

## **BAB VI**

### **PEMBAHASAN**

#### **6.1 Pengaruh Variasi Lama Fermentasi Air Nabeez Kurma Ajwa terhadap Jumlah Total Koloni BAL yang Berpotensi sebagai Probiotik**

Berdasarkan hasil penelitian, variasi lama fermentasi menunjukkan pengaruh yang bermakna terhadap jumlah total koloni BAL yang terbentuk. Hasil analisis menggunakan uji ANOVA menunjukkan nilai signifikansi  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), yang menandakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan jumlah total BAL antar variasi lama fermentasi. Fermentasi selama 8 jam menghasilkan jumlah BAL tertinggi dengan rataan  $71,50 \pm 6,50 \times 10^8$  CFU/mL, diikuti oleh fermentasi 10 jam sebesar  $49,00 \pm 2,00 \times 10^8$  CFU/mL, sedangkan fermentasi 12 jam menunjukkan jumlah BAL terendah, yaitu  $15,55 \pm 3,80 \times 10^8$  CFU/mL. Pola ini menunjukkan bahwa peningkatan lama fermentasi tidak selalu berbanding lurus dengan peningkatan jumlah BAL.

Jumlah total BAL digunakan sebagai salah satu parameter untuk menilai keberhasilan proses fermentasi serta kemampuan substrat dalam mendukung pertumbuhan bakteri yang berpotensi sebagai probiotik. Peningkatan jumlah BAL pada fermentasi 8 jam mencerminkan bahwa isolat berada pada fase eksponensial, di mana nutrien karbohidrat sederhana masih tersedia dan aktivitas metabolisme berlangsung optimal. Memasuki fermentasi 10 jam, penurunan jumlah koloni menunjukkan transisi menuju fase stasioner yang dipengaruhi oleh akumulasi asam organik serta penurunan ketersediaan substrat. Kondisi ini semakin nyata pada fermentasi 12 jam, di mana lingkungan yang semakin asam dan miskin nutrien

mendorong sel memasuki fase kematian sehingga viabilitas menurun. Penurunan ini menunjukkan adanya perubahan kondisi lingkungan fermentasi akibat aktivitas metabolismik bakteri. Seiring dengan berlangsungnya fermentasi, BAL menghasilkan asam organik yang menyebabkan penurunan pH lingkungan, sehingga kondisi tersebut mulai membatasi pertumbuhan bakteri. Hal ini tercermin dari hasil uji lanjut Tukey HSD yang menunjukkan perbedaan bermakna antara fermentasi 8 jam dan 10 jam ( $p = 0,002$ ). Fermentasi selama 12 jam menunjukkan jumlah BAL paling rendah di antara seluruh kelompok perlakuan. Hasil uji Tukey HSD menunjukkan bahwa jumlah BAL pada fermentasi 12 jam berbeda bermakna dibandingkan fermentasi 8 jam dan 10 jam ( $p = 0,000$ ). Kondisi ini menandakan bahwa lingkungan fermentasi pada waktu tersebut semakin tidak mendukung pertumbuhan bakteri. Akumulasi hasil metabolisme berupa asam organik serta berkurangnya ketersediaan nutrien diduga menyebabkan penurunan kemampuan BAL untuk bertahan hidup dan membentuk koloni. Lingkungan yang semakin asam juga berpotensi mengganggu aktivitas fisiologis sel bakteri sehingga jumlah BAL yang hidup menjadi lebih sedikit.<sup>37 38 39</sup>

Berdasarkan uraian tersebut, dapat disimpulkan bahwa variasi lama fermentasi berperan penting dalam menentukan jumlah total BAL pada air nabeez kurma Ajwa. Lama fermentasi 8 jam merupakan waktu yang paling efektif dalam penelitian ini untuk menghasilkan jumlah BAL tertinggi. Namun demikian, jumlah BAL yang tinggi belum sepenuhnya mencerminkan kualitas probiotik yang baik, sehingga diperlukan pembahasan lebih lanjut mengenai karakteristik BAL yang dihasilkan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Afifah dan Putri (2022) yang menyatakan bahwa lama perendaman dan fermentasi air nabeez kurma berpengaruh terhadap perubahan lingkungan fermentasi. Perubahan tersebut terutama kadar gula dan keasaman, yang selanjutnya memengaruhi aktivitas mikroorganisme. Waktu fermentasi yang lebih singkat cenderung menghasilkan kondisi yang lebih mendukung bagi pertumbuhan mikroba dibandingkan fermentasi yang terlalu lama.<sup>5</sup> Temuan ini juga didukung oleh penelitian Primurdia dan Kusnadi (2021) yang menyatakan bahwa sari kurma dapat berperan sebagai substrat yang baik bagi pertumbuhan bakteri pada tahap awal fermentasi. Kandungan karbohidrat sederhana yang mudah dimetabolisme mendukung hal ini. Namun, seiring dengan berjalannya waktu fermentasi, akumulasi hasil metabolisme dan berkurangnya ketersediaan nutrien dapat menyebabkan penurunan jumlah bakteri yang hidup.<sup>40</sup> Selain itu, Rahmiati dan Mumpuni (2017) melaporkan bahwa BAL memiliki toleransi tertentu terhadap perubahan pH lingkungan. Namun, kondisi yang terlalu asam dapat menghambat pertumbuhan dan menurunkan viabilitas sel.<sup>2</sup>

## **6.2 Identifikasi makroskopis isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik pada air Nabeez kurma Ajwa.**

Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian ini, koloni bakteri yang tumbuh menunjukkan karakteristik khas BAL. Koloni umumnya berbentuk bulat, berwarna putih hingga krem, dengan tepi koloni rata, permukaan halus, serta elevasi cembung. Karakteristik morfologi tersebut mengindikasikan pertumbuhan bakteri yang relatif homogen, stabil, dan sehat pada kondisi media serta inkubasi yang optimal. Namun demikian, karakteristik morfologi koloni saja belum cukup untuk

menentukan spesies bakteri secara pasti, sehingga diperlukan konfirmasi lebih lanjut melalui metode identifikasi molekuler, seperti analisis gen 16S rRNA.

Keseragaman morfologi koloni yang diamati menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh didominasi oleh kelompok BAL dengan karakteristik serupa. Hal ini mengindikasikan bahwa proses fermentasi air nabeez kurma Ajwa berhasil mendukung pertumbuhan BAL secara selektif. Kandungan nutrisi dalam kurma Ajwa, terutama gula sederhana seperti glukosa dan fruktosa, berperan penting dalam menyediakan substrat optimal untuk metabolisme dan pertumbuhan BAL.<sup>41</sup>

Penggunaan media selektif MRS agar dan kondisi inkubasi anaerob berperan besar dalam menekan pertumbuhan mikroorganisme non-BAL atau kontaminan lain. Akibatnya, koloni yang terbentuk memiliki karakteristik yang relatif seragam tanpa adanya variasi morfologi yang signifikan. Ukuran koloni yang kecil hingga sedang juga merupakan ciri umum BAL yang berpotensi sebagai probiotik pada media pertumbuhan standar.

Meskipun karakteristik makroskopis ini sesuai dengan ciri umum BAL probiotik (koloni putih/krem, bulat, permukaan halus, elevasi menonjol), identifikasi makroskopis saja belum cukup spesifik untuk menentukan genus atau spesies bakteri secara pasti. Oleh karena itu, diperlukan pengujian lanjutan berupa pewarnaan Gram (harus Gram positif, kokus atau basil berantai), uji katalase (negatif), oksidase (negatif), serta kemampuan produksi asam laktat untuk konfirmasi identitas BAL.

Hasil identifikasi makroskopis pada penelitian ini sejalan dengan berbagai penelitian terdahulu tentang karakteristik koloni BAL pada produk fermentasi

berbasis bahan nabati. Xu dkk. (2018) melaporkan bahwa BAL yang diisolasi dari fermentasi buah dan sayuran membentuk koloni berwarna putih hingga krem, berbentuk bulat dengan tepi rata dan permukaan halus pada media MRS agar. Karakteristik serupa tersebut menunjukkan kemampuan adaptasi BAL terhadap substrat kaya karbohidrat sederhana yang ditemukan dalam buah-buahan. Penelitian oleh Marco dkk. (2017) juga menemukan bahwa BAL dari fermentasi tradisional (yogurt, kimchi, sauerkraut) menunjukkan morfologi koloni yang seragam pada media selektif, dengan ciri bulat, putih-krem, dan elevasi cembung. Keseragaman morfologi ini mencerminkan stabilitas populasi bakteri dan minimnya kontaminasi mikroorganisme lain selama proses fermentasi. Albuquerque dkk. (2017) menegaskan bahwa identifikasi makroskopis merupakan tahap screening awal yang krusial dalam seleksi kandidat bakteri probiotik dari by-products buah tropis. Koloni dengan ciri bulat, berwarna krem, dan elevasi cembung sering diamati sebelum dilanjutkan ke uji *in vitro* seperti toleransi terhadap pH rendah, garam, dan empedu. Kesesuaian karakteristik koloni BAL pada air nabeez kurma Ajwa dengan deskripsi dalam literatur tersebut memperkuat dugaan bahwa isolat yang diperoleh memiliki potensi sebagai bakteri probiotik, sehingga layak untuk analisis karakterisasi lebih lanjut pada subbab berikutnya. Dengan demikian, hasil identifikasi makroskopis ini menjadi dasar yang kuat untuk melanjutkan karakterisasi BAL dari air nabeez kurma Ajwa, sekaligus menunjukkan keberhasilan proses fermentasi dalam menghasilkan populasi BAL yang homogen dan berpotensi probiotik.<sup>42 43 44</sup>

### **6.3 Uji pewarnaan Gram Isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik pada air Nabeez kurma Ajwa.**

Berdasarkan hasil uji pewarnaan Gram pada penelitian ini, seluruh isolat BAL yang diamati, yaitu AN8, AN10, dan AN12 pada seluruh ulangan, menunjukkan reaksi Gram positif. Hal ini ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri setelah proses pewarnaan Gram. Secara mikroskopis, sel bakteri tampak berbentuk batang (basil) dengan susunan sel tunggal maupun berantai pendek. Konsistensi hasil pewarnaan Gram dan bentuk sel pada seluruh isolat menunjukkan bahwa populasi bakteri yang tumbuh memiliki karakter morfologi yang seragam dan stabil.

Keseragaman morfologi sel yang diamati mengindikasikan bahwa proses fermentasi air nabeez kurma Ajwa mampu mendukung pertumbuhan BAL secara selektif. Kondisi fermentasi yang relatif stabil memungkinkan BAL tumbuh dan beradaptasi dengan baik, sehingga tidak ditemukan variasi bentuk sel maupun perubahan reaksi Gram antar isolat maupun antar ulangan.<sup>45</sup>

Sifat Gram positif pada isolat BAL berkaitan erat dengan struktur dinding sel bakteri yang tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tebal. Struktur ini berperan penting dalam menjaga integritas dan kestabilan sel, terutama ketika bakteri menghadapi kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Dalam proses fermentasi air nabeez, perubahan pH dan akumulasi metabolit selama fermentasi dapat menimbulkan tekanan lingkungan, sehingga bakteri dengan dinding sel Gram positif memiliki kemampuan adaptasi dan ketahanan yang lebih baik.<sup>45</sup>

Selain itu, bentuk sel basil yang dominan pada seluruh isolat BAL memiliki implikasi terhadap aktivitas metabolismik bakteri. BAL berbentuk batang umumnya memiliki luas permukaan sel yang lebih besar, sehingga mendukung proses pertukaran zat dan aktivitas metabolisme yang lebih efisien. Kondisi ini memungkinkan bakteri memanfaatkan substrat karbohidrat sederhana yang terdapat dalam air nabeez kurma Ajwa secara optimal selama proses fermentasi.<sup>45</sup>

Karakteristik dinding sel Gram positif juga berkontribusi terhadap kemampuan BAL dalam menghadapi kondisi asam. Lapisan peptidoglikan yang tebal membantu menjaga kestabilan pH intraseluler serta melindungi struktur sel dari kerusakan akibat lingkungan asam. Sifat ini menjadi salah satu dasar penting dalam seleksi awal bakteri probiotik, karena berkaitan dengan kemampuan bertahan hidup di saluran pencernaan.<sup>46</sup>

Hasil penelitian ini sejalan dengan artikel yang ditulis oleh Bintsis. (2018) yang menyatakan bahwa BAL merupakan kelompok bakteri Gram positif dengan bentuk sel basil atau kokus yang umum ditemukan pada berbagai produk fermentasi pangan. Selain itu, hasil penelitian ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Mulaw dkk. (2019), yang menegaskan bahwa pewarnaan Gram merupakan tahap skrining awal yang penting dalam identifikasi BAL yang berpotensi sebagai probiotik sebelum dilakukan uji lanjutan. Studi lain yang dilaporkan oleh Tanaka dkk. (2023) juga menyatakan bahwa BAL yang berpotensi sebagai probiotik umumnya bersifat Gram positif dan tidak membentuk spora, sehingga karakteristik tersebut digunakan sebagai salah satu kriteria awal dalam seleksi isolat probiotik.<sup>46</sup>

Dengan demikian, hasil uji pewarnaan Gram pada penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh isolat BAL dari air nabeez kurma Ajwa memiliki karakteristik mikroskopis yang sesuai dengan ciri umum BAL, yaitu berbentuk basil dan bersifat Gram positif. Keseragaman morfologi dan stabilitas struktur sel yang diamati menjadi dasar yang kuat untuk melanjutkan karakterisasi isolat pada uji biokimia serta pengujian potensi probiotik pada subbab berikutnya.

#### **6.4 Uji katalase Isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik pada air Nabeez kurma Ajwa..**

Berdasarkan hasil penelitian uji katalase yang telah dilakukan terhadap isolat BAL dari air nabeez kurma Ajwa, diketahui bahwa seluruh isolat yang diuji, yaitu AN8, AN10, dan AN12, menunjukkan hasil katalase negatif pada seluruh ulangan. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas setelah penambahan larutan  $H_2O_2$  pada suspensi bakteri, yang menunjukkan tidak adanya aktivitas enzim katalase.

Hasil uji katalase negatif pada seluruh isolat BAL menunjukkan keseragaman karakteristik biokimia antar isolat. Karakteristik ini merupakan salah satu ciri khas BAL, yang secara umum tidak menghasilkan enzim katalase. Ketidakmampuan BAL dalam memproduksi enzim katalase berkaitan dengan sistem metabolisme bakteri yang bersifat fermentatif dan tidak bergantung pada respirasi aerob. Selain itu, sifat katalase negatif pada BAL juga mencerminkan adaptasi bakteri terhadap kondisi lingkungan fermentasi yang relatif anaerob atau mikroaerofilik. Kondisi fermentasi air nabeez kurma Ajwa mendukung pertumbuhan BAL secara optimal tanpa memerlukan mekanisme pertahanan terhadap stres oksidatif yang bergantung

pada enzim katalase. Sifat katalase negatif memiliki relevansi penting dalam seleksi awal isolat bakteri yang berpotensi sebagai probiotik. BAL yang bersifat katalase negatif umumnya dianggap lebih aman sebagai kandidat probiotik karena tidak menghasilkan produk reaktif berbasis oksigen yang berpotensi merusak sel inang. Oleh karena itu, uji katalase sering digunakan sebagai salah satu parameter awal dalam skrining BAL sebelum dilakukan pengujian lanjutan.<sup>49</sup>

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa BAL umumnya bersifat katalase negatif. Penelitian oleh Mulaw dkk. (2019) menunjukkan bahwa isolat BAL yang dikarakterisasi memberikan hasil uji katalase negatif sebagai salah satu ciri utama BAL. Selain itu, Suryani dkk. (2025) menyatakan bahwa BAL sebagian besar tidak memproduksi enzim katalase sehingga menunjukkan sifat katalase negatif, meskipun pada beberapa spesies dapat terjadi reaksi lemah akibat aktivitas enzim peroksidase.<sup>47 50</sup>

Dengan demikian, berdasarkan hasil uji katalase yang diperoleh, seluruh isolat BAL dari air nabeez kurma Ajwa memiliki karakteristik biokimia yang sesuai dengan ciri umum BAL, yaitu bersifat katalase negatif. Keseragaman hasil ini mendukung potensi isolat AN8, AN10, dan AN12 untuk dilanjutkan pada tahap pengujian berikutnya sebagai kandidat bakteri probiotik.

## **6.5 Uji tipe fermentasi Isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik pada air Nabeez kurma Ajwa.**

Berdasarkan hasil uji tipe fermentasi yang telah dilakukan terhadap isolat BAL dari air nabeez kurma Ajwa, diketahui bahwa seluruh isolat yang diuji, yaitu AN8, AN10, dan AN12, menunjukkan tipe fermentasi homofermentatif pada seluruh

ulangan. Hasil yang konsisten ini diperoleh pada ulangan pertama, kedua, dan ketiga untuk masing-masing isolat, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel Bab 5.3. Keseragaman hasil tersebut menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki pola metabolisme fermentasi yang serupa.

Tipe fermentasi homofermentatif merupakan karakteristik BAL yang memfermentasi karbohidrat, terutama glukosa, menjadi asam laktat sebagai produk utama tanpa menghasilkan gas atau produk samping lainnya dalam jumlah signifikan. Proses fermentasi ini berlangsung melalui jalur *Embden–Meyerhof–Parnas* (EMP), yang efisien dalam menghasilkan energi serta asam laktat sebagai metabolit utama. Sifat ini umum dijumpai pada BAL yang banyak digunakan dalam fermentasi pangan dan pengembangan produk probiotik.<sup>51</sup>

Hasil uji tipe fermentasi pada penelitian ini berkaitan dengan kondisi substrat dan lingkungan fermentasi air nabeez kurma Ajwa. Kandungan gula sederhana seperti glukosa dan fruktosa pada kurma Ajwa mendukung pertumbuhan BAL homofermentatif yang mampu memanfaatkan substrat tersebut secara optimal. Produksi asam laktat yang dihasilkan berperan dalam menurunkan pH lingkungan fermentasi, sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen dan meningkatkan stabilitas mikrobiologis produk. Kondisi ini menunjukkan bahwa air nabeez kurma Ajwa merupakan media yang mendukung pertumbuhan BAL dengan karakteristik fermentatif yang menguntungkan.<sup>19</sup>

Sifat homofermentatif memiliki relevansi penting dalam seleksi isolat BAL sebagai kandidat probiotik. BAL dengan tipe fermentasi homofermentatif umumnya lebih diinginkan dalam aplikasi pangan fungsional karena menghasilkan

produk fermentasi yang stabil, tidak menyebabkan pembentukan gas berlebih, serta memberikan cita rasa asam yang konsisten. Selain itu, produksi asam laktat yang dominan berkontribusi terhadap efek antagonistik terhadap mikroorganisme patogen, yang merupakan salah satu mekanisme utama aktivitas probiotik.<sup>51</sup>

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Mulaw dkk. (2019) yang melaporkan bahwa sebagian besar BAL yang diisolasi dari bahan pangan fermentasi menunjukkan tipe fermentasi homofermentatif dengan asam laktat sebagai produk utama metabolisme. Selain itu, Zapašnik dkk. (2022) menyatakan bahwa BAL homofermentatif berperan penting dalam menjaga stabilitas proses fermentasi dan keamanan pangan melalui produksi asam laktat yang menyebabkan penurunan pH serta penghambatan pertumbuhan mikroorganisme patogen.<sup>19 47</sup>

Dengan demikian, berdasarkan hasil uji tipe fermentasi yang diperoleh, seluruh isolat BAL dari air nabeez kurma Ajwa, yaitu AN8, AN10, dan AN12, memiliki sifat homofermentatif yang konsisten pada seluruh ulangan. Karakteristik ini sesuai dengan ciri umum BAL dan mendukung potensi isolat tersebut untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat probiotik berbasis fermentasi air nabeez kurma Ajwa.

## **6.6 Uji ketahanan terhadap asam lambung isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik pada air Nabeez kurma Ajwa.**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, seluruh isolat BAL yang diuji, yaitu AN8, AN10, dan AN12, menunjukkan kemampuan bertahan hidup pada kondisi asam lambung simulatif pH 2 dan pH 4, meskipun dengan tingkat viabilitas yang bervariasi. Pada perlakuan pH 2, nilai viabilitas BAL berkisar antara 52,04%

hingga 77,78%, sedangkan pada pH 4 viabilitas berada pada rentang 57,14% hingga 71,19%. Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga isolat memiliki toleransi yang cukup baik terhadap lingkungan asam, yang merupakan salah satu kriteria penting bagi bakteri untuk dapat dikategorikan sebagai kandidat probiotik.

Pada kondisi pH 2, isolat AN8 menunjukkan nilai viabilitas rata-rata sebesar  $61,04 \pm 8,13\%$ , AN10 sebesar  $68,45 \pm 6,71\%$ , dan AN12 sebesar  $67,69 \pm 10,37\%$ . Sementara itu, pada perlakuan pH 4, isolat AN8 memiliki viabilitas rata-rata  $64,31 \pm 6,52\%$ , AN10 sebesar  $65,75 \pm 7,30\%$ , dan AN12 sebesar  $68,40 \pm 1,35\%$ . Secara umum, viabilitas BAL cenderung lebih tinggi pada pH 4 dibandingkan pH 2, yang menunjukkan bahwa kondisi asam yang kurang ekstrem lebih mendukung kelangsungan hidup bakteri. Namun demikian, kemampuan BAL untuk tetap bertahan pada pH 2 menunjukkan potensi probiotik yang baik karena kondisi tersebut menyerupai pH lambung manusia.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah BAL sebelum dan sesudah perlakuan asam, baik pada pH 2 maupun pH 4, yang ditunjukkan oleh nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ). Pada pH 2, isolat AN8 memiliki nilai  $p = 0,540$ , sedangkan pada pH 4 nilai  $p = 0,689$ . Hal ini mengindikasikan bahwa paparan kondisi asam tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap viabilitas BAL, sehingga ketiga isolat relatif stabil terhadap stres asam. Stabilitas ini merupakan karakteristik penting agar BAL dapat melewati lambung dan mencapai usus dalam jumlah yang masih mencukupi untuk memberikan efek probiotik.

Ketahanan BAL terhadap kondisi asam lambung berkaitan dengan mekanisme adaptasi sel bakteri terhadap stres asam, khususnya melalui kemampuan mempertahankan pH intrasel dengan mengaktifkan proton pump  $F_0F_1$ -ATPase yang berfungsi mengeluarkan ion hidrogen ( $H^+$ ) dari sitoplasma. Mekanisme ini membantu menjaga homeostasis pH internal sel meskipun bakteri berada pada lingkungan dengan pH sangat rendah. Selain itu, BAL juga mampu melakukan perubahan komposisi membran sel, seperti peningkatan fluiditas membran, sehingga meningkatkan ketahanan terhadap kerusakan akibat kondisi asam. BAL juga dapat meningkatkan ekspresi protein stres yang berperan dalam perlindungan struktur sel dan mempertahankan fungsi metabolismik selama paparan tekanan asam. Mekanisme-mekanisme tersebut merupakan respons adaptif fisiologis yang umum dimiliki oleh BAL ketika terpapar kondisi pH rendah seperti yang terjadi pada lambung manusia.<sup>52</sup>

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Zommiti dkk. (2018) yang melaporkan bahwa BAL dengan potensi probiotik umumnya mampu mempertahankan viabilitas lebih dari 50% setelah dipaparkan pada kondisi pH rendah, khususnya pH 2–3. Selain itu, Marco dkk. (2017) menyatakan bahwa ketahanan terhadap asam lambung merupakan karakteristik fungsional utama probiotik, karena mikroorganisme harus mampu bertahan pada lingkungan lambung yang sangat asam sebelum mencapai usus. Temuan ini juga didukung oleh pedoman (FAO/WHO 2002) yang menegaskan bahwa mikroorganisme probiotik harus mampu bertahan hidup pada kondisi asam lambung sebagai bagian dari kriteria seleksi probiotik.<sup>43,53</sup>

Dengan demikian, kemampuan isolat AN8, AN10, dan AN12 yang berasal dari air Nabeez kurma Ajwa dalam mempertahankan viabilitas pada pH 2 dan pH 4 menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut memenuhi salah satu persyaratan penting sebagai kandidat probiotik, yaitu ketahanan terhadap kondisi asam lambung, sehingga berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai probiotik.

#### **6.7 Uji ketahanan terhadap garam empedu isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik pada air Nabeez kurma Ajwa.**

Berdasarkan hasil penelitian, uji ketahanan terhadap garam empedu menunjukkan bahwa seluruh isolat BAL hasil fermentasi air nabeez kurma Ajwa masih mampu bertahan hidup pada paparan oxgall konsentrasi 0,3% dan 0,5%, meskipun terjadi penurunan jumlah koloni dibandingkan dengan kondisi kontrol. Ketahanan terhadap garam empedu merupakan salah satu kriteria penting bakteri probiotik, karena bakteri harus mampu bertahan setelah melewati lambung dan beradaptasi dengan lingkungan usus halus yang mengandung garam empedu.

Pada paparan oxgall 0,3%, seluruh isolat BAL menunjukkan viabilitas yang relatif tinggi. Isolat AN10 memiliki viabilitas tertinggi dengan rataan  $76,20 \pm 4,11\%$ , diikuti oleh AN8 sebesar  $72,84 \pm 3,45\%$ , dan AN12 sebesar  $67,13 \pm 0,65\%$ . Hasil analisis statistik menunjukkan nilai signifikansi  $p = 0,007$  ( $p < 0,05$ ), yang menandakan adanya perbedaan viabilitas BAL yang bermakna antar isolat pada konsentrasi oxgall 0,3%. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan adaptasi fisiologis terhadap paparan garam empedu pada konsentrasi oxgall 0,3% berbeda antara isolat AN10 dan AN12, sedangkan isolat AN8 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan kedua isolat tersebut.

Pada konsentrasi oxgall 0,5%, viabilitas BAL cenderung menurun dibandingkan konsentrasi 0,3%, meskipun seluruh isolat masih menunjukkan kemampuan bertahan hidup. Isolat AN10 tetap menunjukkan viabilitas tertinggi dengan rataan  $73,96 \pm 8,54\%$ , diikuti oleh AN12 sebesar  $73,73 \pm 6,53\%$ , dan AN8 sebesar  $64,11 \pm 19,18\%$ . Namun, hasil uji statistik menunjukkan nilai signifikansi  $p = 0,285$  ( $p > 0,05$ ), yang mengindikasikan bahwa tidak terdapat perbedaan viabilitas yang bermakna antar isolat pada paparan oxgall 0,5%. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi garam empedu memberikan tekanan lingkungan yang relatif seragam terhadap seluruh isolat BAL.

Perbedaan viabilitas BAL pada paparan garam empedu dipengaruhi oleh kemampuan adaptasi fisiologis masing-masing isolat. Garam empedu bersifat deterjen yang dapat merusak integritas membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran komponen intrasel, serta mengganggu keseimbangan osmotik sel. BAL yang memiliki ketahanan lebih baik umumnya mampu memodifikasi komposisi membran sel, meningkatkan aktivitas enzim bile salt hydrolase (BSH), serta mengaktifkan mekanisme proteksi sel untuk mengurangi efek toksik garam empedu. Aktivitas BSH berperan dalam proses dekonjugasi garam empedu sehingga menurunkan toksitasnya terhadap sel bakteri.<sup>54</sup>

Viabilitas BAL yang masih berada di atas 60% pada kedua konsentrasi oxgall menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh dari air nabeez kurma Ajwa memiliki potensi untuk bertahan di lingkungan usus. Hal ini sesuai dengan kriteria probiotik in vitro yang menyatakan bahwa bakteri probiotik harus mampu mempertahankan viabilitasnya setelah paparan garam empedu. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Zommiti dkk. (2018) yang melaporkan bahwa BAL dengan potensi

sebagai probiotik harus mampu bertahan hidup pada paparan garam empedu dengan konsentrasi 0,3–0,5%, di mana BAL dengan viabilitas lebih dari 50% setelah paparan garam empedu dinyatakan memiliki ketahanan yang baik dan berpotensi untuk bertahan di lingkungan usus halus. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini, di mana seluruh isolat BAL dari air nabeez kurma Ajwa masih menunjukkan viabilitas di atas 60% setelah paparan oxgall 0,3% dan 0,5%.<sup>53</sup>

Selain itu, FAO/WHO (2002) menyatakan bahwa ketahanan terhadap garam empedu merupakan salah satu kriteria utama dalam evaluasi probiotik secara in vitro, karena bakteri probiotik harus mampu bertahan setelah melewati lambung dan beradaptasi dengan lingkungan usus halus yang mengandung garam empedu. Kemampuan isolat BAL dalam penelitian ini untuk mempertahankan viabilitas pada paparan oxgall menunjukkan potensi adaptasi fisiologis yang baik terhadap kondisi saluran pencernaan. Selain faktor fisiologis bakteri, kondisi matriks fermentasi juga diduga berperan dalam mendukung ketahanan BAL. Kandungan nutrisi dalam air nabeez kurma Ajwa, seperti gula sederhana dan senyawa bioaktif, berpotensi mendukung adaptasi fisiologis BAL selama proses fermentasi, sehingga meningkatkan kemampuan bakteri untuk menghadapi tekanan lingkungan, termasuk paparan garam empedu.

Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa isolat BAL hasil fermentasi air nabeez kurma Ajwa menunjukkan ketahanan yang baik terhadap garam empedu, baik pada konsentrasi oxgall 0,3% maupun 0,5%. Isolat AN10 secara konsisten menunjukkan viabilitas tertinggi pada kedua konsentrasi garam empedu, sehingga berpotensi lebih unggul sebagai kandidat probiotik. Namun

demikian, penilaian potensi probiotik BAL tetap perlu didukung oleh pengujian karakteristik probiotik lainnya.

## **6.8 Uji ketahanan enzim pencernaan isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik pada air Nabeez kurma Ajwa**

Berdasarkan hasil penelitian, uji ketahanan terhadap enzim pencernaan menunjukkan bahwa seluruh isolat BAL hasil fermentasi air nabeez kurma Ajwa masih mampu bertahan hidup setelah paparan enzim pepsin dengan waktu inkubasi selama 90 menit, meskipun terjadi penurunan jumlah koloni dibandingkan dengan kondisi kontrol. Ketahanan terhadap enzim pencernaan, khususnya pepsin, merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi probiotik secara *in vitro*, karena bakteri probiotik harus mampu bertahan selama fase pencernaan di lambung sebelum mencapai usus.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat AN10 memiliki viabilitas tertinggi dengan rataan sebesar  $79,58 \pm 6,09\%$ , diikuti oleh isolat AN8 sebesar  $77,35 \pm 1,96\%$ , dan isolat AN12 sebesar  $73,60 \pm 2,43\%$ . Seluruh isolat menunjukkan viabilitas di atas 70% setelah paparan enzim pepsin, yang mengindikasikan kemampuan bertahan hidup yang baik terhadap kondisi pencernaan awal. Hasil uji statistik menunjukkan nilai signifikansi  $p > 0,05$ , yang menandakan bahwa tidak terdapat perbedaan viabilitas yang bermakna antar isolat BAL setelah paparan enzim pepsin. Hal ini menunjukkan bahwa ketahanan terhadap enzim pepsin pada isolat BAL air Nabeez kurma Ajwa relatif seragam.

Ketahanan BAL terhadap enzim pepsin berkaitan dengan kemampuan adaptasi fisiologis sel bakteri dalam menghadapi lingkungan lambung yang bersifat asam

dan proteolitik. Enzim pepsin dapat menghidrolisis protein penyusun dinding sel dan membran bakteri, sehingga berpotensi menyebabkan kerusakan struktur sel dan menurunkan viabilitas bakteri. BAL yang memiliki ketahanan lebih baik umumnya mampu mempertahankan integritas dinding sel melalui berbagai mekanisme adaptif, seperti modifikasi komposisi membran, pengaturan respons stres seluler, serta peningkatan ekspresi protein stres yang berfungsi melindungi komponen intrasel dari kerusakan akibat tekanan lingkungan. Mekanisme adaptasi fisiologis ini merupakan respons umum BAL terhadap kondisi stres lingkungan yang ekstrem, termasuk paparan pH rendah dan aktivitas proteolitik enzim pencernaan, sehingga memungkinkan BAL tetap bertahan hidup selama proses pencernaan di lambung.<sup>55</sup>

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Tokatlı dkk. (2015) yang melaporkan bahwa BAL dengan potensi sebagai probiotik harus mampu mempertahankan viabilitasnya setelah paparan simulated gastric juice yang mengandung enzim pepsin. Dalam penelitiannya, isolat BAL yang menunjukkan tingkat kelangsungan hidup yang tinggi setelah inkubasi dengan pepsin dinyatakan memiliki potensi probiotik yang lebih baik.<sup>56</sup> Temuan ini juga diperkuat oleh penelitian Megur dkk. (2023) yang menyatakan bahwa viabilitas BAL setelah paparan enzim pepsin merupakan salah satu parameter utama dalam skrining in vitro probiotik, karena mencerminkan peluang bakteri untuk bertahan selama transit di lambung sebelum mencapai usus.<sup>57</sup>

Selain faktor fisiologis bakteri, kondisi matriks fermentasi air nabeez kurma Ajwa diduga turut berperan dalam mendukung ketahanan BAL. Kandungan nutrisi dalam air nabeez kurma Ajwa, seperti gula sederhana dan senyawa bioaktif, berpotensi membantu mempertahankan stabilitas sel serta meningkatkan

kemampuan adaptasi BAL terhadap stres pencernaan, termasuk paparan enzim pepsin.

Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa isolat BAL hasil fermentasi air nabeez kurma Ajwa menunjukkan ketahanan yang baik terhadap enzim pencernaan pepsin. Seluruh isolat mampu mempertahankan viabilitas di atas 70% setelah inkubasi dengan enzim pepsin, dengan isolat AN10 menunjukkan nilai viabilitas tertinggi. Hasil ini mengindikasikan bahwa BAL dari air nabeez kurma Ajwa memiliki potensi yang baik sebagai kandidat probiotik. Meskipun hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan antar perlakuan tidak signifikan secara statistik, kecenderungan viabilitas tertinggi pada isolat AN10 tetap mencerminkan adanya respons biologis yang relevan. Namun demikian, evaluasi lanjutan terhadap karakteristik probiotik lainnya tetap diperlukan untuk memastikan potensi fungsional isolat tersebut.

## **BAB VII**

### **PENUTUP**

#### **7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian mengenai Pengaruh Lama Fermentasi Air Nabeez Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera L.*) terhadap Karakteristik BAL sebagai Probiotik, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Variasi lama fermentasi air Nabeez kurma Ajwa berpengaruh terhadap jumlah total koloni BAL. Fermentasi selama 8 jam menghasilkan jumlah koloni BAL tertinggi, diikuti fermentasi 10 jam, sedangkan fermentasi 12 jam menunjukkan jumlah koloni terendah.
2. Hasil identifikasi makroskopis menunjukkan bahwa koloni BAL dari seluruh variasi lama fermentasi memiliki karakteristik yang relatif seragam, yaitu berbentuk bulat, permukaan halus, berwarna putih hingga putih krem, yang merupakan ciri khas koloni BAL.
3. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa seluruh isolat BAL dari fermentasi air Nabeez kurma Ajwa merupakan bakteri Gram positif, dengan bentuk sel basil, sesuai dengan karakteristik BAL yang berpotensi sebagai probiotik.
4. Uji katalase pada seluruh isolat BAL menunjukkan hasil katalase negatif, yang menguatkan bahwa isolat yang diperoleh termasuk ke dalam kelompok BAL.

5. Berdasarkan uji tipe fermentasi, seluruh isolat BAL dari variasi lama fermentasi air Nabeez kurma Ajwa bersifat homofermentatif, yang ditandai dengan tidak terbentuknya gas selama proses fermentasi glukosa.
6. Uji ketahanan terhadap kondisi pH rendah menunjukkan bahwa BAL hasil fermentasi air Nabeez kurma Ajwa memiliki potensi untuk bertahan hidup saat melewati lingkungan asam lambung.
7. Uji ketahanan terhadap garam empedu menunjukkan bahwa isolat BAL mampu mempertahankan viabilitasnya pada konsentrasi garam empedu, sehingga berpotensi untuk bertahan dan berkembang di saluran pencernaan.
8. Hasil uji ketahanan terhadap enzim pencernaan menunjukkan bahwa isolat BAL masih memiliki tingkat kelangsungan hidup setelah paparan enzim pencernaan, sehingga memenuhi salah satu kriteria penting sebagai kandidat probiotik.

## 7.2 Saran

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan standarisasi dan optimasi metode penghentian fermentasi air Nabeez kurma Ajwa, mengingat waktu dan cara penghentian fermentasi sangat memengaruhi kualitas serta viabilitas BAL. Penghentian fermentasi sebaiknya dilakukan melalui penyimpanan pada suhu rendah (refrigerasi) untuk memperlambat aktivitas metabolismik BAL, karena penghentian fermentasi hanya dengan membuka tutup botol belum efektif dalam menjaga kestabilan hasil fermentasi secara optimal.

2. Penelitian ini belum melakukan identifikasi spesifik terhadap jenis dan spesies BAL yang dihasilkan (misalnya genus *Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Leuconostoc*, atau lainnya). Oleh karena itu, penelitian selanjutnya sangat disarankan untuk melakukan identifikasi molekuler, seperti analisis gen 16S rRNA dan gen fungsional probiotik, guna memastikan spesies, strain unggulan, serta karakter genetik BAL yang berpotensi sebagai probiotik.
3. Keterbatasan penelitian ini adalah belum dilakukannya uji aktivitas antimikroba BAL terhadap bakteri patogen, padahal aktivitas antimikroba merupakan salah satu kriteria penting dalam penilaian potensi probiotik. Oleh karena itu, penelitian lanjutan disarankan untuk melakukan uji antimikroba terhadap bakteri patogen klinis guna memperkuat klaim fungsional BAL sebagai kandidat probiotik.
4. Penelitian lanjutan perlu diarahkan pada uji *in vivo* dan uji klinis awal untuk menilai keamanan, stabilitas, serta efektivitas BAL hasil fermentasi air Nabeez kurma Ajwa dalam meningkatkan kesehatan saluran cerna dan respon imun.
5. Pengujian aktivitas fungsional lanjutan, seperti kemampuan adhesi BAL terhadap sel epitel usus, aktivitas antioksidan, dan imunomodulator, perlu dilakukan untuk memperkuat bukti ilmiah potensi BAL sebagai probiotik fungsional.
6. Pengembangan produk pangan fungsional atau nutraceutikal berbasis air Nabeez kurma Ajwa dengan formulasi probiotik (misalnya minuman siap

konsumsi, serbuk instan, atau kapsul) disarankan sebagai upaya translasi hasil penelitian ke masyarakat dan industri pangan kesehatan.

7. Studi stabilitas dan standarisasi bahan baku menggunakan kurma Ajwa dari berbagai batch dan asal produksi perlu dilakukan untuk menjamin konsistensi viabilitas BAL, keamanan mikrobiologis, serta mutu produk probiotik secara berkelanjutan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Okfrianti Y, Darwis D, Pravita A. Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Plantarum* C410LI dan *Lactobacillus Rossiae* LS6 yang Diisolasi dari Lemea Rejang terhadap Suhu, pH dan Garam Empedu Berpotensi sebagai Prebiotik. *J Ilmu dan Teknol Kesehat*. 2018;6(1):49–58.
2. Rahmiati R, Mumpuni M. Eksplorasi Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Dan Potensinya Dalam Menghambat Bakteri Patogen. *Elkawnie*. 2017;3(2):141–50.
3. Fachrial E, Harmileni H. Aktivitas Antimikroba Dan Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Plik U, Makanan Fermentasi Tradisional Asal Aceh, Indonesia. *Semin Nas Sains dan Teknol Inf* [Internet]. 2018;1(1):82–7. Available from: <http://prosiding.seminar-id.com/index.php/sensasi/article/view/13>
4. J. K. Negara, M. Arifin, E. Taufik, T. Suryati. Penambahan Sari Kurma sebagai Substrat Antibakteri pada Minuman Whey Fermentasi. *J Ilmu Produksi dan Teknol Has Peternak*. 2021;9(1):36–41.
5. Afifah H, Putri EBP. Perbedaan Lama Perendaman dan Suhu Penyimpanan terhadap Kadar Etanol dan Total Gula pada Air Nabeez Kurma (*Phoenix dactylifera* L.). *Teknol Pangan dan Gizi*. 2022;21(2):103–8.
6. Risna YK, Sri-Harimurti SH, Wihandoyo W, Widodo W. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Itik Lokal Asal Aceh. *J Peternak Indones (Indonesian J Anim Sci*. 2022;24(1):1.
7. Junita S, Mustakim A, Jambi UA. REVIEW ARTIKEL STUDI : POTENSI PROBIOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT DALAM MENINGKATKAN SALURAN. *J Stud Multidisipliner*. 2024;8(11):110–4.
8. Chandra EH, Lokapirnasari WP, Hidanah S, Al-Arif MA, Yuniar WM, Luqman EM. Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria on Feed Efficiency, Weight and Carcass Percentage in Ducks. *J Med Vet*. 2022;5(1):69–73.

9. Abdillah S. Analisis Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Pada Air Nabeez Kurma Ajwa. Jurnal Universitas Islam Negeri Walisongo. 2022.
10. BATRISYIA AD. ANALISIS GOLONGAN SENYAWA AKTIF DAN UJI RESPON IMUN NON-SPESIFIK AIR NABEEZ KURMA AJWA (*Phoenix dactylifera L.*) SEBAGAI BIO-IMUNOMODULATOR HALAL. 2022.
11. NABILA. PENGARUH WAKTU PERENDAMAN DAN JUMLAH KURMA TERHADAP KADAR NATRIUM, KALIUM, ZAT BESI, PH DAN ORGANOLEPTIK PADA AIR NABEEZ KURMA VARIAN AJWA (*Phoenix dactylifera L.*) SKRIPSI. FAKULTAS PSIKOLOGI DAN KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG. 2022.
12. Ulfa Namirah, Arsal ASF, Rasfayanah, Indah Lestari Daeng Kanang, Nasruddin H. Pengaruh Pemberian Kurma Ajwa Sebagai Antibakterial dan Imunomodulator terhadap Bakteri *Salmonella Typhi*. Fakumi Med J J Mhs Kedokt. 2022;2(7):442–9.
13. Royani I, Mappaware NA, Hamsah M, Latief S, Syahril E. Potensi Kurma Ajwa (*Phoenix Dactylifera L.*) Bagi Kesehatan Reproduksi Wanita Dalam Literatur Islam dan Penelitian Ilmiah Terkini: Literatur Review. UMI Med J. 2022;7(2):152–65.
14. Al-Thubiani AS, Khan MSA. The prebiotic properties of date palm (*Phoenix dactylifera L.*) seeds in stimulating probiotic lactobacillus. J Pure Appl Microbiol. 2017;11(4):1675–86.
15. Malki A Al, Yoon SH, Firoz A, Ali HM, Park YH, Hor YY, et al. Characterization of New Probiotic Isolates from Fermented Ajwa Dates of Madinah and Their Anti-Inflammatory Potential. Appl Sci. 2022;12(10).
16. Syach AA. UJI KARAKTERISTIK BAKTERI ASAM LAKTAT AIR NABEEZ KURMA AJWA ( *PHOENIX DACTYLIFERA L* ) SEBAGAI PROBIOTIK. 2022;(1965).
17. Nyoman L, Metta A, Agung A, Alit S, Ramona Y. Kajian Pustaka : Bakteri

- Asam Laktat Halotoleran : Prospek Pengembangan Metoda Baru Untuk Menekan Pembentukan Histamin pada Hasil Laut. 2024;24:8–20.
18. Hairunnisa RS. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Penghasil Bakteriosin Dari Makanan Botok Ikan Tongkol (*Eutthynnus affinis* C) Khas Kalimantan Barat yang Memiliki Aktivitas Terhadap Bakteri Patogen. J Mhs Farm Fak Kedokt UNTAN. 2019;4(1):1–8.
  19. Zapański A, Sokołowska B, Bryła M. Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety. Foods. 2022;11(9):1–17.
  20. Priadi G, Setiyoningrum F, Afiati F, Irzaldi R, Lisdiyanti P. Studi in Vitro Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Dari Makanan Fermentasi Indonesia. J Teknol dan Ind Pangan. 2020;31(1):21–8.
  21. Amir Husin AH. Kajian Pembuatan Bioetanol dari Limbah Kulit Nanas (*Ananas comosus*. L). J Tek Kim USU. 2020;09(2):80–6.
  22. Kusuma KB. Probiotik dan Peranannya pada Penyakit Alergi Anak. Cermin Dunia Kedokt. 2017;44(6):441–4.
  23. Latif A, Shehzad A, Niazi S, Zahid A, Ashraf W, Iqbal MW, et al. Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. Front Microbiol. 2023;14(August).
  24. Aritonang, N S, Roza E, Rossi E. Probiotik dan Prebiotik Dari Kedelai untuk Pangan Fungsional [Internet]. Pedoman Gobal Gastroenterologi Dunia. 2019. 1–18 p. Available from: file:///C:/Users/USER/Downloads/Buku 3 Probiotik \_ Prebiotik dari Kedelai 2019 (1).pdf
  25. Ramdanty E, Andini AS, Studi P, Universitas B. AKTIVITAS ANTIBAKTERI AIR NABEEZ terhadap *E. Coli* dan *Staphilococcus aureus*. Lomb J Sci. 2022;4(3):6–11.
  26. Fibonacci A. Antioxidant Activity of Nabeez Water from Ajwa Palm Date Fruits (*Phoenix dactylifera* L) as a Favourite Drink of the Prophet Muhammad SAW. J Phys Conf Ser. 2020;1594(1).

27. Karim M. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera* L.) Terhadap Mikrobiota Usus Tikus Yang Diinduksi Diet Pakan Tinggi Lemak [Internet]. Skripsi Universitas Hasanuddin Makassar. 2021. Available from: <http://repository.unhas.ac.id/id/eprint/13492/>
28. Putra JI. Pengaruh Ekstrak Kurma Ajwa (*Phoenix dactylifera*) Sebagai Proteksi Terhadap Kerusakan Glomerulus Ginjal. 2021.
29. Rozana AN, Septirosya T, Zam SI. Viabilitas Benih Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) Pada Lama Perendaman Air Kelapa yang Berbeda. Agropross : National Conference Proceedings of Agriculture. 2023.
30. Zulfahmidah Z, Sri Wahyuni. M R, F.Bustan A. Efektifitas Kurma Ajwa dalam berbagai Penyakit. *Indones J Heal*. 2021;2(01):18–30.
31. Jiang J, Li K, Wang Y, Wu Z, Ma H, Zheng S, et al. Screening, Identification and Physiological Characteristics of *Lactobacillus rhamnosus* M3 (1) against Intestinal Inflammation. *Foods*. 2023;12(8).
32. Finanda A, Mukarina, Rahmawati. ISOLASI DAN KARAKTERISASI GENUS BAKTERI ASAM LAKTAT DARI FERMENTASI DAGING BUAH PISANG KEPOK (*Musa paradisiaca* L.). *J Protobiont*. 2021;10(2):37–41.
33. Putri EBP, Putri FK, Sulaiha S. PERBANDINGAN KADAR FLAVONOID DAN VITAMIN C PADA INFUSED WATER GOJI BERRY (*Lycium barbarum*) DAN AIR NABEEZ KURMA (*Phoenix dactylifera* L.). *Med Technol Public Heal J*. 2020;4(1):32–7.
34. Liu J, Zhao M, Hao J, Yan X, Fu Z, Zhu N, et al. Effects of temperature and lactic acid Bacteria additives on the quality and microbial community of wilted alfalfa silage. 2024;
35. Ayun Q, Muthiáh SN, Sukmalara D. Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Jus Tempe Sebagai Kandidat Probiotik. *J Al-AZHAR Indones SERI SAINS DAN Teknol*. 2023;8(2):171.
36. Wasis NO, Antara NS, Gunam IBW. Viability Studies of Lactic Acid Bacteria

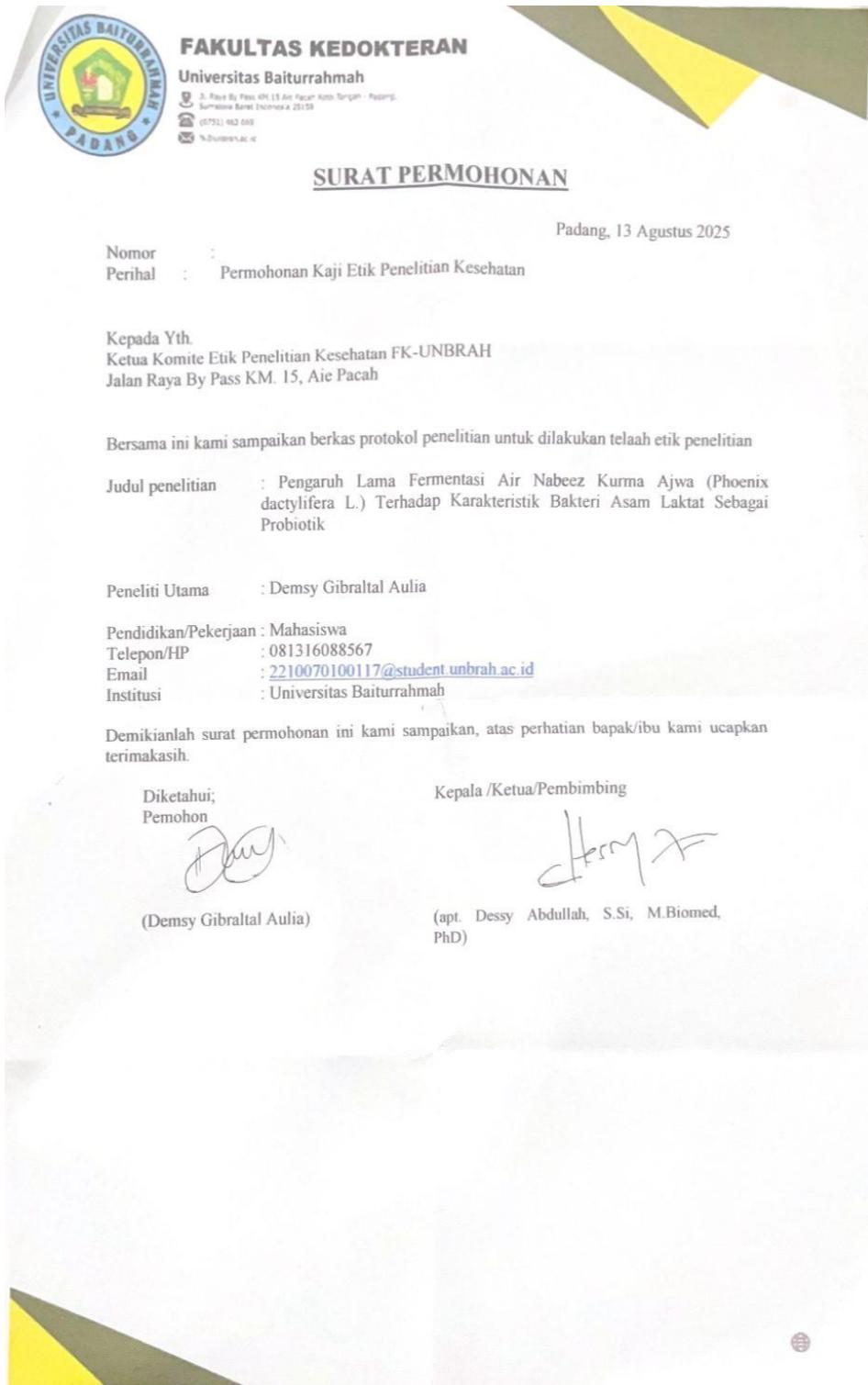
- Isolates Isolated from Tabah Bamboo Shoots Pickle on Low pH and Bile Salts. 2018;7(1):1–10.
37. Diva Mawaddah UM. PENGARUH PENAMBAHAN SARI KURMA TERHADAP KUALITAS DAN AKTIVITAS ANTIMIKROBA PADA DADIH. 2024;7(1):1–11.
  38. Chromatography G, Nurlaela RS, Hastuti A, Aminah S, Rosmayanti D, Heriana V. Identifikasi Kadar Alkohol dalam Air Nabeez Kurma Tunisia ( *Phoenix dactylifera L.* ) dengan Variasi Waktu dan Suhu Penyimpanan Menggunakan Kromatografi Gas Identification Of Alcohol Content in Nabeez Water of Tunisian Dates ( *Phoenix dactylifera L.* ) with Variations in Storage Time and Temperature Using. 2025;7(1):19–26.
  39. Arlando A. VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DAN NILAI pH KEJU SEGAR DENGAN KULTUR TUNGGAL DAN CAMPURAN *Lactobacillus rhamnosus* DAN *Pediococcus pentosaceus* SELAMA PENYIMPANAN DINGIN. 2023.
  40. Elke Galuh Primurdia JK. Antioxidant Activity of Probiotic Drink From Dates Extract ( *Phoenix dactilyfera L.* ) With the Isolates of *L. plantarum* and *L. casei*. 2014;2(3):98–109.
  41. Eleonora Di Salvo , Rossella Vadalà LDM. Supplementation of date palm ( *Phoenix dactylifera L.* ) residue for growth and lactic acid production of probiotic bacterial *Lactobacillus* spp. 2024; Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14786419.2024.2365440?scoll=top&needAccess=true>
  42. Xu X, Luo D, Bao Y, Liao X. Characterization of Diversity and Probiotic Efficiency of the Autochthonous Lactic Acid Bacteria in the Fermentation of Selected Raw Fruit and Vegetable Juices. 2018;9(October):1–16.
  43. Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligne B, et al. Health benefits of fermented foods : microbiota and beyond Michael Ga. ScienceDirect. 2017;94–102.

44. Mariano T, Albuquerque R De, Garcia EF. In Vitro Characterization of Lactobacillus Strains Isolated from Fruit Processing By-Products as Potential Probiotics. 2017;
45. Giyatno DC, Retnaningrum E. ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT PENGHASIL EKSOPOLISAKARIDA DARI BUAH KERSEN ( *Muntingia calabura* L .) ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF EXOPOLYSACCHARIDE PRODUCER LACTIC ACID BACTERIA FROM KERSEN FRUIT ( *Muntingia calabura* L .). 2020;9(2):42–9.
46. Luthfi Imam Sulistyo, Ajuk Sapar, Rudiyansyah, Ari Widhyantoro, Puji Ardiningsih M, Jurusan. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN KARAKTERISASI METABOLIT SEKUNDER FRAKSI ETIL ASETAT SPONS *Haliclona* sp. ASAL PULAU LEMUKUTAN. 2024;1(Mei):11–27.
47. Mulaw G, Tessema TS, Muleta D, Tesfaye A. In Vitro Evaluation of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Some Traditionally Fermented Ethiopian Food Products. 2019;2019.
48. Yukimune Tanaka , Ni Putu Desy Aryantini , Eiki Yamasaki , Makoto Saito , Yui Tsukigase , Hirotaka Nakatsuka , Tadasu Urashima RH and KF. In Vitro Probiotic Characterization and Safety Assessment of Lactic Acid Bacteria Isolated from Raw Milk of. 2023;
49. Pono Suderajad, Andi Dahlan, Willy Wijayanti, Baihaqi, Muhammad Rahmad Ramadhan AMN. Enumerasi, isolasi, dan karakterisasi bakteri asam laktat dari proses fermentasi makanan tradisional kabuto [. 2025;8783–94.
50. Suryani EM, Harmoko D, Rosiah N. Jurnal Biologi Tropis Identification and Evaluation of Lactic Acid Bacteria from Collagen Milk as Potential Probiotic Candidates. 2025;
51. Rumaisha R, Betha OS, Aldrat H. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Kefir Susu Kambing Saanen ( *Capra aegagrus Hircus* ). 2021;2(2):79–86.

52. Microbiol A, Wang C, Cui Y, Qu X. Mechanisms and improvement of acid resistance in lactic acid bacteria. *Arch Microbiol* [Internet]. 2017;0(0):0. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00203-017-1446-2>
53. Zommiti M, Cambronel M, Maillot O, Barreau M. Evaluation of Probiotic Properties and Safety of *Enterococcus faecium* Isolated From Artisanal Tunisian Meat “ Dried Ossban .” 2018;9(August):1–12.
54. Joyce SA, Gahan CGM. Bile Acid Modifications at the Microbe-Host Interface : Potential for Nutraceutical and Pharmaceutical Interventions in Host Health. :313–33.
55. Papadimitriou K, Alegria Á, Bron PA, Angelis M De, Gobbetti M, Kleerebezem M, et al. Stress Physiology of Lactic Acid Bacteria. 2016;80(3):837–90.
56. J MT, Gülgör GG, J SBLDE, Arslankoz N, Özçelik F. In Vitro Properties of Potential Probiotic Indigenous Lactic Acid Bacteria Originating from Traditional Pickles. 2015;2015.
57. Daliri EB mwine. In vitro screening and characterization of lactic acid bacteria from Lithuanian fermented food with potential probiotic properties. 2023;(September).

## LAMPIRAN

### Lampiran. 1 Surat Permohonan Etik



## Lampiran. 2 Etik Universitas Baiturrahmah

 **FAKULTAS KEDOKTERAN**  
Universitas Baiturrahmah  
Jl. Raya By Pass KM.15 Air Pasah Koto Tengah - Padang,  
Sumatera Barat Indonesia 25138  
(0751) 463 069  
fk.unbrah.ac.id

**KOMISI ETIK PENELITIAN**  
*Health Research Ethics Committee*

**KETERANGAN LAYAK ETIK**  
*Description of Ethical Approval*

**“Ethical Approval”**  
No: 082/ETIK-FKUNBRAH/03/09/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh:  
*The Research Protocol Proposed by*

Penelitian Utama : **DEMSY GIBRALTAL AULIA/ 22-146**  
*Principal Investigator*

Nama Institusi : **FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS BAITURRAHMAH**  
*Name of The Institution*

Dengan Judul : **PENGARUH LAMA FERMENTASI AIR NABEEZ KURMA AJWA**  
**(PHOENIX DACTYLIFERA L.) TERHADAP KARAKTERISTIK BAKTERI**  
**ASAM LAKTAT SEBAGAI PROBIOTIK**  
*Title*

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu: 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan/Eksplorasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMSS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

*Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Value, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assesment And Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.*

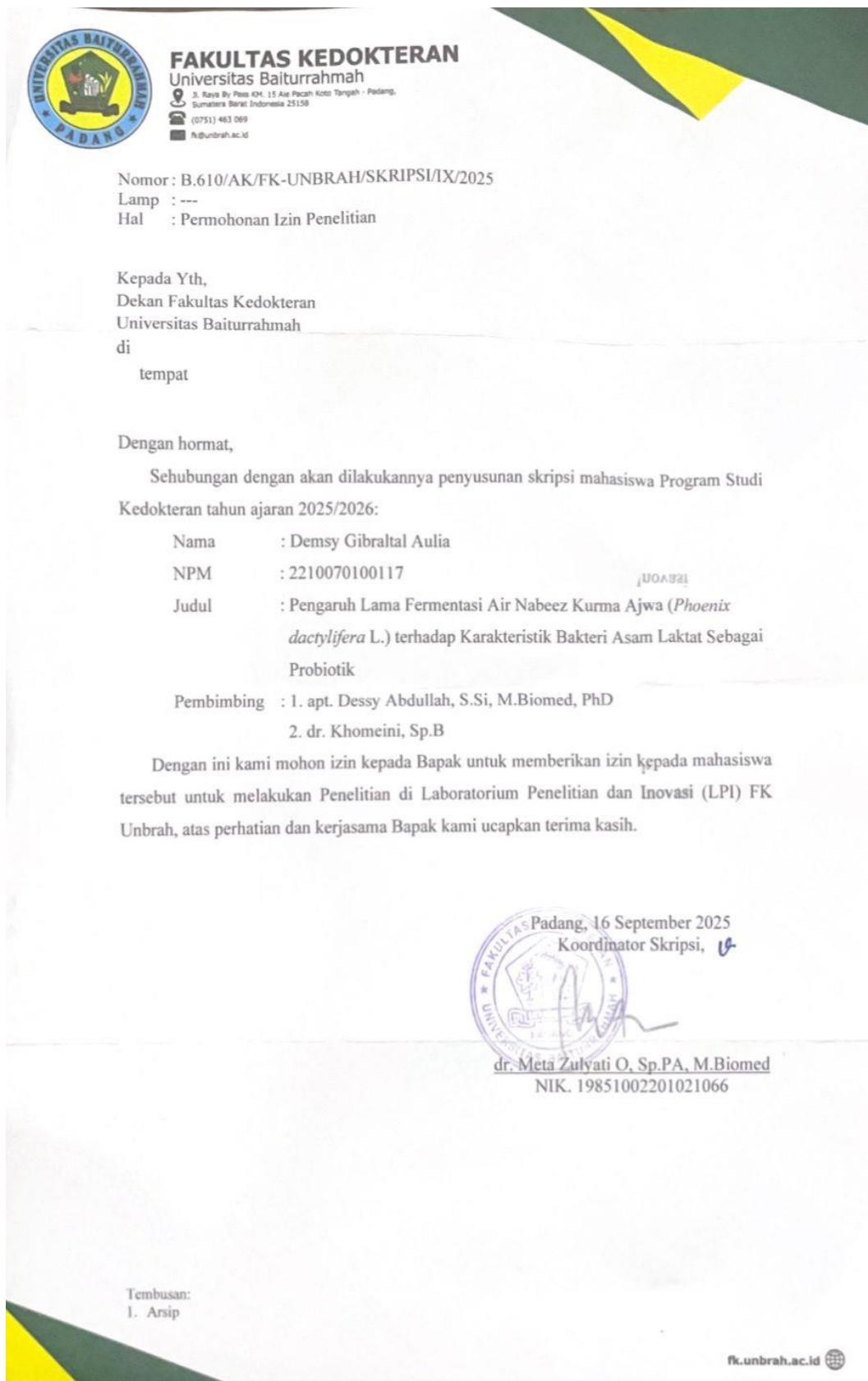
Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 15 September 2025 sampai dengan 15 September 2026.  
*This declaration of ethics applies during the period Sept 15, 2025 until Sept 15, 2026*

15 Sept, 2025  
Chairperson,  
  
dr. Mutiara Amissa, Sp.KJ

Tembusan:  
1. Arsip

[fk.unbrah.ac.id](http://fk.unbrah.ac.id) 

### Lampiran. 3 Izin Penelitian



## Lampiran. 4 Hasil Analisis Data

### 1. Total BAL

#### Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
TotalBAL	F8	.175	3	.	1.000	3	1.000
	F10	.175	3	.	1.000	3	1.000
	F12	.175	3	.	1.000	3	1.000

#### Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
TotalBAL	Based on Mean	1.014	2	6	.417
	Based on Median	1.014	2	6	.417
	Based on Median and with adjusted df	1.014	2	3.666	.446
	Based on trimmed mean	1.014	2	6	.417

#### ANOVA

TotalBAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4764.500	2	2382.250	117.758	.000
Within Groups	121.380	6	20.230		
Total	4885.880	8			

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: TotalBAL

			Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	
Tukey HSD	F8	F10	22.50000*	3.67242	.002	11.2320	
		F12	56.00000*	3.67242	.000	44.7320	
	F10	F8	-22.50000*	3.67242	.002	-33.7680	
		F12	33.50000*	3.67242	.000	22.2320	
	F12	F8	-56.00000*	3.67242	.000	-67.2680	
		F10	-33.50000*	3.67242	.000	-44.7680	
Bonferroni	F8	F10	22.50000*	3.67242	.003	10.4271	
		F12	56.00000*	3.67242	.000	43.9271	
	F10	F8	-22.50000*	3.67242	.003	-34.5729	
		F12	33.50000*	3.67242	.000	21.4271	
	F12	F8	-56.00000*	3.67242	.000	-68.0729	
		F10	-33.50000*	3.67242	.000	-45.5729	

## 2. Ketahanan Asam Lambung pH 2

### Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ph2viabilitas	F8	.272	3	.	.946	3	.554
	F10	.308	3	.	.902	3	.393
	F12	.188	3	.	.998	3	.910

### Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ph2viabilitas	Based on Mean	.184	2	6	.836
	Based on Median	.171	2	6	.847
	Based on Median and with adjusted df	.171	2	5.906	.847
	Based on trimmed mean	.185	2	6	.836

### ANOVA

ph2viabilitas

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		99.935	2	49.968	.685	.540
Within Groups		437.654	6	72.942		
Total		537.589	8			

### 3. Ketahanan Asam Lambung pH 4

### Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
pH4Viabilitas	F8	.263	3	.	.955	3	.592
	F10	.319	3	.	.885	3	.341
	F12	.175	3	.	1.000	3	.996

### Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
pH4Viabilitas	Based on Mean	3.411	2	6	.102
	Based on Median	.690	2	6	.537
	Based on Median and with adjusted df	.690	2	3.800	.555
	Based on trimmed mean	3.087	2	6	.120

### ANOVA

pH4Viabilitas

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		25.840	2	12.920	.397	.689
Within Groups		195.383	6	32.564		
Total		221.224	8			

#### 4. Ketahanan Garam Empedu 0,3%

### Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df		
Garampempedu03	F8	.190	3	.	.997	3		
	F10	.177	3	.	1.000	3		

F12	.353	3	.	.823	3	
-----	------	---	---	------	---	--

### Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Garampempedu03	Based on Mean	1.310	2	6	.337
	Based on Median	1.263	2	6	.349
	Based on Median and with adjusted df	1.263	2	4.295	.370
	Based on trimmed mean	1.309	2	6	.337

### ANOVA

Garampempedu03

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	121.089	2	60.544	12.379	.007
Within Groups	29.346	6	4.891		
Total	150.435	8			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Garampempedu03

	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)		Sig.	95% Confidence Interval
			J)	Std. Error		
Tukey HSD	F8	F10	-3.45333	1.80573	.215	-8.9938
		F12	5.45667	1.80573	.053	-.0838
	F10	F8	3.45333	1.80573	.215	-2.0871

	F12	8.91000*	1.80573	.006	3.3695	
	F12	-5.45667	1.80573	.053	-10.9971	
	F10	-8.91000*	1.80573	.006	-14.4505	
Bonferroni	F8	F10	-3.45333	1.80573	.313	-9.3896
		F12	5.45667	1.80573	.070	-.4796
	F10	F8	3.45333	1.80573	.313	-2.4829
		F12	8.91000*	1.80573	.008	2.9738
	F12	F8	-5.45667	1.80573	.070	-11.3929
		F10	-8.91000*	1.80573	.008	-14.8462

## 5. Ketahanan Garam Empedu 0,5%

### Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnova <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Garamempedu05	F8	.240	3	.	.974	3	.691
	F10	.282	3	.	.936	3	.512
	F12	.181	3	.	.999	3	.941

### Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic		df1	df2	Sig.
Garamempedu05	Based on Mean		3.097	2	6	.119
	Based on Median		1.468	2	6	.303
	Based on Median and with adjusted df		1.468	2	2.650	.372
	Based on trimmed mean		2.973	2	6	.127

## ANOVA

Garamempedu05

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	227.689	2	113.844	1.553	.286
Within Groups	439.882	6	73.314		
Total	667.571	8			

### 6. Ketahanan Enzim Pencernaan (Pepsin)

#### Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df		
EnzimPencernaan	F8	.218	3	.	.987	3		
	F10	.185	3	.	.998	3		
	F12	.208	3	.	.992	3		

#### Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
EnzimPencernaan	Based on Mean	1.859	2	6	.235
	Based on Median	1.595	2	6	.278
	Based on Median and with adjusted df	1.595	2	2.906	.341
	Based on trimmed mean	1.844	2	6	.237

## ANOVA

EnzimPencernaan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.851	2	27.425	1.828	.240
Within Groups	90.001	6	15.000		
Total	144.851	8			

## Lampiran. 5 Dokumentasi



## Lampiran. 6 Biodata Peneliti

### Riwayat Pribadi

Nama Lengkap : Demsy Gibraltal Aulia

Tempat/Tanggal Lahir : Solok, 01 Mei 2005

Jenis Kelamin : Laki-Laki

No. Telp/HP : 081316088567

Asal SMA : SMAN 2 SUMATERA BARAT

Orang Tua :

    Nama Ayah : Aulia Putra B

    Pekerjaan : Wiraswasta

    Nama Ibu : Irma Suryani

    Pekerjaan : Ibu rumah tangga

Anak ke : 2

Alamat rumah : Jl. Veteran No 234, Tanjung Paku, Kota Solok

Kode Pos : 27324

Telepon : -

Email : [2210070100117@student.unbrah.ac.id](mailto:2210070100117@student.unbrah.ac.id)

Pengalaman Organisasi : Anggota Fikri Asy Syura

Visi Hidup : Hidup sederhana, terus belajar, dan bermanfaat bagi sesama.

