

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu masalah kesehatan utama di berbagai negara, termasuk Indonesia. Kondisi ini semakin meningkat seiring dengan tingginya angka kejadian infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen serta berkembangnya resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik (Aidi *et al.*, 2024). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen yang berperan besar dalam berbagai infeksi klinis, mulai dari infeksi kulit, keracunan makanan, hingga infeksi sistemik yang mengancam jiwa (Mancuso *et al.*, 2021).

Selain itu, varian *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) telah menunjukkan kemampuan bertahan terhadap banyak antibiotik lini pertama, sehingga mempersulit penanganan klinis (Aidi *et al.*, 2024). Laporan *Global Antibiotic Resistance Surveillance* tahun 2025 mencatat bahwa tingkat resistensi MRSA pada kasus infeksi aliran darah secara global mencapai 27,1% berdasarkan data tahun 2023.

Sementara itu, menurut laporan Perhimpunan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik Indonesia tahun 2025, prevalensi MRSA di Indonesia mencapai 37% berdasarkan data tahun 2024. Kondisi ini juga mencerminkan situasi di wilayah Bali, yang turut menghadapi peningkatan resistensi antimikroba. Hal ini menekankan urgensi pencarian alternatif antimikroba yang lebih aman, efektif, dan secara ideal bersumber dari mikroorganisme alami.

Bakteri asam laktat (BAL) telah lama dikenal sebagai kelompok bakteri yang memiliki potensi besar dalam bidang kesehatan, pangan, dan bioteknologi. Bakteri

asam laktat mampu memproduksi berbagai metabolit antimikroba, termasuk bakteriosin, asam organik, dan hidrogen peroksida (Vieco-Saiz *et al.*, 2019). Senyawa-senyawa ini berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan mekanisme yang beragam, mulai dari penurunan pH, gangguan integritas membran sel, hingga inhibisi sintesis protein pada bakteri target. Aktivitas antimikroba bakteri asam laktat bahkan telah terbukti efektif terhadap berbagai patogen, sehingga menjadikannya kandidat yang menjanjikan sebagai agen antibakteri alami atau probiotik terapeutik (Hussein *et al.*, 2025).

Salah satu sumber BAL yang berpotensi untuk dieksplorasi adalah limbah cair tempe. Tempe merupakan produk pangan fermentasi yang dalam proses pembuatannya tidak hanya melibatkan aktivitas jamur *Rhizopus* sp., tetapi juga melibatkan peran bakteri asam laktat (BAL) (Barus, Giovania & Lay, 2020). Pada proses pembuatan tempe diawali dengan tahap pencucian dan perebusan kedelai. Perebusan bertujuan untuk membersihkan kedelai dari kotoran serta menghidrasi biji kedelai sehingga teksturnya menjadi lebih lunak dan memudahkan proses pengupasan kulit ari. Pengupasan kulit ari kedelai dilakukan untuk mempermudah penetrasi miselium kapang ke dalam jaringan kedelai pada tahap fermentasi selanjutnya. Setelah pengupasan, kedelai dicuci kembali untuk menghilangkan sisa kulit ari dan senyawa yang tidak diinginkan (Santosa & Retnaningrum, 2020).

Tahap selanjutnya adalah perendaman kedelai dalam air pada suhu kamar selama kurang lebih 24 jam. Tahap perendaman ini memiliki peran penting karena memungkinkan pertumbuhan alami Bakteri Asam Laktat (BAL) yang berasal dari lingkungan dan bahan baku. Aktivitas BAL selama perendaman menyebabkan terjadinya fermentasi asam laktat yang menghasilkan asam organik, sehingga pH

lingkungan menjadi lebih asam. Kondisi asam ini sangat penting karena menciptakan lingkungan yang optimal bagi pertumbuhan kapang *Rhizopus* sp. serta menghambat pertumbuhan mikroorganisme kontaminan yang tidak diinginkan (Santosa & Retnaningrum, 2020).

Selama proses perendaman tersebut, dihasilkan limbah cair berupa air rendaman kedelai. Limbah cair ini diketahui mengandung berbagai jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) yang mampu memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat serta menghasilkan berbagai metabolit lain seperti asetat, etanol, karbon dioksida, dan senyawa antimikrobia. Keberadaan BAL pada air rendaman kedelai menunjukkan bahwa limbah cair produksi tempe memiliki potensi sebagai sumber isolat BAL yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai penelitian, termasuk pengujian aktivitas antibakteri (Santosa & Retnaningrum, 2020).

Setelah proses perendaman, kedelai kembali direbus untuk menghentikan aktivitas mikroorganisme yang tidak diinginkan dan menurunkan kadar air. Kedelai kemudian ditiriskan dan didinginkan sebelum dilakukan proses peragian. Proses peragian dilakukan dengan menambahkan ragi tempe yang mengandung spora *Rhizopus* sp., kemudian kedelai dibungkus menggunakan bahan pembungkus yang memungkinkan pertukaran udara. Fermentasi selanjutnya berlangsung selama 24–48 jam hingga terbentuk tempe dengan tekstur padat dan aroma khas yang dihasilkan dari aktivitas kapang dan mikroorganisme pendukung lainnya, termasuk BAL (Santosa & Retnaningrum, 2020).

Berdasarkan tahapan tersebut, dapat disimpulkan bahwa proses pembuatan tempe merupakan proses fermentasi kompleks yang melibatkan interaksi antara kapang *Rhizopus* sp. dan Bakteri Asam Laktat (BAL). BAL berperan penting

terutama pada tahap perendaman kedelai dalam membentuk kondisi lingkungan yang sesuai bagi fermentasi kapang, sekaligus menghasilkan limbah cair berupa air rendaman kedelai yang kaya akan BAL dan berpotensi sebagai sumber isolat bakteri dengan aktivitas biologis tertentu.

Banyak penelitian dan review telah dilakukan mengenai tempe serta keberadaan dari BAL pada tempe telah dilaporkan. Santosa dan Retnaningrum (2020) berhasil mengisolasi BAL dari limbah produksi tempe dan diperoleh empat isolat BAL. Amaliah dkk. (2018) juga berhasil mengisolasi BAL dari limbah cair rendaman kacang kedelai dan diperoleh delapan isolat, yang tujuh diantaranya teridentifikasi sebagai BAL yang diduga anggota genus *Lactobacillus*.

Upaya isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari limbah cair tempe perlu dilanjutkan dengan proses identifikasi untuk memastikan karakteristik mikroba yang diperoleh. Identifikasi dapat dilakukan melalui pendekatan fenotipik dan molekuler. Pendekatan fenotipik meliputi pengamatan morfologi koloni dan sel, uji biokimia seperti uji katalase dan uji tipe fermentasi, pewarnaan Gram, serta uji endospora yang memberikan gambaran awal mengenai kelompok bakteri yang diperoleh (Giyatno & Retnaningrum, 2020).

Selanjutnya, identifikasi molekuler dilakukan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan dua jenis primer, yaitu primer universal 16S rRNA dan primer spesifik *Lactobacillus*. Penggunaan primer 16S rRNA bertujuan untuk mendeteksi keberadaan DNA bakteri secara umum karena gen ini dimiliki oleh hampir semua bakteri. Namun, gen 16S rRNA memiliki keterbatasan dalam membedakan bakteri yang memiliki hubungan kekerabatan dekat (Kim *et al.*, 2020). Untuk mengatasi hal tersebut, digunakan primer spesifik seperti

Lactobacillus yang dapat meningkatkan ketepatan dalam mendeteksi kelompok bakteri tertentu, sehingga proses identifikasi menjadi lebih terarah dan efisien tanpa memerlukan teknik lanjutan yang lebih rumit dan mahal, seperti sekuensing (You & Kim, 2020). Pendekatan ini memungkinkan identifikasi dilakukan secara lebih selektif dibandingkan metode fenotipik saja, meskipun masih terbatas pada tingkat genus dan belum dapat menentukan spesies secara pasti.

Tahap penting berikutnya adalah mengevaluasi potensi antibakteri isolat BAL terhadap *Staphylococcus aureus*. Pengujian ini dilakukan melalui metode difusi sumuran (*agar well diffusion*) untuk mengukur zona hambat yang dihasilkan oleh senyawa antimikroba produksi BAL. Hasil penelitian dari Christensen *et al.* (2021) telah menunjukkan bahwa beberapa strain bakteri asam laktat yang diuji menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Bakteriosin dan metabolit BAL lainnya mampu menghasilkan zona hambat signifikan terhadap patogen gram positif, termasuk *Staphylococcus aureus*, sehingga memperkuat potensi BAL sebagai agen antibakteri alternatif.

Berdasarkan studi pendahuluan yang dilakukan oleh peneliti pada tiga industri tempe di wilayah Padangsambian Kaja, diketahui bahwa di wilayah tersebut terdapat aktivitas produksi tempe yang menghasilkan limbah cair secara rutin. Limbah cair yang dihasilkan belum dimanfaatkan secara optimal dan sebagian besar langsung dibuang ke lingkungan. Oleh karena itu, limbah cair tempe khususnya limbah air rendaman kedelai pada proses pembuatan tempe dari wilayah Padangsambian Kaja dipilih sebagai objek penelitian karena mudah diperoleh, tersedia secara kontinu, dan representatif untuk dikaji lebih lanjut. Limbah cair yang

dihasilkan menunjukkan karakteristik yang serupa yaitu berwarna putih kekuningan dan tampak keruh.

Dari hasil penelitian laboratorium pendahuluan yang dilakukan oleh peneliti, limbah cair tempe dikumpulkan dan diisolasi kemudian diuji melalui uji katalase dan pewarnaan Gram, diperoleh isolat yang menunjukkan karakteristik bakteri asam laktat. Kondisi ini mendorong peneliti untuk melakukan identifikasi secara molekuler menggunakan primer 16S rRNA dan primer spesifik *Lactobacillus* untuk memastikan bahwa isolat yang diperoleh termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat, khususnya genus *Lactobacillus*. Selanjutnya, isolat tersebut diuji aktivitas antibakterinya untuk mengetahui potensi dan kemampuan isolat dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam pengembangan agen antibakteri alami berbasis BAL, sekaligus mendukung inovasi pemanfaatan limbah industri pangan sebagai sumber mikroorganisme yang bernilai ekonomi dan biologis tinggi.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka permasalahan yang ingin diteliti yaitu tentang “Bagaimana hasil identifikasi molekuler dan uji aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari limbah cair tempe di Padangsambian Kaja?”

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum:

Untuk mengetahui hasil identifikasi molekuler dan uji aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari limbah cair tempe di Padang Sambian Kaja.

2. Tujuan khusus:

- a. Mengisolasi dan mengidentifikasi karakteristik awal bakteri asam laktat dari limbah cair tempe melalui uji katalase, pewarnaan Gram, uji pewarnaan endospora, dan uji tipe fermentasi.
- b. Mengidentifikasi secara molekuler isolat bakteri yang diperoleh melalui amplifikasi DNA menggunakan primer universal 16S rRNA dan primer spesifik *Lactobacillus* dengan metode PCR.
- c. Menguji aktivitas antibakteri dari setiap isolat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini bermanfaat secara teoritis dengan memberikan informasi ilmiah mengenai karakteristik bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh dari limbah cair tempe melalui uji morfologi, biokimia, dan identifikasi molekuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer 16S rRNA dan primer spesifik *Lactobacillus*. Selain itu, penelitian ini menambah data mengenai keberadaan BAL lokal yang berpotensi termasuk dalam genus *Lactobacillus* dari limbah fermentasi. Hasil penelitian ini juga memperkuat dasar teori mengenai kemampuan BAL dalam menghasilkan senyawa antibakteri alami, khususnya yang

efektif terhadap *Staphylococcus aureus*, sehingga dapat menjadi acuan untuk penelitian dan pengembangan agen antimikroba berbasis mikroorganisme.

2. Manfaat praktis

- a. Menjadi referensi dalam pemanfaatan limbah cair tempe sebagai sumber isolat BAL yang berpotensi sebagai agen antibakteri alami.
- b. Memberikan informasi dasar untuk pengembangan produk bioteknologi berbasis BAL, seperti pengawet alami, probiotik, atau agen biokontrol.
- c. Mendukung upaya pencarian alternatif antibakteri yang lebih aman dan ramah lingkungan dibandingkan bahan kimia atau antibiotik sintetis.