

## Potensi Antibakteri Fermentat Nira Siwalan oleh *Bacillus subtilis* terhadap *Staphylococcus aureus*

Fatih Abdullah<sup>1\*</sup>, Prisca Deviani Pakan<sup>2</sup>, Regina Marvina Hutasoit<sup>3</sup>, Anita Lidesna Shinta Amat<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

<sup>2</sup>Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

<sup>3,4</sup>Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

E-mail: [sanialfatih12@gmail.com](mailto:sanialfatih12@gmail.com)<sup>1\*</sup>

Article Info	Abstract
<b>Article History</b> Received: 2026-01-09 Revised: 2026-03-16 Published: 2026-03-23	<i>Fermentation of Bacillus subtilis using siwalan sap (Borassus flabellifer L.) as a carbon source was conducted to evaluate its antibacterial activity against Staphylococcus aureus. This study used a true experimental design with a post-test only control group design. The treatment groups were given siwalan sap at concentrations of 10%, 20%, and 30%, while the negative control group used sterile distilled water. Antibacterial activity was tested using the disc diffusion method, and the data were analyzed using One-Way ANOVA followed by the Dunnett T3 test. The results showed that the fermentation product produced inhibition zones with diameters ranging from 18.87 to 22.29 mm at all treatment concentrations, which were significantly different from the negative control (p = 0.000). It can be concluded that siwalan sap can be utilized as a fermentation medium for Bacillus subtilis to produce antibacterial compounds.</i>
<b>Keywords:</b> <i>Bacillus subtilis;</i> <i>Borassus flabellifer L.;</i> <i>fermentation</i>	
<b>Artikel Info</b>	<b>Abstrak</b>
<b>Sejarah Artikel</b> Diterima: 2026-01-09 Direvisi: 2026-03-16 Dipublikasi: 2026-03-23	Fermentasi <i>Bacillus subtilis</i> menggunakan nira siwalan ( <i>Borassus flabellifer L.</i> ) sebagai sumber karbon telah dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antibakterinya terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> . Penelitian ini merupakan <i>true experimental</i> dengan rancangan <i>post-test only control group design</i> . Kelompok perlakuan diberi nira siwalan pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30%, sedangkan kelompok kontrol negatif menggunakan aquadest steril. Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi cakram, dan data dianalisis menggunakan uji <i>One Way ANOVA</i> diikuti uji <i>Dunnett T3</i> . Hasil penelitian menunjukkan bahwa produk fermentasi menghasilkan zona hambat dengan diameter berkisar 18,87–22,29 mm pada seluruh konsentrasi perlakuan, yang secara signifikan berbeda dari kontrol negatif (p = 0,000). Disimpulkan bahwa nira siwalan dapat dimanfaatkan sebagai media fermentasi <i>Bacillus subtilis</i> untuk menghasilkan senyawa antibakteri.
<b>Kata kunci:</b> <i>Bacillus subtilis;</i> <i>Borassus flabellifer L.;</i> <i>fermentasi</i>	

### PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang signifikan, terutama di negara beriklim tropis seperti Indonesia, dan umumnya disebabkan oleh mikroorganisme patogen, termasuk bakteri (Tong, Davis, Eichenberger, Holland, & Fowler, 2015; WHO, 2020). Pada manusia, sebagian besar bakteri hidup sebagai flora normal di kulit, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan, serta berada dalam keseimbangan dengan sistem imun tubuh (Hall, Hallgrimsson, & Strickberger, 2008;

Belkaid & Hand, 2014). Namun, gangguan keseimbangan tersebut dapat menyebabkan flora normal berubah menjadi patogen.

Salah satu bakteri flora normal yang berpotensi patogen adalah *Staphylococcus aureus*, yang dapat menyebabkan berbagai infeksi seperti selulitis, abses, osteomielitis, pneumonia, dan infeksi luka (Radji, 2010; Lowy, 1998). Penanganan infeksi bakteri umumnya menggunakan antibiotik, tetapi penggunaan yang tidak rasional telah meningkatkan kejadian resistensi antibiotik, sehingga mendorong perlunya

pencarian sumber antibakteri alternatif yang lebih aman dan berkelanjutan (Ventola, 2016; Laxminarayan et al., 2013).

Bakteri endofit diketahui mampu menghasilkan berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri (Djamaan, Asia, & Wahyuni, 2014). Salah satu bakteri endofit yang banyak diteliti adalah *Bacillus subtilis*, bakteri Gram positif yang mampu menghasilkan senyawa antibakteri seperti basitrasin dan surfaktan melalui proses fermentasi (Brooks, Carroll, Butel, Morse, & Mietzner, 2005; Sun et al., 2019). Produksi senyawa bioaktif oleh *B. subtilis* dipengaruhi oleh kondisi fermentasi, terutama ketersediaan nutrisi, termasuk sumber karbon.

Sumber karbon yang umum digunakan dalam fermentasi bakteri berasal dari gula sederhana seperti sukrosa. Indonesia memiliki berbagai bahan alam kaya sukrosa, salah satunya adalah nira siwalan (Widinugroho & Asri, 2022), yang mengandung sukrosa sekitar 14,33% dan tersedia melimpah dengan biaya relatif rendah (Sipayung, Widarta, & Pratiwi, 2019). Karakteristik ini menjadikan nira siwalan berpotensi sebagai sumber karbon alternatif dalam proses fermentasi bakteri penghasil antibakteri.

Meskipun potensi *Bacillus subtilis* sebagai penghasil senyawa antibakteri telah banyak dilaporkan, penelitian yang secara spesifik mengevaluasi pemanfaatan nira siwalan sebagai sumber karbon fermentasi masih sangat terbatas, khususnya terkait aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus*. Sebagian besar studi sebelumnya menggunakan sumber karbon

konvensional atau media sintetik, sehingga potensi bahan alam lokal seperti nira siwalan belum tergalai secara optimal. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai sumber karbon dalam fermentasi *Bacillus subtilis* serta menilai aktivitas antibakteri produk fermentasinya terhadap *Staphylococcus aureus*, sebagai dasar pengembangan antibakteri berbasis bahan alam lokal.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian true experimental dengan rancangan post-test only control group design. Penelitian dilaksanakan di dua lokasi, yaitu Laboratorium Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana, serta Laboratorium Kimia Universitas Katolik Widya Mandira Kupang.

Populasi dalam penelitian ini adalah bakteri *Bacillus subtilis* sebagai bakteri uji fermentasi dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri uji antibakteri. Sampel penelitian berupa produk hasil fermentasi *Bacillus subtilis* menggunakan nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai sumber karbon.

Sampel dibagi menjadi empat kelompok, yaitu tiga kelompok perlakuan dengan konsentrasi nira siwalan 10%, 20%, dan 30%, serta satu kelompok kontrol negatif menggunakan aquadest steril. Setiap kelompok perlakuan dilakukan enam kali replikasi.

Instrumen yang digunakan meliputi autoklaf, inkubator, oven, timbangan analitik, laminar air flow, cawan petri,

mikropipet, dan jangka sorong untuk pengukuran diameter zona hambat. Bahan yang digunakan antara lain isolat *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*, media Nutrient Agar (NA), aquadest steril, larutan NaCl 0,9%, larutan NaOH, serta nira siwalan segar. Prosedur Intervensi sebagai berikut:

#### 1. Persiapan Nira Siwalan

Nira siwalan diperoleh dari pohon siwalan di Pantai Batunona, Kota Kupang. Nira yang diperoleh segera disaring dan dipasteurisasi untuk mencegah fermentasi alami oleh mikroorganisme kontaminan, kemudian disimpan pada suhu 4°C dan digunakan pada hari yang sama. Untuk memastikan tidak adanya pengaruh senyawa antibakteri alami, dilakukan uji fitokimia terhadap alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid.

#### 2. Proses Fermentasi

Fermentasi dilakukan menggunakan *Bacillus subtilis* dengan variasi konsentrasi nira siwalan 10%, 20%, dan 30% sebagai sumber karbon. Pemilihan variasi konsentrasi ini didasarkan pada prinsip bahwa peningkatan konsentrasi sumber karbon dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri dan produksi metabolit sekunder, termasuk senyawa antibakteri, hingga batas optimum tertentu (Aristi, 2018; Brooks et al., 2005).

Konsentrasi 10% dipilih sebagai konsentrasi minimum efektif, sedangkan konsentrasi 20% dan 30% digunakan untuk mengevaluasi respons peningkatan aktivitas antibakteri seiring peningkatan ketersediaan karbon, sebagaimana dilaporkan pada penelitian fermentasi

*Bacillus subtilis* dengan sumber karbon alami lainnya.

Fermentasi dilakukan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam dengan kecepatan rotasi 0 rpm. Meskipun *Bacillus subtilis* merupakan bakteri aerob, kondisi tanpa agitasi masih dilaporkan mampu menghasilkan senyawa antibakteri seperti surfaktin (Sun et al. 2019), sehingga kecepatan 0 rpm digunakan sebagai variabel kontrol.

#### 3. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer). Metode ini dipilih karena bersifat sederhana, reproducible, dan umum digunakan untuk skrining awal aktivitas antibakteri dari senyawa hasil fermentasi (Balouiri, Sadiki, & Ibensouda, 2016) Selain itu, metode difusi cakram memungkinkan pengukuran kuantitatif daya hambat melalui diameter zona hambat, sehingga memudahkan perbandingan antar konsentrasi perlakuan.

Suspensi *Staphylococcus aureus* disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland menggunakan larutan NaCl 0,9%, kemudian diinokulasikan secara merata pada media NA. Cakram steril diteteskan 10 µL produk fermentasi dan diletakkan pada permukaan media, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan milimeter (mm).

Data hasil pengukuran diameter zona hambat dianalisis secara statistik menggunakan uji One Way ANOVA untuk mengetahui perbedaan rerata antar kelompok perlakuan. Apabila data tidak

homogen, analisis dilanjutkan dengan uji post hoc Dunnett T3. Nilai  $p < 0,05$  dianggap menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Fitokimia

**Tabel 1.** Hasil uji fitokimia

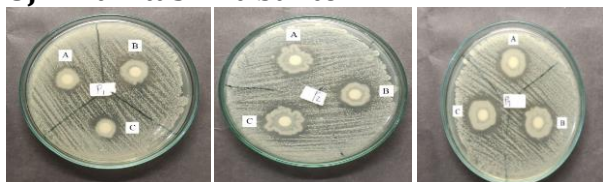
Senyawa yang diuji	Hasil Uji
Alkaloid	Negatif
Flavonoid	Negatif
Saponin	Negatif
Terpenoid	Negatif

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.) tidak mengandung senyawa antibakteri alami, sehingga aktivitas antibakteri yang diamati pada penelitian ini dapat dikaitkan secara langsung dengan senyawa bioaktif hasil fermentasi *Bacillus subtilis*, bukan berasal dari bahan media fermentasi.

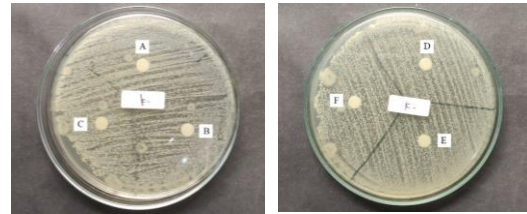
### Uji Konfirmasi Bakteri

Hasil uji konfirmasi bakteri menggunakan pewarnaan gram menunjukkan warna ungu dengan bentuk koloni bulat bergerombol untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan warna ungu dengan bentuk batang/basil/rod untuk bakteri *Bacillus subtilis* sesuai karakteristik bakteri gram positif.

### Uji Aktivitas Antibakteri



**Gambar 1.** (P1) Konsentrasi 10%; (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3; (P2) Konsentrasi 10%; (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3; (P3) Konsentrasi 10%; (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3



**Gambar 2.** Kontrol negatif (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3; (D) Replikasi 4; (E) Replikasi 5; (F) Replikasi 6

**Tabel 2.** Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat fermentasi bakteri *Bacillus subtilis* Menggunakan Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dan uji antibakterinya

Konsentrasi Nira Siwalan	Diameter Zona Hambat (mm)						Rata-Rata
	1	2	3	4	5	6	
30%	23,03	23,5	20,4	21,27	21,9	23,63	22,288
20%	20,41	22,77	21,05	22,2	21,25	22,45	21,689
10%	20,41	18,87	22,08	19,37	16,03	16,46	18,872
Kontrol Negatif (-)	0	0	0	0	0	0	0

**Tabel 3.** Hasil uji one way anova rerata diameter zona hambat fermentasi bakteri *Bacillus subtilis* menggunakan nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

	Nilai p	Keterangan
Diameter Zona Hambat	0,000	Signifikan

Keterangan:  $p > 0.05$ : Tidak Signifikan,  $p < 0.05$ : Signifikan

**Tabel 4.** Hasil analisis post hoc menggunakan uji dunnet T3 diameter zona hambat fermentasi bakteri *Bacillus subtilis* menggunakan nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.)

Kelompok Uji 1	Kelompok Uji 2			K (-)
	30%	20%	10%	
30%		0,281667	0,281833	2,169000*
20%	0,2817		0,000167	1,887333*
10%	0,2818	0,000167		1,887167*
K(-)	2,169000*	1,887333*	1,887167*	

Keterangan: \* Terdapat perbedaan yang signifikan

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa produk fermentasi *Bacillus subtilis* menggunakan nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.) mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, yang ditandai dengan terbentuknya

zona hambat di sekitar cakram uji pada seluruh kelompok perlakuan, sedangkan kelompok kontrol negatif tidak menunjukkan zona hambat. Hasil analisis statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan, yang mengindikasikan bahwa variasi konsentrasi sumber karbon berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

### **Hubungan Konsentrasi Sumber Karbon dan Zona Hambat**

Peningkatan konsentrasi nira siwalan sebagai sumber karbon menunjukkan kecenderungan peningkatan aktivitas antibakteri yang ditandai oleh bertambahnya luas zona hambat ditunjukkan pada tabel 2, hal ini mencerminkan bahwa ketersediaan sumber karbon yang lebih tinggi mampu mendukung pertumbuhan *Bacillus subtilis* secara lebih optimal, sehingga meningkatkan produksi metabolit sekunder yang bersifat antibakteri.

Sumber karbon merupakan komponen esensial dalam fermentasi karena berperan sebagai penyedia energi dan prekursor biosintesis senyawa bioaktif. Dengan demikian, semakin besar ketersediaan karbon hingga batas tertentu, semakin besar pula potensi bakteri dalam menghasilkan senyawa antibakteri.

### **Peran Sukrosa dan pH dalam Proses Fermentasi**

Efektivitas nira siwalan sebagai sumber karbon dalam fermentasi *Bacillus subtilis* tidak terlepas dari kandungan sukrosa yang tinggi. Sukrosa berfungsi sebagai sumber energi utama yang mendukung pertumbuhan sel bakteri serta

sintesis metabolit sekunder selama fermentasi.

Selain ketersediaan sukrosa, kondisi pH media juga memegang peranan penting dalam menentukan keberhasilan fermentasi. *Bacillus subtilis* diketahui memiliki aktivitas metabolik optimal pada pH netral, sehingga penyesuaian pH nira siwalan dilakukan untuk menciptakan lingkungan fermentasi yang mendukung produksi senyawa antibakteri secara maksimal.

Kombinasi antara kandungan sukrosa yang memadai dan pH yang sesuai memungkinkan proses fermentasi berlangsung secara efektif dan menghasilkan aktivitas antibakteri yang terukur.

### **Perbandingan dengan Penelitian Terdahulu**

Temuan dalam penelitian ini sejalan dengan berbagai penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi sumber karbon pada fermentasi *Bacillus subtilis* berkorelasi dengan peningkatan aktivitas antibakteri. Penelitian yang menggunakan sumber karbon alami seperti air tebu, molase, dan produk nira lainnya menunjukkan pola serupa, di mana ketersediaan gula sederhana mendukung produksi metabolit antibakteri. Kesamaan hasil ini menguatkan bahwa nira siwalan memiliki potensi yang setara dengan sumber karbon alami lain yang telah lebih dahulu digunakan, sekaligus menegaskan peluang pemanfaatannya sebagai bahan lokal yang ekonomis dan mudah diperoleh.

Secara keseluruhan, hasil uji aktivitas antibakteri ini menunjukkan bahwa nira

siwalan (*Borassus flabellifer* L.) mampu berfungsi sebagai sumber karbon yang efektif dalam fermentasi *Bacillus subtilis*, sehingga menghasilkan senyawa bioaktif yang berperan dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Kondisi fermentasi yang digunakan belum dioptimalkan secara spesifik untuk memaksimalkan produksi metabolit antibakteri oleh *Bacillus subtilis*, sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan kemungkinan belum mencerminkan potensi maksimum isolat yang digunakan.

Selain itu, penelitian ini tidak menggunakan kontrol positif berupa antibiotik standar, sehingga efektivitas relatif produk fermentasi terhadap agen antibakteri konvensional belum dapat dibandingkan secara langsung. Oleh karena itu, penelitian lanjutan dengan optimasi kondisi fermentasi serta penggunaan kontrol positif sangat diperlukan untuk memperoleh gambaran aktivitas antibakteri yang lebih komprehensif.

## KESIMPULAN

Bakteri *Bacillus subtilis* dapat berfermentasi di dalam media dengan sumber karbon nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dibuktikan dengan adanya zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri sampel dengan konsentrasi nira siwalan 30%, 20%, dan 10%.

## DAFTAR PUSTAKA

Aristi, N. (2018). *Penentuan Kondisi Optimum Proses Fermentasi Bakteri*

*Endofit Bacillus subtilis* UAAC 21622 Menggunakan Air Tebu, Ampas Tebu dan Molase sebagai Sumber Karbon dan Uji Aktivitas Antibakterinya. Universitas Andalas.

- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.1.005>
- Belkaid, Y., & Hand, T. W. (2014). Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*, 157(1), 121–141. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2005). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology* (24th ed.). McGraw-Hill.
- Djamaan, A., Asia, A., & Wahyuni, R. (2014). Isolasi mikroba endofit dari kulit batang, daun, dan kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.), perngkulturan serta uji aktivitas antimikrobanya. *Jurnal Farmasi Higea*, 6(1), 90–97. <https://doi.org/10.52689/higea.v6i1.101>
- Hall, B. K., Hallgrimsson, B., & Strickberger, M. W. (2008). *Strickberger's evolution : the integration of genes, organisms and populations*. Sudbury: Mass : Jones and Bartlett.
- Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., et al. (2013). Antibiotic resistance—the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(12), 1057–1098. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70318-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70318-9)
- Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *New England Journal of Medicine*, 339(8), 520–532. <https://doi.org/10.1056/NEJM199808203390806>

- Radji, M. (2010). *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sipayung, S. M., Widarta, I. W. R., & Pratiwi, I. D. P. K. (2019). Pengaruh lama fermentasi oleh *Bacillus subtilis* terhadap karakteristik sere kedelai. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(3), 226–233. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i03.p01>
- Sun, D., Liao, J., Sun, L., Wang, Y., Liu, Y., Deng, Q., ... Gooneratne, R. (2019). Effect of media and fermentation conditions on surfactin and iturin homologues produced by *Bacillus natto* NT-6: LC–MS analysis. *AMB Express*, 9(1), 120. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0845-y>
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management*. 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
- Ventola, C. L. (2016). The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 40(4), 277–283.
- Widinugroho, D. A., & Asri, M. T. (2022). Pengaruh Fermentasi Nira Siwalan (*Borassus flabellifer*) terhadap Coliform dan *Escherichia coli* pada Selada (*Lactuca sativa*) Effect of Fermentation of Siwalan Sap (*Borassus flabellifer*) on Coliform and *Escherichia coli* in Lettuce (*Lactuca sativa*). *LenteraBio*, 11(1), 174–182.
- World Health Organization. (2020). *Antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>