skema Pengujian Daya Antibakteri
(Sugiarti, 2019 ; Putri, 2019)

3.4.3.7 Pembacaan Hasil

Pembacaan daerah hambat dari kombinasi cuka buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) dilakukan dengan cara mengukur diameter lubang sumuran dan diameter total disekitar lubang dengan menggunakan jangka sorong. Data diameter yang diperoleh kemudian dikonversikan ke dalam luas dengan menggunakan rumus luas lingkaran yaitu $L = \pi r^2$ dikatakan $\pi = 3,14$ dan r (jari-jari) = $\frac{1}{2}$ diameter, sehingga akan diperoleh luas total dan luas sumuran. Luas daerah hambat diperoleh dari luas total dikurangi luas sumuran.

$$\text{Luas daerah hambat} = \text{luas total} - \text{luas sumuran}$$

3.5 Cara Analisis

Analisis data yang dilakukan dalam penelitian ini dengan menggunakan analisa ANOVA satu arah.

BAB IV

HASIL PEELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada pengaruh perbedaan lama fermentasi pada sediaan cuka buah nanas terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan mengetahui lama ferentasi berapakah cuka buah nanas madu yang memiliki daya hambat paling baik terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcaa aureus* tersebut. Sampel yang digunakan adalah cuka buah nanas madu. Buah nanas yang digunakan yang masih segar yang didapat dari daerah Guci Kabupaten Tegal. Cara pengambilan sampel (*sampling*) yang digunakan adalah *simple random sampling*.

4.1 Pembuatan Cuka Buah Nanas

Buah nanas madu yang dijadikan bahan penelitian merupakan buah yang masih segar dan didapat dari daerah Guci Kabupaten Tegal. Setelah itu buah nanas madu dipisahkan dari daun dan kulitnya menggunakan pisau sampai bersih. Buah nanas yang telah dikupas kemudian dicuci menggunakan air mengalir. Tujuan dilakukan pencucian untuk membersihkan kotoran atau debu yang menempel pada permukaan buah nanas madu.

Tahap selanjutnya nanas madu ditimbang menggunakan timbangan seberat 500 gr, kemudian nanas madu dipotong menjadi 4 sampai dengan 8 bagian. Pemotongan ini dilakukan untuk mempermudah dalam proses penghalusan. Selanjutnya nanas madu dimasukan kedalam blender kemudian dilakukan penyaringan. Penyaringan dilakukan sampai air nanas dan ampas nanas

benar-benar terpisah. Air nanas inilah yang kemudian disebut dengan sari nanas.

Sari buah nanas madu yang sudah dibuat kemudian dibuat sediaan cuka buah nanas madu dengan cara difermentasi. Pembuatan cuka buah nanas madu meliputi beberapa tahap yaitu menyiapkan semua bahan meliputi sari buah nanas, ragi tape dan akuades. Ragi tape digunakan untuk mempercepat pada proses fermentasi. Ragi tape mengandung bakteri *Acetobacter aceti* yang sangat berperan dalam proses fermentasi dan dapat membantu dalam proses pembentukan asam asetat. Di dalam ragi tape juga terdapat jenis khamir *Saccharomyopsis cerevisiae* yang dapat mengubah glukosa menjadi alkohol dan gas (Awidyanata dkk, 2020).

Tahap selanjutnya menimbang dan mengukur semua bahan, kemudian masukan ekstrak kedalam toples dan memabahkan ragi tape aduk sampai tercampur rata atau homogen, kemudian toples ditutup rapat. Metode fermentasi ini menggunakan metode anaerob (tanpa adanya udara). Fermentasi dilakukan selama 7 hari, 14 hari dan 21 hari.

4.2 Evaluasi Sediaan Cuka Buah Nanas Madu

Sediaan cuka buah nanas madu yang telah difermentasi selanjutnya dilakukan uji sifat fisik. Adapun uji sifat fisik yang dilakukan yaitu organoleptis, pH, total asam dan kadar asam asetat.

1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis bertujuan untuk mengamati bentuk, warna, rasa dan bau dari sediaan cuka buah nanas madu. Berikut ini hasil dari uji organoleptis cuka buah nanas madu :

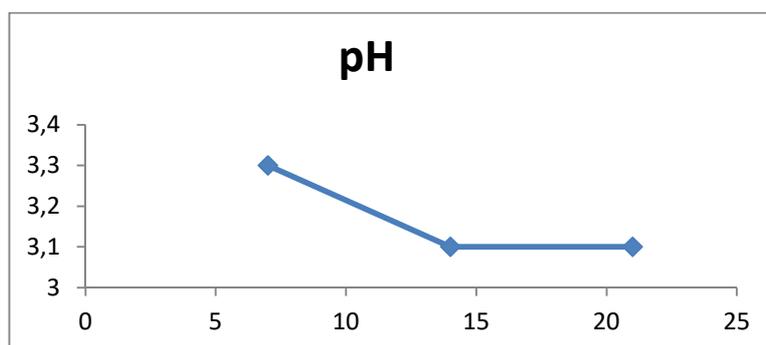
Tabel 4.1 Hasil Uji Organoleptis

Fermentasi	Bentuk	Warna	Bau	Rasa
7 hari	Cair	Kuning kecoklatan	Sedikit asam asetat	Asam
14 hari	Cair	Kuning kecoklatan	Sedikit asam asetat	Asam
21 hari	Cair	Kuning kecoklatan	Sedikit asam asetat	Asam

Berdasarkan tabel diatas, hasil uji organoleptis cuka buah nanas madu yang dibuat dengan waktu fermentasi yang berda memiliki bentuk, warna, rasa dan bau yang sama. Dapat disimpulkan bahwa cuka buah nanas madu telah memenuhi syarat mutu berdasarkan SNI 01-4371-1996.

2. Uji pH

Uji pH yang dilakukan bertujuan untuk mengecek dan memastikan apakah cuka buah nanas yang dibuat sesuai dengan standar yang telah ditentukan. Standar pH berdasarkan SNI 01-4371-1996 yaitu 3-4.

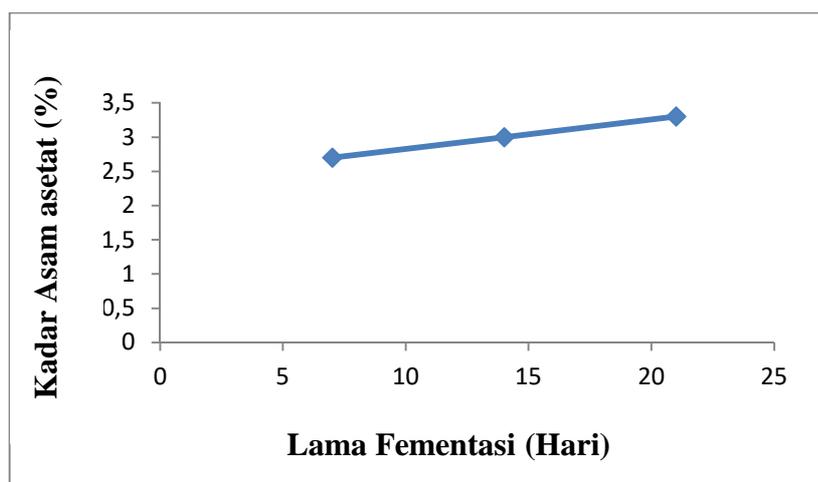


Gambar 4.1 Perubahan pH selama proses fermentasi

Hasil analisis menunjukkan bahwa lama fermentasi cuka buah nanas madu berpengaruh sangat nyata terhadap pH cuka buah nanas madu. Pada gambar 4.1 menunjukkan bahawa terjadinya penurunan pH pada cuka buah nanas fermentasi hari ke-14 (3,1). Selanjutnya pada fermentasi hari ke-21 tidak terjadi penurunan terhadap pH cuka buah nanas madu. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi maka semakin banyak alkohol yang diubah menjadi asam oleh mikroba sehingga fermentasi menjadi asam yang menyebabkan pH cuka buah nanas madu menjadi menurun (Aridona, dkk, 2015).

3. Kadar Asam Asetat

Uji kadar asam asetat yang dilakukan bertujuan untuk mengecek dan memastikan apakah cuka buah nanas yang dibuat sesuai dengan standar yang telah ditentukan.



Gambar 4.2 Perubahan kadar asam asetat selama proses fermentasi

Hasil analisis menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar asam asetat cuka buah nanas madu. Gambar 4.2 menunjukkan terjadinya peningkatan kadar asam asetat selama proses fermentasi. Ini berkaitan dengan semakin lama fermentasi semakin banyak alkohol yang teroksidasi oleh mikroba pada cuka buah nanas madu. Akan tetapi kadar asam asetat hasil fermentasi pada penelitian ini yaitu paling tinggi 3,3%, sedangkan berdasarkan SNI 01-4371-1996 kadar asam asetat pada cuka minimal 4% sehingga dapat diketahui bahwa kadar asam asetat tidak sesuai. Menurut Febriyani, dkk (2018) dikarenakan tidak digunakan bakteri yang spesifik yang menghasilkan asam cuka seperti *Acetobacter aceti*. Ini diperkuat

dengan penelitian sebelumnya (Andayani, dkk, 2019) dengan hasil kadar asam asetat 4,683% dengan lama fermentasi 6 hari menggunakan bakteri *Acetobacter aceti* *Beierinck IFO 3283 25%*.

4.3 Persiapan Uji Bakteri

Sediaan cuka buah nanas madu yang telah dibuat dilakukan uji antibakteri. Tahap pertama yang dilakukan adalah sterilisasi. Pada penelitian ini sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Tujuan dari sterilisasi ini adalah untuk membersihkan dan mencegah terjadinya kontaminasi mikroorganisme. Untuk menjaga suhu agar tetap 121°C, katup dibuka secara perlahan agar suhu tidak terus naik.

Proses sterilisasi selama 15 menit adalah syarat yang tertera pada Farmakope Indonesia edisi IV tahun 1995. Alat-alat yang disterilkan dalam penelitian ini seperti batang pengaduk, cawan petri, tabung reaksi, kapas lidi, dan gelas ukur.

Tahap kedua yaitu pembiakan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan 3 media yaitu: media *Nutrient Agar* (NA) sebagai media dasar yang digunakan untuk pembiakan bakteri, media *Brain Heart Infusion* (BHI) sebagai penyuburan bakteri, dan media *Muller Hinton Agar* (MHA) sebagai biakan selektif yang digunakan untuk menguji daya hambat bakteri. Setelah proses pembuatan, masing-masing media disterilkan dengan autoklaf. Tujuannya agar proses peeghilangan mikroorganisme dan untuk menjaga kemurnian suatu mikrobiologi agar diperoleh hasil yang sesuai.

Tahap ketiga itu pembuatan sumuran menggunakan *boorprop*. *Boorprop* yang digunakan hanya satu alat sehingga menghasilkan sumuran dengan ukuran yang sama. *Boorprop* yang digunakan dibersihkan dahulu sebelum digunakan kembali, untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

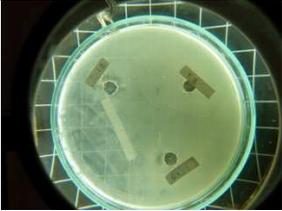
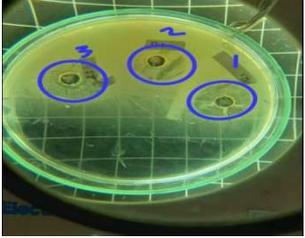
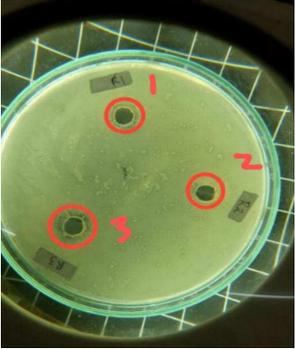
4.4 Uji Daya Hambat Bakteri

Selanjutnya dilakukan pengujian daya hambat bakteri dengan cara pada media MHA dibuat sumuran dengan diameter 6 mm. masing-masing media dibuat 3 sumuran yaitu untuk formula, kontrol positif, dan kontrol negatif.

Kontrol positif yang digunakan yaitu cuka apel dan kontrol negatif yang digunakan adalah aqua destilata. Pada masing-masing sumuran dilakukan pemberian sampel cuka buah nanas madu, Cuka apel dan aqua destilata dengan menggunakan mikropipet 50 μ L. Selanjutnya setelah masing-masing sumuran dimasukan sampel, kontrol positif dan kontrol negatif, cawan petri diinkubasi menggunakan incubator pada suhu 37°C selama 48 jam.

Media yang telah diinkubasi diamati untuk melihat adanya zona bening yang nampak disekitar sumuran. Zona bening tersebut merupakan daerah hambat cuka buah nanas madu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4.2 Gambar daya hambat aktivitas antibakteri cuka buah nanas madu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Fermentasi (Hari)	Gambar
7 hari	
14 hari	
21 hari	

Berdasarkan gambar hasil pengamatan diatas maka apat diperoleh daerah hamat bakteri. Daerah hambat bakteri diukur menggunakan jangkasorong dan diperoleh diameter (d) sumuran sebesar 6 mm maka jari-jari (r) sumuran 3 mm sehingga luas (L) sumuran didapatkan $28,26 \text{ mm}^2$.

Sedangkan data diameter dan luas total (daerah hambat + daerah sumuran) dapat dilihat pada tabel.

Tabel 4.3 Diameter dan Luas Total Uji antibakteri Cuka Buah Nanas Madu terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sediaan	Replikasi	Lama Fementasi (Hari)					
		7 hari		14 hari		21 hari	
		d (mm)	L (mm ²)	d (mm)	L (mm ²)	d (mm)	L (mm ²)
CukaBuah	1	0	0	14,09	155,83	6,01	28,35
Nanas Madu	2	0	0	12,09	114,73	7,01	38,55
	3	0	0	17,01	227,11	10,01	78,56
Rata-rata		0	0	14,36	165,89	7,67	48,48
Aquadest	1	0	0	0	0	0	0
(kontrol negtif)	2	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0
Rata-rata		0	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat dari rata rata diameter bahwa cuka buah nanas madu lebih tinggi pada fermentasi hari ke-14 yaitu 14,36 mm dengan respon kategori adalah kuat.

Pada hasil kontrol negatif yang diisi aquadest tidak membentuk zona bening pada media. Hal ini dikarenakan aquadest telah mengalami proses sterilisasi sehingga pada hasil sumuran tidak mmpengaruhi pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Pertumbuhan bakteri bergantung pada pengaruh luar

seperti makanan (nutrisi), atmosfer, suhu dan berbagai zat kimia yang dapat menghambat atau membunuh.

Setelah diperoleh data luas sumuran dan luas daerah total maka untuk memperoleh daya hambat yang ditampakan dengan zona bening dicari dengan rumus :

$$\text{Luas Daerah Hambat} = \text{Luas Total} - \text{Luas Sumuran}$$

Dari rumus luas daya hambat tersebut maka diperoleh luas daerah hambat bakteri pada tabk di bawah ini :

Tabel 4.4 Luas Daerah Hambat cuka buah nanas madu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Relikasi	Luas Daerah Hambat Cuka Buah Nanas Madu (mm ²)		
	7 Hari	14 hari	21 hari
1	0	127,57	0,09
2	0	86,47	10,29
3	0	198,85	50,39
Rata-rata	0	137,63	20,25

Berdasarkan tabel diatas dapat disimpulkan bahwa semakin lama fermentasi maka semakin besar pula luas daerah hambatnya. Data luas daya hambat yang

diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan SPSS dengan *One-way Anova*.

Tabel 4.5 Data Hasil *One-way Anova* Daya Hambat

ANOVA

Daya hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39501.659	4	9875.415	12.466	.001
Within Groups	7922.071	10	792.207		
Total	47423.730	14			

Berdasarkan tabel perhitungan *One-way Anova* luas daerah hambat cuka buah nanas madu didapatkan nilai F tabel 3,48 dan F hitung sebesar 12,466 dan memiliki nilai signifikansi 0,01 dengan tingkat kesalahan 0,05 dan taraf kepercayaan 95%. Nilai F hitung > F tabel (12,466 > 3,48) dengan nilai signifikansi < tingkat kesalahan (0,001 < 0,05) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang berbeda nyata (signifikansi) dan dapat diterima. Jadi dapat disimpulkan bahwa adanya pengaruh perbedaan lama fermentasi cuka buah nanas terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4.6 Luas Daerah Total dan Daerah Hambat Kontrol Positif Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri	Replikasi	Diameter (mm)	Luas Total (mm ²)	Luas Daerah Hambat (mm ²)
Staphylococcus aureus	1	9,5	70,83	42,57
	2	10,5	79,91	51,69
	3	9,8	75,39	47,13
Rata-rata		9,33	75,37	47,13

Berdasarkan tabel diatas dapat diperoleh nilai rata-rata luas daerah hambat cuka apel sebesar 47,13 mm². Adapun hasil uji antiakteri secara keseluruhan adalah bahwa pada fermentasi hari ke-7 tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, pada fermentasi hari ke-14 memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 137,63 mm², pada fermentasi hari ke-21 memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 20,25 mm², dan cuka apel sebagai kontrol positif memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 43,17 mm², sedangkan kontrol negatif tidak memiliki daya hambat. Berdasarkan penelitian Farziyanti (2015), semakin lama fermentasi akan mempengaruhi terhadap antibakteri karena bakteri semakin aktif yang artinya berkembang biak, semakin banyak jumlah sehingga mempunyai kemampuan untuk mencegah

substrat semakin besar. Akan tetapi pada penelitian ini zona hambat paling besar terdapat pada fermentasi hari ke-14 hari dan menurun pada fermentasi hari ke-21. Hal ini dapat disebabkan karena pada sediaan cuka yang dibuat terdapat seperti jamur diatas permukaan. Mikroba yang berperan dalam proses pembuatan cuka adalah khamir dan bakteri, mikroba yang banyak dapat menyebabkan rendahnya mutu bahan baku cuka, ini salah satunya diakibatkan mulai dari proses pembuatan sampai proses penelitian yang telah tercemar dan telah terkontaminasi oleh mikroba. Menurut (Baharrudin dkk, 2008) pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan diantaranya yaitu suhu, pH, aktifitas air, adanya oksigen. Menurut penelitian (Febriani dkk, 2018) setelah dilakukan pemberhentian pada proses fermentasi harus dilakukan destilasi untuk membunuh bakteri yang merugikan dan mendapatkan kadar asam asetat yang lebih murni. Akan tetapi pada penelitian ini tidak dilakukannya destilasi dikarenakan keterbatasan waktu dan tempat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Bedasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tentang uji aktivitas antibakteri cuka buah nanas madu (*Ananas comosus* (L) Merr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dandapat disimpulkan bahwa :

1. Ada pengaruh perbedaan lama feermentasi cuka buah nanas madu terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*
2. Pada hari ke-14 memiliki daya hambat terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* yang paling baik.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode fermentasi lain seperti aerob (menggunakan udara).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan sari buah nanas madu asli tanpa menambahkan aquades.
3. Perlu dilakukan uji padatan terlarut, kadar alkohol dan dan uji kadar gula.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode antibakteri lain seperti dilusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu, F. A., Yusriadi, Y., & Tandah, M. R. (2015). Formulasi Sediaan Sabun Cair Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) Dan Uji Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 1(1), 1-8.
- Andriani, N., Nurhayati, D., & Saing, M. D. (2019). Optimalisasi Lama Fermentasi Penambahan Konsentrasi *Acetobacter aceti* Pada Pembuatan Cuka Buah Apel Rhome Beauty Menggunakan Fementator. *Prosiding*, 3(3).
- Anggita, R. D. (2017). Studi Potensi Kulit Nanas Madu (*Ananas comosus* (L.) Merr) Sebagai Bahan Aanti Browning Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.).
- Annisa, A. (2015). Uji efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* L) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus muntas* Penyebab Karises Gigi. (Doktoral Dissertation, UPT. Perpustakaan Unad).
- Aridona, P. M., Wartini, M. N., & Arnata, W. I. (2015). Pengaruh lama fermentasi alami secara aerob cairan pulpa hasil samping fermentasi biji kakao terhadap karakteristik cuka fermentasi. *Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 3(3), 82-91.
- Ariyanti, N. K., Darmayasa, I. B. G., & Sudirga, S. K. (2012). Daya hambat ekstrak kulit daun lidah buaya (*Aloe barbadensis* Miller) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Biologi*, 16(1), 1-4.
- Asam, P. A. H. F., & Al Fatah, L. M. Y. (2019). Potensi Antibakteri Hasil Fermentasi Asam Cuka Buah Apel (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Karya Tulis Ilmiah*
- Aslim, F, 2014 Daya Hambat xylitol Terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme Rongga Mulut (*Streptococcus aureus* dan *candida ablicans*) Studi in Vitro.[skripsi]. Universitas Hasanudin fakultas Kedokteran Gigi.
- Atikah, N. 2013. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah
- Awidyanata, I. B. G., Putra, G. P. G., & Wrasati, L. p. Pengaruh Penambahan Ragi dan Waktu Fermentasi Hasil Sampling Cairan Pulpa Terhadap Karakteristik Mutu Cuka Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Rekayasa dan Managemen Agroindustri* ISSN, 2503, 488x.

- Baharuddin, S., & Yanti N. (2008) Penentuan mutu cuka nir aren (*Arenga pinnata*) berdasarkan SNI 01-4371-1996. *Jurnal Perennial*, 5(1) 31-35.
- Firdaus, T. 2014. Efektivitas Ekstrak Bawang Dayak Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Skripsi.
- Febriani, D. R., & Azizati, Z. (2018). Pembuatan Cuka Alami Buah Salak dan Pisang Kepok Beserta Kulitnya Teknik Fermentasi. *Walisongo Jurnal of Chemistry*, 1(2), 72-77
- Gunawan, H. C., Yusliana, Y., Daeli, P. J., Sarwendah, S., & Chiuman, L. (2019). Uji Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas Comosus* (L) Merr) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 15(2), 170-177.
- Habibah, F. (2015). *Produksi Substrat Fermentasi Bioetanol dari Alga Merah Gracilaria verrucosa melalui Hidrolisis Enzimatik dan Kimiawi* (Doctoral dissertation, Universitas Negeri Semarang).
- Inayatullah, S. 2012. Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatulla
- Irianto, Koes. 2006. *Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 1 dan 2*. Yrama Widiya: Bandung
- Irmayana, T. (2017). Keutamaan Cuka Dalam Hadis Nabi (*I'jaz Ilmi dalam Ilmu Kesehatan*) (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau).
- Koswana, S, 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Stroberi (*Fragaria xananassa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus muntas* Dengan Metode Difusi Cakram. [Skripsi]. Akademi Analisis Frmasi Putra Indonesia Malang
- Leasa, H., & Matdoan, M. N. (2015). Pengaruh lama fermentasi terhadap total asam cuka aren (*Arenga pinnata* Merr.). *BIOPENDIX: Jurnal Biologi, Pendidikan Dan Terapan*, 1(2), 140-145.
- Lenny, A. A. (2016). Daya Hambat Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana mill*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Skripsi.
- Makalew, M. A., Nangoy, E., & Wowor, P. M. (2016). Uji Efek Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas Comosus* (L) merr) Terhadap Bakteri *klebsiella Pneumoniae*. *eBiomedik*, 4(1).
- Murniati, E. 2010. *Sang Nanas Besisik Manis di Lidah*. SIC. Surabaya.

- Negara, K. S. (2016). Analisis implementasi kebijakan penggunaan antibiotika rasional untuk mencegah resistensi antibiotika di RSUP Sanglah Denpasar: Studi kasus infeksi methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Administrasi Rumah Sakit Indonesia*, 1(1).
- Prayoga, E. (2013) Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betie* L.) Dengan Metode Difusi *Disk* Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Sripsi. UIN Syarif Hidayatullah.
- Pelczar, M. J. & E.C.S. Chan, 1986, Penerjemah, Ratna Siri Hadioetomo dkk. *Dasar- Dasar Mikrobiologi 1*, Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Putri, N.A. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri *Foot Sanitizer Spray* Kombinasi Ekstrak Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica*) Dan Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Karya Tulis Ilmiah*. Tegal : Politeknik Harapan Bersama
- Rahma, ST. (2019). Pengaru Konsentrasi Garam Dan Cuka Terhadap Sifat Kimia Dan Organoleptik Partikel Mangga Golek Muda (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Mataram).
- Risalah, C. S. (2018). Kajian Penambahan Minyak Atsiri Rimpang Lengkuas Pada *Edibel Coating* Pati Buah Sukun Terhadap Mutu Nanas Madu Potong (Doctoral dissertation, University of Muhammadiyah Malang).
- Silaban, I., & Rahmanisa, S. (2016)1,. Pengaruh Enzim Bromelin Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) terhadap Awal Kehamilan. *Jurnal Majority*, 5(4), 80-85.
- Sinaga, L. Y. (2019). Uji Efek Antipiretik Jus Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) Terhadap Merpati Dengan Paracetamol Sebagai embanding.
- Sugiarti, I. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Sabun Cair Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*). *Karya Tulis Ilmiah*. Tegal : Politeknik Harapan Bersama
- Sumardi, budi.2014. Panen Untung dari Budi Daya Nanas Sistem Organik. Andi. Yogyakarta.
- Supardi, S., dan Surahman. 2014. *Metodologi Penelitian Untuk Mahasiswa Farmasi*. Jakarta : Trans Info Media
- Syahrurachman A. dkk. 2010. Buku ajar mikrobiologi kedokteran. Jakarta. Binarupa Aksara Publisher.
- Wahyuni IMD, Muktiani A, Christiyanto M. 2014. Kecernaan Bahan Kering dan Bahan Organik dan Degradabilitas Serat pada Pakan yang Disuplementasi Tanin dan Saponin. *Agripet*, 14 (2), pp. 115-124.

- Wulandari, N. W. P., Permana, D. G.m., & Duniaji, A. S. Pengaruh Jenis Ragi Terhadap Fermentasi Kakao Terhadap Karakteristik Cuka Kakao
- Wulandari, T. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri *Foot Santizier Spray* Kombinasi Ekstrak Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) Dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz dan Pav*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Karya Tulis Ilmiah*. Tegal: Politeknik Harapan Bersama
- Yusliana, Y. Heronimus, CGL. Pieter, JD. Linda, C. 2019. Uji Daya Hambat Antibakteri air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr Var. Queen) Terhadap Bakteri *Slamonella typhi*. *Scientia Journal* 8 (1).
- Zania, E., & Junaid, J. (2018). Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Dermatitis Kontak pada Nelayan di Kelurahan Induha Kecamatan Latambaga Kabupaten Kolaka Tahun 2017. (*Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*), 3(3).

LAMPIRAN 1

Perhitungan Pembuatan Cuka Nana Madu

1. Perhitungan Ragi Tape 1%

$$\frac{1}{100} \times 500 \text{ ml} = 5 \text{ gram (5 gr dalam 500ml sari buah nanas)}$$

500ml sari nanas diperoleh dari 500gr buah nanas ditambah aquades sebanyak 100 ml.

2. Perhitungan larutan NaOH

NaOH 0,1 N dibuat 500 ml

$$N = (m \times \text{val}/\text{Mr}) \times (1000/V)$$

$$0,1 = (m \times 1/40) \times (1000/ 500)$$

$$0,1 = (m/40) \times 2$$

$$4m = 2$$

$$m = 2 \text{ gr}$$

Larutan NaOH sebagai larutan induk pada proses titrasi yang berguna menentukan asam basa.

3. Perhitungan kadar asam asetat

- a. Fermentasi 7 hari

- 1) Perhitungan sampel

$$\text{Pikno kosong} = 17,56 \text{ gr (a)}$$

$$\text{Pikno + isi} = 28,39 \text{ gr (b)}$$

$$(\text{Pikno + isi}) - (\text{pikno kosong}) = 28,39 - 17,56 = 10,83 \text{ gr (c)}$$

$$\text{Berat isi} = \frac{10,83 \text{ gr}}{25 \text{ ml}} = 0,43 \text{ gr/ml}$$

$$\text{Sampel} = 10 \text{ ml} \times 0,43 \text{ gr/ml} = 4,3 \text{ gr}$$

Perhitungan sampel ini bertujuan untuk mencari berapa gram sampel cuka buah nanas dalam 10 ml cuka buah nanas menggunakan pikno dengan volume 25 ml.

2) Hasil dari titrasi

No.	V. sampel	V. NaOH 0,1 N
1.	10 ml	19,5
2.	10 ml	19,4
3.	10 ml	19,4
Rata-rata		19,4

Titration dilakukan untuk menentukan asam basa pada sampel yang dibuat. Sampel yang digunakan sebanyak 10ml kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1N dengan buret volume 25ml.

3) Perhitungan total asam

$$\text{Total asam} = \frac{\text{ml titran} \times N \text{ NaOH} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Sampel (g)}}$$

$$\frac{19,4 \times 0,1 \times 1}{4,3 \text{ gr}}$$

$$\frac{1,94}{4,3} = 0,451 \text{ mEq NaOH/g}$$

4) Kadar asam asetat (%)

$$= \frac{\text{ml titran} \times N \text{ NaOH} \times F. \text{pengenceran} \times \text{BM asetat}(60,05)}{\text{Sampel (ml)}} \times 100\%$$

$$= \frac{19,4 \times 0,1 \times 1 \times 60,05}{4300 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{116,497}{4300} \times 100\%$$

$$= 0,027 \times 100\%$$

$$= \mathbf{2,7\%}$$

b. Fermentas 14 hari

1) Perhitungan sampel

$$\text{Pikno kosong} = 18,29 \text{ gr (a)}$$

$$\text{Pikno + isi} = 28,56 \text{ gr (b)}$$

$$(\text{Pikno + isi}) - (\text{pikno kosong}) = 28,56 - 18,29 = 10,27 \text{ gr (c)}$$

$$\text{Berat isi} = \frac{10,27 \text{ gr}}{25 \text{ ml}} = 0,41 \text{ gr/ml}$$

$$\text{Sampel} = 10 \text{ ml} \times 0,41 \text{ gr/ml} = 4,1 \text{ gr}$$

Perhitungan sampel ini bertujuan untuk mencari berapa gram sampel cuka buah nanas dalam 10 ml cuka buah nanas menggunakan pikno dengan volume 25 ml.

2) Hasil dari titrasi

No.	V. sampel	V. NaOH 0,1 N
1.	10 ml	21
2.	10 ml	20,05
3.	10 ml	20,05
Rata-rata		20,67

Titrasi dilakukan untuk menentukan asam basa pada sampel yang dibuat. Sampel yang digunakan sebanyak 10ml kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1N dengan buret volume 25ml.

3) Perhitungan total asam

$$\text{Total asam} = \frac{\text{ml titran} \times N \text{ NaOH} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Sampel (g)}}$$

$$\frac{20,67 \times 0,1 \times 1}{4,1 \text{ gr}} = 0,504 \text{ mEq NaOH/g}$$

4) Kadar asam asetat (%)

$$= \frac{\text{ml titran} \times N \text{ NaOH} \times F.\text{pengenceran} \times \text{BM asetat}(60,05)}{\text{Sampel (ml)}} \times 100\%$$

$$= \frac{20,67 \times 0,1 \times 1 \times 60,05}{4100 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{124,12}{4100} \times 100\%$$

$$= 0,030 \times 100\% = 3 \%$$

c. Fermentas 21 hari

1) Perhitungan sampel

$$\text{Pikno kosong} = 18,32 \text{ gr (a)}$$

$$\text{Pikno + isi} = 28,15 \text{ gr (b)}$$

$$(\text{Pikno + isi}) - (\text{pikno kosong}) = 28,15 - 18,29 = 9,83 \text{ gr (c)}$$

$$\text{Berat isi} = \frac{9,83 \text{ gr}}{25 \text{ ml}} = 0,39 \text{ gr/ml}$$

$$\text{Sampel} = 10 \text{ ml} \times 0,39 \text{ gr/ml} = 3,9 \text{ gr}$$

Perhitungan sampel ini bertujuan untuk mencari berapa gram sampel cuka buah nanas dalam 10 ml cuka buah nanas menggunakan pikno dengan volume 25 ml.

2) Hasil dari titrasi

No.	V. sampel	V. NaOH 0,1 N
1.	10 ml	21,6
2.	10 ml	21,7
3.	10 ml	21,6
Rata-rata		21,63

Titrasi dilakukan untuk menentukan asam basa pada sampel yang dibuat. Sampel yang digunakan sebanyak 10ml kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1N dengan buret volume 25ml.

3) Perhitungan total asam

$$\text{Total asam} = \frac{\text{ml titran} \times N \text{ NaOH} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Sampel (g)}}$$

$$\frac{21,63 \times 0,1 \times 1}{3,9 \text{ gr}}$$

$$\frac{2,163}{3,9 \text{ gr}} = 0,554 \text{ mEq NaOH/g}$$

4) Kadar asam asetat (%)

$$= \frac{\text{ml titran} \times N \text{ NaOH} \times F.\text{pengenceran} \times \text{BM asetat}(60,05)}{\text{Sampel (ml)}} \times 100\%$$

$$= \frac{21,63 \times 0,1 \times 1 \times 60,05}{43900 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{129,88}{3900} \times 100\%$$

$$= 0,33 \times 100\% = \mathbf{3,3 \%}$$

LAMPIRAN 2

Perhitungan Media

Media yang digunakan yaitu media NA, BHI dan MHA. Media yang digunakan berupa instan atau dengan kata lain tinggal menambahkan aquades lalu dipanaskan. Bakteri yang digunakan yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapat dari Laboratorium Politeknik Harapan Bersama.

1. Media Nutriet Agar (NA)

Literatur 6 gram dalam 300 ml aquadest

$$\begin{aligned} \text{Perhitugan} &= \frac{6}{300} = \frac{x}{120} \\ &= 720 = 300x \\ x &= 2,4 \text{ gram darutkan dalam 120 ml aquadest} \end{aligned}$$

2. Median Brain Heart Infusion (BHI)

Literatur 11,1 gram dalam 300 ml aquadest

$$\begin{aligned} \text{Perhitunan} &= \frac{11,1}{300} = \frac{x}{150} \\ &= 165 = 300x \\ x &= 5,55 \text{ gram dilarutan dalam 150 ml aquadest} \end{aligned}$$

3. Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Literatur 11,4 gram dalam 300 ml aquadest

$$\begin{aligned} \text{Perhitugan} &= \frac{11,4}{300} = \frac{x}{200} \\ &= 2280 = 300x \\ x &= 7,6 \text{ gram dilarutkan dalam 200 ml aquadest} \end{aligned}$$

LAMPIRAN 3
Perhitungan Daya Hambat

Diketahui :

Diameter sumuran (d)	= 6 mm
Jari-jar (r)	= 3 mm
Luas sumuran	= πr^2
	= $3,14 \times (3)^2$
	= $3,14 \times 9$
	= $28,26 \text{ mm}^2$

Sehingga : Luas daya hambat = luas total – luas sumuran

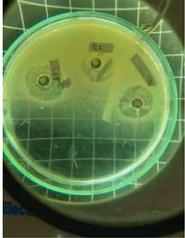
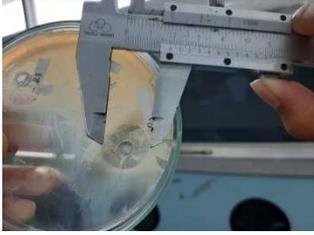
1. Cuka buah nanas madu fermentasi 7 hari
 - a. Tidak ada daya hambat
 - b. Tidak ada daya hambat
 - c. Tidak ada daya hambat
2. Cuka buah nanas madu fermentasi 14 hari
 - a. $155,83 \text{ mm}^2 - 28,26 \text{ mm}^2 = 127,57 \text{ mm}^2$
 - b. $114,73 \text{ mm}^2 - 28,26 \text{ mm}^2 = 86,47 \text{ mm}^2$
 - c. $227,11 \text{ mm}^2 - 28,26 \text{ mm}^2 = 198,85 \text{ mm}^2$
3. Cuka buah nanas madu fermentasi 21 hari
 - a. $28,35 \text{ mm}^2 - 28,26 \text{ mm}^2 = 0,09 \text{ mm}^2$
 - b. $38,55 \text{ mm}^2 - 28,26 \text{ mm}^2 = 10,29 \text{ mm}^2$
 - c. $78,56 \text{ mm}^2 - 28,26 \text{ mm}^2 = 50,30 \text{ mm}^2$
4. Kontrol positif
 - a. $70,83 \text{ mm}^2 - 28,26 \text{ mm}^2 = 42,57 \text{ mm}^2$
 - b. $79,91 \text{ mm}^2 - 28,26 \text{ mm}^2 = 51,65 \text{ mm}^2$
 - c. $75,39 \text{ mm}^2 - 28,26 \text{ mm}^2 = 47,13 \text{ mm}^2$

LAMPIRAN 4
Gambar Penelitian

Gambar	Keterangan
	Gambar 1 Gambar buah nanas madu
	Gambar 2 Penimbangan buah nanas madu untuk untuk pembuatan cuka
	Gambar 3 Proses pemotongan buah nanas madu
	Gambar 4 Proses penghalusan buah nanas madu
	Gambar 5 Proses pemisahan sari nanas dengan ampasnya

	<p>Gambar 6</p> <p>Penimbangan ragi tape sebanyak 5gr</p>
	<p>Gambar 7</p> <p>Proses fermentasi selama 7 hari, 14 hari dan 21 hari</p>
 <p>7 hari 14 hari 21 hari</p>	<p>Gambar 8</p> <p>Uji pH pada sediaan cuka buah nanas madu</p>
 <p>a b</p>	<p>Gambar 9</p> <p>a. Penimbangan pikno kosong b. Penimbangan pikno + isi</p>
	<p>Gambar 10</p> <p>Uji kadar asam asetat menggunakan titrasi asam basa</p>
	<p>Gambar 11</p> <p>Hasil seteah diakukan titrasi asam basa</p>

	<p>Gambar 12</p> <p>Menimbang media NA, BHI dan MHA</p>
	<p>Gambar 13</p> <p>Membuat media NA, BHI dan MHA</p>
	<p>Gambar 14</p> <p>Proses sterilisasi alat dan media menggunakan autoklaf</p>
	<p>Gambar 15</p> <p>Media Na dan BHI yang sudah diinkubasi</p>
	<p>Gambar 16</p> <p>Proses pengoleasan media BHI ke dalam media MHA</p>
	<p>Gambar 17</p> <p>Proses membuat lubang sumuran pada media MHA menggunakan <i>borpoop</i></p>
	<p>Gambar 18</p> <p>Proses memasukan sampel kedalam sumuran dengan Mikropipet</p>

	<p>Gambar19</p> <p>Proses menginkubasi media yang telah ditanami bakteri dengan suhu 37°C</p>
	<p>Gambar 20</p> <p>Proses pengamatan daerah hambat bakteri</p>
	<p>Gambar 21</p> <p>Proses pengukuran daya hambat bakteri menggunakan jangka sorong</p>

LAMPIRAN 5

Uji Analisis Menggunakan SPSS *One-way ANOVA*

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Daya hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.607	4	10	.012

Dari hasil uji test of Homogeneity of Variances menunjukkan bahwa nilai sig. sebesar 0,012 lebih kecil dari alpha 0,05 yang berarti asumsi ANOVA tidak terpenuhi atau variasi antar kelompok tidak sama atau tidak homogen.

ANOVA

Daya hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	39501.659	4	9875.415	12.466	.001
Within Groups	7922.071	10	792.207		
Total	47423.730	14			

Dari hasil ANOVA menunjukkan bahwa :

- Nilai F hitung sebesar 12,466 lebih besar dari F table 3,48 (yang didapat dari table F dengan mencari nilai df1 dan df2)
- Nilai Sig. sebesar 0,001 lebih kecil dari pada alpha.

Sehingga menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang berbeda atau signifikan dan hipotesis diterima. Jadi dapat disimpulkan bahwa adanya pengaruh perbedaan lama fermentasi pada cuka buah nanas.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Daya hambat

	(I) faktor	(J) faktor	Mean Differen ce (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Games- Howell	7 hari	14 hari	- 137.630 00	32.8289 4	.154	- 390.219 6	114.959 6
		21 hari	- 20.2566 7	15.3516 9	.714	- 138.374 3	97.8610
		Kontrol positif	- 47.1300 0	2.63272	.010	- 67.3864	- 26.8736
		Kontrol negatif	.00000	.00000	.	.0000	.0000
	14 hari	7 hari	137.630 00	32.8289 4	.154	- 114.959 6	390.219 6
		21 hari	117.373 33	36.2410 5	.179	- 83.1356	317.882 3
		Kontrol positif	90.5000 0	32.9343 4	.306	- 159.231 2	340.231 2
		Kontrol negatif	137.630 00	32.8289 4	.154	- 114.959 6	390.219 6
	21 hari	7 hari	20.2566 7	15.3516 9	.714	- 97.8610	138.374 3
		14 hari	- 117.373 33	36.2410 5	.179	- 317.882 3	83.1356
		Kontrol positif	- 26.8733 3	15.5758 0	.557	- 139.339 1	- 85.5924

	Kontrol negatif	20.2566 7	15.3516 9	.714	- 97.8610	138.374 3
Kontrol positif	7 hari	47.1300 0*	2.63272	.010	26.8736	67.3864
	14 hari	- 90.5000 0	32.9343 4	.306	- 340.231 2	159.231 2
	21 hari	26.8733 3	15.5758 0	.557	- 85.5924	139.339 1
	Kontrol negatif	47.1300 0*	2.63272	.010	26.8736	67.3864
Kontrol negatif	7 hari	.00000	.00000	.	.0000	.0000
	14 hari	- 137.630 00	32.8289 4	.154	- 390.219 6	114.959 6
	21 hari	- 20.2566 7	15.3516 9	.714	- 138.374 3	- 97.8610
Kontrol positif	- 47.1300 0*	- 2.63272	- .010	- 67.3864	- 26.8736	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Berdasarkan table Multiple Comparisons didapat rata-rata cuka buah nanas madu berbeda signifikan adalah antara lama fermentasi 7 hari dengan control positif.



Yayasan Pendidikan Harapan Bersama

PoliTekniK Harapan Bersama

PROGRAM STUDI D III FARMASI

Kampus I : Jl. Mataram No. 9 Tegal 52142 Telp. 0283-352000 Fax. 0283-353353
 Website : www.poltektegal.ac.id Email : farmasi@poltektegal.ac.id

No : 052.06/FAR.PHB/III/2021
 Hal : Keterangan Praktek Laboratorium

SURAT KETERANGAN

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Novia Mizrotun
 NIM : 18080109
 Judul KTI : Uji Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Nanas Madu (*Ananas comosus* (L) Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

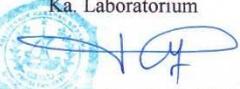
Benar – benar telah melakukan penelitian di Laboratorium DIII Farmasi PoliTeknik Harapan Bersama Tegal.

Demikian surat keterangan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 5 Maret 2021
 Mengetahui,

Ka. Prodi DIII Farmasi

 apt. Sari Prabandari, S.Farm.,M.Mi
 NIPY. 08.015.223

Ka. Laboratorium

 apt. Meliyana Perwita S, M.Farm
 NIPY.09.016.312

CURICULUM VITAE

Nama : Novia Mizrotun
NIM : 18080109
Jenis Kelamin : Perempuan
TTL : Brebes, 08 Agustus 2000
Alamat : Dukuhturi 1 Rt 07/01, Ketanggungan
Kota : Brebes
Email : mizrotunnovia@gmail.com
No. Telp/HP : 089653311441

RIWAYAT PENDIDIKAN

SD : SDN Ketanggungan 06
SMP : MTsN Ketanggungan
SMA : SMK Wicaksana
D III : Politeknik Harapan Bersma Tegal

NAMA ORANG TUA

Ayah : Cahyono (alm)
Ibu : Rasmini
Alamat : Dukuhturi 1 Rt 07/01 Ketanggungan Brebes
Judul penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Cuka Buah Nanas Madu (*Ananas comosus* (L) Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*