

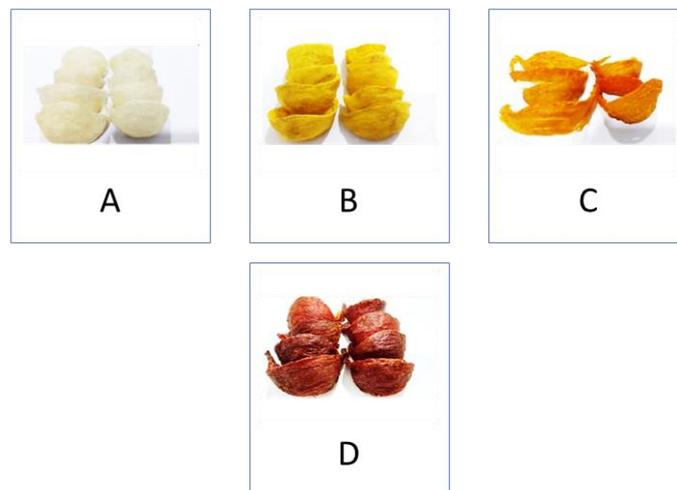
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sarang Burung Walet

Sarang burung walet yang dikenal juga sebagai edible bird nest, adalah struktur yang terbentuk dari padatan air liur burung walet (Fiqri., 2022). Sarang burung walet terbentuk dari sekresi berprotein tinggi yang berasal dari air liur di bawah lidah walet kemudian mengeras yang membentuk mangkukan dan menempel di langit-langit gua maupun bangunan serta memiliki nilai harga jual yang tinggi. Sarang burung walet memiliki berat berkisar antara 6 – 10 gram, didalamnya terkandung asam amino, 60% protein, 25% karbohidrat, 10% mengandung air dan mengandung beberapa mineral seperti fosfor, kalsium, sulfur, dan potassium. Sarang burung walet memiliki asam amino tinggi dan 9 senyawa aktif asam oktadekanoat dan asam heksadekanoat yang berperan dalam menghambat kanker, mencegah anti inflamasi, menurunkan kadar kolesterol, bahan pelarut vitamin A, D, E, dan K yang dapat menstimulasi kinerja enzim sehingga dapat mengaktifkan kinerja metabolisme di dalam tubuh (Kristiana dan Prasaja, 2023).

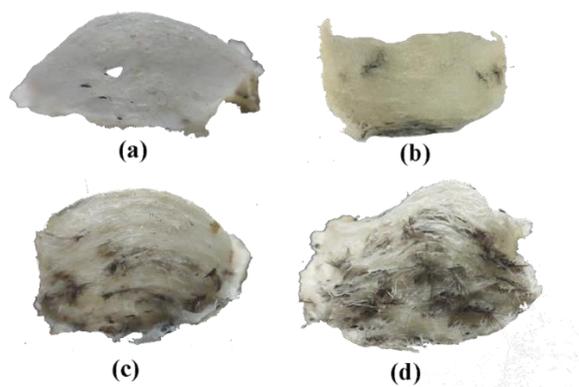
Sarang burung walet umumnya dibangun oleh walet jantan dalam rentang waktu 35 hingga 90 hari, dengan perkiraan berat antara 7 hingga 20 gram (Sirenden, dkk., 2018). Bentuk struktur dari sarang burung walet yang paling umum di temui adalah berbentuk setengah mangkuk, berserat panjang, dan remahan (Kurniawan, dkk., 2021). Bentuk struktur sarang burung walet yang merupakan setengah mangkuk memungkinkan dinding sarang tetap kuat dan kokoh (Jamalluddin dkk., 2019). Sarang walet sendiri berbentuk setengah mangkuk ukuran panjang 7 – 9.5 cm, lebar 2.8 - 3.8, tinggi 1.2 – 2.1 cm, dan berat 5 – 10 gram (Daud dkk., 2021).

Sarang burung walet umumnya berwarna putih, meskipun ada juga sarang burung walet yang memiliki warna merah atau hitam. Sarang burung walet putih hampir keseluruhan terbuat dari air liur dan banyak ditemukan di rumah produksi walet. Sarang burung walet merah mempunyai khasiat tinggi serta juga harga yang tertinggi di pasaran. Sedangkan sarang burung walet hitam terdiri dari 45-55% bulu dan hanya di panen di gua-gua (Lee dkk., 2021). Menurut (Ningrum, 2022) kandungan nitrit dalam SBW berbagai warna juga diperiksa. SBW berwarna putih, kuning, merah, dan oranye. Uji Tukey HSD menunjukkan bahwa kandungan nitrit pada SBW kuning, merah darah, dan oranye secara signifikan lebih tinggi 30 kali lipat dibandingkan dengan SBW putih. Apalagi SBW berwarna oranye mengandung kadar nitrit pada kelompok ini. Kadar nitrit pada kelompok SBW oranye tidak berbeda nyata dengan kelompok SBW merah dan kuning.



Gambar 2.1 A. Sarang Putih, B. Sarang Kuning, C. Sarang Oranye, D.Sarang Darah (Ningrum, 2022)

Dilihat dari jumlah bulunya, sarang burung walet dibedakan menjadi gundul, ringan, sedang, dan berat. Setiap industri dapat memiliki Standar Operasional Prosedur (SOP) berbeda. Sebagai gambaran, industry A dapat menerima semua jenis bahan baku baik bentuk maupun jumlah bulunya. Namun industry B, SOP nya bisa berbeda, hanya mengambil sarang burung berbentuk cangkir dengan bulu yang tipis. Tidak ada yang salah dengan kedua jenis industry ini (Merino dkk., 2017)



Gambar 2.2. a) Sarang Burung Bulu Gundul, b) Sarang Burung Bulu Ringan, c) Sarang Burung Bulu Sedang, d) Sarang Burung Bulu Tebal (Ningrum dkk., 2023).

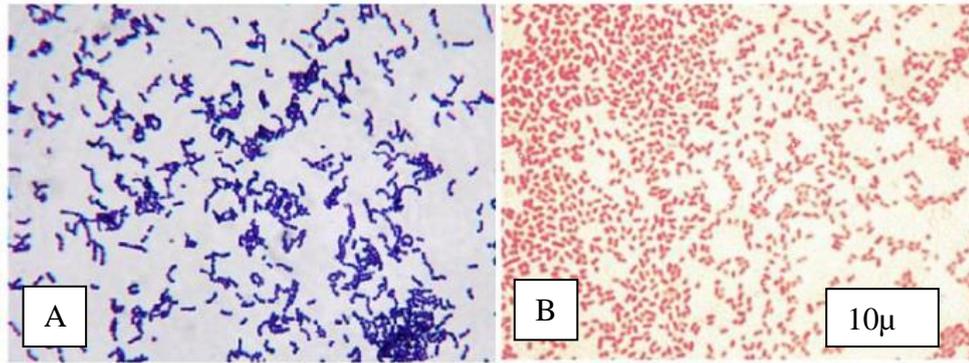
2.2 Bakteri penghasil nitrit

Nitrit dapat menjadi zat yang berbahaya karena mampu menyebabkan methemoglobinemia, yang mengganggu transportasi oksigen dalam tubuh dan menyebabkan kesulitan bernafas. Selain itu, nitrit bereaksi dengan asam kuat di dalam perut untuk membentuk nitrosamin, yang merupakan senyawa karsinogenik yang kuat seperti karsinogen N-nitrosamin. Nitrosamin dapat meningkatkan risiko kanker kolorektal (Saputro dkk., 2016). Kontaminasi nitrit pada sarang burung walet terjadi terutama ketika sarang masih berada di habitat alaminya (Utomo dkk., 2018).

Bakteri nitrifikasi banyak ditemukan di alam, terutama di tanah. Studi pada tanah gambut mengidentifikasi lima genus bakteri *nitrifikasi*, yaitu *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrosococcus*, dan *Nitrocystis* (Kiding dkk., 2015). Pengecekan kadar nitrit pada bahan baku diperlukan untuk mengetahui kadar nitrit sebelum dicuci. Kadar nitrit yang terlalu tinggi pada bahan baku akan menyebabkan pengerjaan ulang. Teknik mencuci dengan air yang mengalir selama beberapa detik pada akhirnya tidak dapat menurunkan kadar nitrit (Yusufdkk, 2020). Oleh karena itu, penilaian bahan baku efektif mengatasi kadar nitrit yang tinggi. Hal ini dapat menghilangkan bahan baku yang tidak memenuhi standar industri untuk memenuhi kebutuhan pasar. Sistem perhitungan ini akan menentukan harga pasar SBW (Jamaluddin dkk, 2019).

2.3 Isolasi dan Identifikasi

Salah satu bidang ilmu mikrobiologi adalah mempelajari ciri-ciri bakteri, sehingga perlu dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri. Isolasi mikroorganisme melibatkan pemisahan satu jenis bakteri dari jenis bakteri lainnya dari campuran mikroorganisme yang berbeda untuk mendapatkan kultur murni. Identifikasi mikroba membawa penentuan karakteristik morfologi, biokimia dan molekuler bakteri (Putri dan Kusdiyantini, 2018). Salah satu metode untuk mengklasifikasikan bakteri adalah dengan menggunakan pewarnaan gram, di mana bakteri dapat dibagi menjadi dua kelompok: bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri Gram negatif biasanya menunjukkan warna merah atau merah muda setelah proses pewarnaan (Naue, dkk.,2022).



Gambar 2.3 **A. Bakteri Gram Positif B. Bakteri Gram Negatif**

Pewarnaan bertujuan untuk memfasilitasi pengamatan bakteri di bawah mikroskop dengan lebih jelas. Hal ini mencakup memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, mengungkap struktur luar dan internal seperti dinding sel dan vakuola, menyoroti sifat-sifat kimia yang khas dari bakteri melalui zat warna yang digunakan, serta meningkatkan kontras antara mikroorganisme dengan lingkungannya sekitarnya (Virgianti dan Luciana, 2017).

Dalam proses pewarnaan gram, Bakteri yang telah difiksasi diberi perlakuan berurutan dengan larutan-larutan berikut: kristal violet untuk pewarnaan, larutan yodium untuk mengikat pewarna, larutan alkohol sebagai bahan pemucat, dan akhirnya zat pewarna safranin atau air fuchsin untuk menunjukkan bakteri yang telah terwarnai. Bakteri Gram positif akan tetap berwarna ungu setelah proses ini karena mempertahankan kristal violet, sementara bakteri gram negatif akan kehilangan warna ungu setelah larutan safranin atau air fuchsin diberikan (Susanto, 2016).

2.4 Uji Biokimia

Uji biokimia bakteri adalah metode atau prosedur yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi suatu kultur murni bakteri yang diisolasi, berdasarkan sifat-sifat fisiologisnya (Rahayu dan Gumilar, 2017). Proses ini melibatkan serangkaian uji seperti uji aerobik, uji glukosa, uji indol, uji katalase, uji oksidase, uji pigmen, uji OF medium, uji reduksi nitrat, dan uji VP (Santi dkk, 2014). Uji fermentasi gula-gula bertujuan untuk mengamati kemampuan bakteri dalam mengubah berbagai jenis gula menjadi asam, seperti glukosa, maltosa, laktosa, arabinosa, sorbitol, dan mannitol. Perubahan dari warna dasar (merah) media gula menjadi warna kuning menunjukkan penurunan pH akibat produksi asam (Irwansyah, 2018).

Uji indol dilakukan untuk menguji kemampuan suatu organisme dalam mendegradasi asam amino triptofan dan menghasilkan indol. Hasil positif dari uji ini ditunjukkan oleh pembentukan lapisan merah di atas media setelah penambahan reagen indol, sedangkan hasil negatifnya ditunjukkan oleh tidak adanya perubahan warna atau tetapnya warna media kuning setelah penambahan reagen indol (Hidayah dkk., 2022).

Uji urea menilai kemampuan bakteri untuk memecah urea menjadi amonia dan karbon dioksida dengan enzim urease. Bakteri menghasilkan enzim urea (urea positif) jika medium berubah warna menjadi merah atau perubahan warna media menjadi merah muda (alkali) menunjukkan produksi amonia, sedangkan urea negatif jika medium tidak berubah warna (Sulistiyono dan Mutiara, 2022).

Uji *Simmon's citrate* (uji sitrat) bertujuan untuk menentukan apakah bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri yang

mampu memanfaatkan sitrat akan menggunakan garam amonium dan menghasilkan amonia. Proses ini menghilangkan asam dari medium, yang pada gilirannya meningkatkan pH. Perubahan ini mengubah warna medium dari hijau menjadi biru (Putri, 2016). Hasil positif dari uji ini ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi biru, menandakan bahwa bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Sedangkan hasil negatifnya ditunjukkan oleh tidak adanya perubahan warna atau tetapnya warna hijau pada medium(Sari dkk., 2018).

Uji *triple sugar iron agar* (TSIA) digunakan untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan gas, serta hidrogen sulfida (H₂S) atau tidak. Media TSIA terdiri dari dua bagian: slant miring dan butt tusuk. Reaksi spesifik seperti yang terjadi pada bakteri *Salmonella* pada TSIA adalah sebagai berikut: pada bagian slant, jika bakteri menghasilkan H₂S, akan terbentuk warna hitam yang menutupi warna dasar agar. Reaksi alkalin (basal) ditunjukkan dengan warna merah pada slant. Bakteri dapat atau tidak dapat menghasilkan gas dalam medium ini (Sari dkk., 2018).

Uji Oksidatif-fermentatif (O/F) bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri mampu melakukan fermentasi karbohidrat dalam kondisi anaerob. Hasil oksidatif dari uji ini ditunjukkan dengan perubahan warna pada bagian atas tabung media dari hijau menjadi kuning. Sedangkan hasil fermentatif ditunjukkan dengan perubahan warna pada seluruh bagian atas tabung media dari hijau menjadi kuning (Sinubu dkk., 2022).

Tabel 1: Perbedaan hasil uji fenotipe Gram positif (+) dan gram negatif (-)

NO	Perbedaan	Hasil	Hasil
		Gram positif (+)	Gram Negatif (-)
1.	Pewarnaan gram	Berwarna ungu atau biru	Berwarna merah muda atau merah
2.	Uji Indol	Cincin merah muncul	Tidak ada perubahan warna
3.	Urea	Warna merah muda pada medium urea	Tidak ada perubahan warna
4.	Sitrat	Warna biru pada medium Simmons citrate	Tidak ada perubahan warna
5.	TSIA	Warna hitam di bagian bawah tabung	Tidak ada warna hitam
6.	O/F	Warna biru muncul pada strip oksidase	Tidak ada perubahan warna
7.	Fermentasi Gula-gula Glukosa	Medium akan berubah warna menjadi kuning	Medium akan tetap berwarna merah atau oranye
8.	Laktosa	Medium akan berubah warna menjadi kuning	Medium akan tetap berwarna merah atau oranye
9.	Sukrosa	Medium akan berubah warna menjadi kuning	Medium akan tetap berwarna merah atau oranye
10.	Maltosa	Medium akan berubah warna menjadi kuning	Medium akan tetap berwarna merah atau oranye
11.	Manitol	Medium akan berubah warna menjadi kuning	Medium akan tetap berwarna merah atau oranye



Gambar 2.4 Hasil uji Biokimia bakteri *Escherichia coli* Gram negatif (Rahayu dan Gumilar, 2017).



Gambar 2.5 Hasil uji Biokimia bakteri *Lactobacillus* sp. Gram positif (Raharja dkk., 2023)

2.5 *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)*

KEGG merupakan koleksi database yang mencakup informasi tentang genom, pathway biologi, penyakit, obat, dan bahan kimia. Database ini digunakan untuk keperluan riset dan pengajaran bioinformatika, termasuk analisis data dalam genomika, metagenomika, metabolomika, dan studi omika lainnya. Selain itu, *KEGG* juga dimanfaatkan untuk merancang model dan simulasi dalam sistem biologi, serta untuk mendukung riset translasional dalam pengembangan obat. Penggunaan *KEGG* ini sebagai sumber informasi lebih lanjut mengenai hasil spesifik pada penelitian bakteri nitrifikasi ini.