

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI  
SALURAN PENCERNAAN AYAM *BROILER* SEBAGAI PROBIOTIK

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)

Pada Program Studi Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Disusun Oleh

Vicky Anggara

(061118043)



PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS PAKUAN

BOGOR

2023

**HALAMAN PENGESAHAN**

**Judul : ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT  
(BAL) DARI SALURAN PENCERNAAN AYAM BROILER**

**Nama : Vicky Anggara**

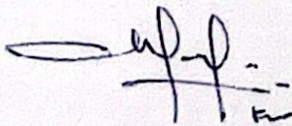
**Npm : 061118043**

Skripsi Ini Telah Diperiksa dan Disetujui pada

Bogor, 17 November 2023

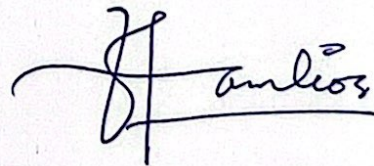
Menyetujui,

Pembimbing Pendamping



Drh. Febriana Wulandari

Pembimbing Utama,



Dra Tri Saptari Haryani, M.Si.  
NIP. 196203181987032001

Mengetujui,

Ketua Program Studi **Statistika**  
FMIPA Universitas Pakuan



Dra Triastinurmiatjningsih, M.Si  
NIK. 10894029207

Dekan FMIPA  
Universitas Pakuan



Asep Denny, S.Kom., M.Sc., Ph.D.  
NIK. 10997004090

**PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA  
PELIMPAHAN KEKAYAAN INTELEKTUAL DI UNIVERSITAS PAKUAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Vicky Anggara

NPM : 061118043

Judul skripsi : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari  
Saluran Pencernaan Ayam *Broiler* Sebagai Probiotik

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul di atas, benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing, dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal, atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain, telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, 17 November 2023

## **LEMBAR PERSEMBAHAN**

*Alhamdulillah...alhamdulillahirobi'alamin*

*Aku ucapkan syukur kepada-Mu ya Allah*

*Engkau telah memberikan segala kesempatan sehingga aku bisa sampai*

*Di penghujung awal perjuanganku*

*Segala Puji bagi Mu ya Allah*

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada orang tua

yang sangat kukasihi dan kusayangi.

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Vicky Anggara dilahirkan di Bogor pada tanggal 02 Oktober 1999 adalah anak keempat dari empat bersaudara, putra dari bapak Usman dan ibu Aminatun. Penulis memulai pendidikan formal di SDN Cicadas 01 dan lulus pada tahun 2011. Penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 01 Gunung Putri dan lulus tahun 2014, kemudian melanjutkan ke SMKN 01 Gunung Putri peminatan Teknik Kimia Industri, dan lulus tahun 2018. Penulis kemudian menempuh pendidikan di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan sejak tahun 2018.

Penulis telah melakukan riset di PT Vaksindo Satwa Nusantara yang berjudul Isolasi Bakteri Kandidat Probiotik untuk Melawan Vibriosis Dari Flora Normal Usus Udang (*Litopenaeus vannamei*), kemudian melaksanakan Praktik Kerja Magang di PT Vaksindo Satwa Nusantara mengenai Isolasi dan Identifikasi *Avibacterium paragallinarum* pada tahun 2022. Sebagai syarat penyelesaian studi untuk meraih gelar Sarjana Sains (S.Si) dari Program Studi Biologi FMIPA Universitas Pakuan, penulis melaksanakan penelitian tugas akhir berjudul "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Saluran Pencernaan Ayam Broiler Sebagai Probiotik" di PT Vaksindo Satwa Nusantara.

## **KATA PENGANTAR**

Penulis mengungkapkan rasa syukur dan terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya yang telah memungkinkan penulis menyelesaikan Skripsi berjudul "Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Saluran Pencernaan Ayam Broiler Sebagai Probiotik". Penulisan Skripsi ini merupakan hasil dari penelitian yang dilakukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Pakuan.

Penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada Ibu Tri Saptari Haryani, M.Si sebagai dosen pembimbing I, dan Ibu Drh. Febriana Wulandari sebagai dosen pembimbing pendamping, atas bimbingan, petunjuk, dan motivasi yang tak terhitung banyaknya selama penulisan skripsi ini. Tidak lupa, penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh rekan-rekan yang telah memberikan banyak bantuan dalam proses penyelesaian skripsi ini. Meskipun tidak dapat disebutkan satu per satu, semoga semua mendapatkan balasan yang baik dari Allah SWT untuk masa depan yang cerah dan sukses bagi kita semua.

Dalam proses penyusunan Skripsi ini, penulis merasa terbantu oleh berbagai pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Penulis ingin mengungkapkan rasa terima kasih kepada semua pihak yang telah turut membantu dalam penyelesaian Skripsi ini. Semoga Skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca secara umum, dan khususnya bagi penulis sendiri.

Bogor, 17 November 2023

Penyusun

## RINGKASAN

**Vicky Anggara, NPM: 061118043, Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Saluran Pencernaan Ayam Broiler. Di bawah bimbingan Dra Tri Saptari Haryani M.Si., dan Drh. Febriana Wulandari**

---

Sejalan dengan pertumbuhan jumlah penduduk, peningkatan pendapatan, kesadaran akan gizi, dan kualitas hidup masyarakat, permintaan terhadap daging di Indonesia meningkat setiap tahunnya. Untuk menghadapi peningkatan kebutuhan ini, para ahli peternakan berupaya meningkatkan produktivitas ternak dengan cara memperbaiki pakan ternak melalui penggunaan dan penambahan mikroorganisme seperti probiotik. Probiotik menjadi salah satu opsi pengganti antibiotik. Definisi probiotik adalah mikroba hidup yang memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan inangnya

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri asam laktat dari usus ayam *broiler* dan mengetahui karakter bakteri probiotik yang diisolasi dari usus ayam *broiler*. Isolasi bakteri asam laktat dilakukan dengan menggunakan medium MRSA yang ditambahkan CaCO<sub>3</sub> 1%. Karakteristik bakteri dilakukan melalui *Screening* uji hambat, pengamatan makroskopis, pengamatan mikroskopis dan uji biokimia. Kemampuan sebagai bakteri probiotik diperoleh dengan melakukan uji ketahanan terhadap Keasaman Lambung, uji ketahanan terhadap garam empedu dan ketahanan temperatur.

Hasil yang diperoleh terdapat 6 isolat bakteri yang berpotensi sebagai sumber bakteri probiotik yang bersifat Gram positif, 4 isolat berbentuk bulat (coccus) tergolong kelompok *Enterococcus sp.* dan 2 isolat berbentuk batang (basil) tergolong kelompok *Lactobacillus sp.*

## SUMMARY

**Vicky Anggara, NPM: 061118043, Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria (LAB) from the Digestive Tract of Broiler Chickens. Under the guidance of Dra. Tri Saptari Haryani, M.Si., and Drh. Febriana Wulandari.**

---

In line with the growth of the population, income improvement, awareness of nutrition, and the quality of life of the society, the demand for meat in Indonesia increases every year. To meet this rising demand, livestock experts are striving to enhance livestock productivity by improving animal feed through the use and addition of microorganisms such as probiotics. Probiotics have become one of the alternatives to antibiotics. Probiotics are defined as living microorganisms that provide beneficial effects to their host's health.

This research aims to obtain lactic acid bacteria isolates from the intestines of broiler chickens and determine the characteristics of the isolated probiotic bacteria from broiler chicken intestines. Lactic acid bacteria isolation is carried out using MRSA medium supplemented with 1% CaCO<sub>3</sub>. The characteristics of the bacteria are determined through inhibition screening tests, macroscopic observations, microscopic observations, and biochemical tests. The ability as probiotic bacteria is obtained by conducting tests for resistance to Gastric Acidity, resistance to bile salts, and temperature resistance.

The results obtained show 6 bacterial isolates that have the potential as sources of probiotic bacteria, which are Gram-positive. Among these isolates, 4 are rounded (coccus) and belong to the *Enterococcus sp.* group, while 2 are rod-shaped (bacillus) and belong to the *Lactobacillus sp.* group.



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>BAB I</b> .....	<b>1</b>
<b>PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan.....	3
1.3 Manfaat.....	3
1.4 Hipotesis .....	3
<b>BAB II</b> .....	<b>4</b>
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Ayam Broiler .....	4
2.2 Bakteri Asam Laktat.....	5
2.3 Potensi BAL sebagai probiotik.....	6
2.4 Bakteriosin.....	8
2.5 Genus Bakteri Asam Laktat.....	9
2.6 Sumber Isolat.....	9
<b>BAB III</b> .....	<b>12</b>
<b>BAHAN DAN METODE PENELITIAN</b> .....	<b>12</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	12
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	12

3.3	Metode Penelitian.....	12
3.4	Parameter Penelitian.....	19
3.5	Analisis Data .....	19
<b>BAB IV</b>	.....	<b>20</b>
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	.....	<b>20</b>
4.1	Hasil .....	20
4.2	Pembahasan.....	23
<b>BAB V</b>	.....	<b>38</b>
<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b>	.....	<b>38</b>
5.1	Kesimpulan .....	38
5.2	Saran.....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN</b>	.....	<b>41</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Ayam Broiler (Umiarti, 2020).....	4
Gambar 2 Usus Halus Ayam Broiler .....	10
Gambar 3 Isolat Bakteri (A-I) Hasil Isolasi Bakteri Probiotik .....	20
Gambar 4 Hasil Pengecatan Gram dengan Perbesaran 100X .....	22
Gambar 5 Hasil Uji Katalase.....	26
Gambar 6 Hasil Pengamatan Uji MR.....	27
Gambar 7 Hasil Pengamatan Uji VP.....	28
Gambar 8 Hasil Pengamatan Uji Motilitas .....	29
Gambar 9 Hasil Uji Ketahanan pH .....	32
Gambar 10 Hasil Uji Ketahanan Garam Empedu .....	33
Gambar 11 Hasil Uji Ketahanan Suhu .....	35

## DAFTAR TABEL

Tabel 1 Tabel <i>Screening</i> Zona Penghambatan.....	21
Tabel 2 Morfologi Koloni Isolat Bakteri Probiotik yang Diperoleh.....	21
Tabel 3 Hasil Pengecetan Gram dan Uji Ketahanan Isolat .....	23
Tabel 4 Hasil Uji MRVP, Motilitas, Katalase dan Uji Fermentasi.....	23
Tabel 5 Uji Fermentasi.....	31

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Sejalan mengikuti pertumbuhan jumlah populasi penduduk, peningkatan upah gaji atau pendapatan, kesadaran akan gizi, dan kelayakan hidup masyarakat, peningkatan kebutuhan akan daging di Indonesia meningkat setiap tahunnya. Untuk menghadapi peningkatan kebutuhan ini, para ahli peternakan berupaya memaksimalkan produksi ternak dengan cara memperbaiki pakan ternak melalui penggunaan dan penambahan mikroorganisme seperti probiotik (Harahap, 2015).

Probiotik merupakan suplemen pakan yang mengandung mikrobia hidup, seperti bakteri, kapang, dan khamir, yang memberikan manfaat bagi inangnya dengan cara menyeimbangkan mikrobia dalam saluran pencernaan (Sumarsih et al., 2012).

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang jika dalam juga yang sedang dikonsumsi maka mampu meningkatkan Kesehatan pada manusia dan ternak dengan adanya proses keseimbangan dari mikroflora yang berada di dalam pencernaan manusia dan hewan. Bakteri asam laktat merupakan bentuk contoh dari kelompok bakteri yang mempunyai peran penting sebagai probiotik (BAL) (Harahap, 2015).

Bakteri asam laktat dikategorikan dalam keluarga bagian mikroorganisme yang bersifat aman karena sifatnya yang tidak toksik. Bakteri tersebut biasa disebut sebagai mikroorganisme *Generally Recognized as Safe* (GRAS) artinya yaitu bakteri yang tidak berpotensi menyebabkan gangguan pada Kesehatan. Tidak hanya itu BAL sendiri juga mempunyai peran sebagai pengawet makanan dengan cara kerja yang memperlambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri lain (Hamidah et al., 2019).

Pemakaian probiotik pada hewan ternak memiliki cakupan yang cukup luas. Pada ternak unggas, probiotik memberikan manfaat berupa peningkatan proses pencernaan dari pakan, pengurangan jumlah mikroba patogen dalam saluran

pencernaan untuk melindungi Kesehatan dari hewan ternak, peningkatan daya kebal atau tahan tubuh, dan bantuan dalam proses pertumbuhan. Berdasarkan hasil dari sejumlah penelitian dikatakan dalam penelitian, probiotik mampu memperbaiki konversi pakan, mengurangi tingkat kematian ternak, serta menghambat penempelan patogen seperti *Salmonella spp.* di usus (Nurbaiti et al, 2016).

Probiotik menjadi salah satu opsi pengganti antibiotik. Pengertian probiotik yaitu mikroba yang hidup berperan positif karena memberikan dampak peningkatan kesehatan bagi inangnya. Ketentuan mikroorganisme probiotik yang ditetapkan oleh FAO (2002) meliputi kemampuan untuk teridentifikasi secara fenotipik dan genotipik, kelangsungan hidup dalam lingkungan asam lambung dan garam empedu pencernaan, memberikan manfaat bagi usus, adhesi pada mukus dan/atau sel epitel usus, serta menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen. Probiotik juga harus aman dan termasuk dalam kelompok mikroorganisme GRAS (*generally recognized as safe*), tidak menimbulkan toksin, tidak resisten terhadap antibiotik, serta bukan bakteri patogen (Chotiah et al., 2018).

Pada umumnya, peternak ayam broiler seringkali memanfaatkan antibiotik sebagai langkah pencegahan terhadap penyakit. Namun demikian, sebaiknya antibiotik hanya diterapkan untuk keperluan pengobatan. Penggunaan yang tidak tepat dari antibiotik berisiko menyebabkan perkembangan bakteri yang kebal terhadap khasiat antibiotik (Bimantara, 2021).

Ditarik dari pembahasan latar belakang di atas dan dukungan data penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Nur Afiat Agus (2016) tentang isolasi dan karakteristik bakteri asam laktat asal saluran pencernaan broiler umur tiga hari menunjukkan bahwa terdapat bakteri asam laktat yang diisolasi dari saluran pencernaan ayam *broiler* yang diperkirakan tergolong genus *Enterococcus sp* menggunakan metode isolasi dan identifikasi berdasarkan buku identifikasi, juga penelitian lainnya yang dilakukan oleh Aquina Alia Retnowati (2007) tentang uji potensi antibakteri senyawa yang diproduksi oleh bakteri yang berada di dalam susu fermentasi dari yakult menghasilkan fakta bahwa bakteri asam laktat sudah

di kunci dari susu fermentasi yakult dan berpotensi menghambat perkembangan dan pertumbuhan dari *Escherichia coli* dengan metode uji daya hambat. Maka peneliti tertarik untuk meneliti tentang isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari saluran pencernaan ayam *broiler*.

## **1.2 Tujuan**

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh isolat bakteri asam laktat dari usus ayam *broiler* dan mengetahui karakter bakteri probiotik yang diisolasi dari usus ayam *broiler*.

## **1.3 Manfaat**

Dari hasil penelitian ini diharapkan diperoleh kandidat isolat bakteri asam laktat dari usus ayam *broiler* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen sebagai upaya alternatif pengganti antibiotik.

## **1.4 Hipotesis**

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu bakteri asam laktat yang diisolasi dan identifikasi dari usus ayam *broiler* dapat digunakan sebagai kandidat bakteri probiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella spp.*

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Ayam Broiler**

Salah satu produk ternak yang berkontribusi signifikan terhadap pasokan protein hewani adalah ayam *broiler*. Jenis ayam unggul yang dikenal sebagai ayam *broiler* juga dikenal sebagai *breed broiler* adalah hibrida antara beberapa *breed* ayam dengan produktivitas tinggi, terutama dalam produksi daging (Ali et al., 2019).

Ayam jantan muda atau betina muda yang berusia di bawah 8 minggu disebut sebagai "ayam pedaging", dipasarkan dengan berat badan tertentu, tumbuh dengan cepat, dan memiliki dada lebar yang khas dengan banyak timbunan daging. Akibatnya, ayam dengan pertumbuhan cepat dikategorikan sebagai ayam pedaging (Abdul Rahman, 2020).



**Gambar 1 Ayam Broiler (Umiarti, 2020)**

Ayam *broiler* merupakan variasi mutakhir dari ayam yang diciptakan melalui perkawinan lintas oleh perusahaan pemuliaan khusus. Jenis ayam ini mencakup kedua jenis kelamin, baik jantan maupun betina. Diperkategori sebagai ayam untuk konsumsi daging berukuran besar, ayam broiler memiliki dimensi tubuh yang lebih kecil dan muda, tetapi mampu tumbuh dengan cepat sehingga siap dipanen hanya dalam 4-5 minggu. Karakteristik pokok ayam broiler terletak



pada tubuh yang besar, padat, dan kompak, serta memiliki produksi daging yang melimpah, menjadikannya sebagai jenis ayam yang menghasilkan banyak daging. Produksi telur oleh ayam broiler tergolong sedikit, dengan gerakan yang lambat dan tenang. Umumnya, proses pertumbuhan hingga mencapai kematangan seksual juga memerlukan waktu yang lebih lama. Beberapa variasi ayam pedaging juga memiliki bulu di kaki dan cenderung menunjukkan naluri mengeram. (Abdul Rahman, 2020)

## 2.2 Bakteri Asam Laktat

Golongan bakteri Gram positif, non-spora dan mampu memfermentasi gula menjadi asam laktat yang dikenal sebagai bakteri asam laktat (BAL). Mayoritas BAL adalah oksigen ( $O_2$ ) tidak sensitif dan dapat berkembang baik dengan dan tanpa oksigen. Bakteri Asam Laktat termasuk dalam kelas anaerob yang aerotoleran. Baik keluarga *Streptococaceae*, yang meliputi *Leuconostoc sp.*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, dan *Pediococcus sp.*, dan keluarga *Lactobacillaceae*, yang termasuk *Lactobacillus sp.* Mikroorganisme ini sering digunakan dalam produksi makanan fermentasi seperti sayuran fermentasi, susu, dan ikan (Retnowati, 2007).

Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah kelas bakteri Gram positif yang memiliki tubuh berbentuk batang atau bulat, tidak menghasilkan spora, dapat berfermentasi secara fakultatif baik dengan atau tanpa oksigen, kekurangan sitokrom, tidak dapat mengurangi nitrat, dapat menggunakan laktat, dan dapat melakukan oksidasi negatif. Selain itu, BAL mampu mengubah glukosa menjadi asam laktat dan memiliki kecenderungan untuk memiliki katalase negatif (tidak menciptakan enzim katalase). Saluran pencernaan ternak sering mengandung bakteri asam laktat ini (Nur Afiat, 2016).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah mikroorganisme anaerob fakultatif yang dapat bertahan hidup di berbagai lingkungan, termasuk saluran pencernaan manusia dan hewan, produk susu, makanan fermentasi, buah-buahan dan sayuran tropis, dan makanan kaleng. Karena BAL mengandung aktivitas antimikroba yang efektif untuk membatasi pertumbuhan mikroba patogen dan

mengurangi kerusakan makanan, telah digunakan sebagai pengawet makanan, agen kultur fermentasi, dan aditif makanan probiotik (Chotiah et al., 2018).

BAL memproduksi asam yang merupakan faktor penting dalam aktivitas antimikroba. Proses produksi asam laktat yang dilakukan BAL dihasilkan pH rendah untuk makanan hasil fermentasi. Dengan rendahnya pH yang dihasilkan membuat pertumbuhan dan perkembangan mikroba patogen terganggu dan menyebabkan pembusukan yang mempengaruhi umur simpan dari produk tersebut yang meningkat semakin lama. Secara keseluruhan mikroba patogen dan pembusuk mampu bertahan hidup pada pH 6,0 sampai 8,0. Berdasarkan asam laktat yang diproduksi BAL mampu menurunkan tingkat pH, membuat makanan menjadi lebih tahan lama dan bersifat aman untuk dikonsumsi (Sasha Sabrina Sabir, 2021).

Kemampuan bakteri asam laktat untuk memecah molekul yang kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana, menghasilkan asam laktat sebagai produk sampingan adalah karakteristik yang paling penting. Sifat ini sangat penting untuk memproduksi produk fermentasi seperti silase. Produk ini termasuk asam laktat, yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan lainnya. Kehadiran bakteri asam laktat dalam bahan akan menghambat pertumbuhan bakteri berbahaya seperti *Salmonella spp.*, Meningkatkan keamanan dan kaliber produk jadi (Nur Afiat, 2016).

### **2.3 Potensi BAL sebagai probiotik**

Untuk menjaga keseimbangan flora yang sehat di saluran pencernaan, probiotik adalah sekelompok bakteri hidup yang membantu inang atau individu yang meminumnya dalam jumlah yang tepat (Bukhori, 2018).

Probiotik membantu tuan rumah mereka melalui berbagai mekanisme aksi, salah satunya adalah fungsi pelindung yang menunjukkan kapasitas probiotik untuk menghambat infeksi gastrointestinal. Probiotik bersaing dengan bakteri lain, terutama patogen, untuk sumber daya dan situs adhesi ketika mereka mengembangkan dan menjajah saluran pencernaan. Selain itu, kultur probiotik menghasilkan berbagai zat antibakteri seperti asam organik, hidrogen peroksida,

dan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan patogen dan melindungi inang dari infeksi (Anastiawan, 2014).

Fungsi utama probiotik adalah untuk memperkuat sistem pertahanan usus, baik secara langsung dengan mempengaruhi penghalang atau secara tidak langsung dengan mengendalikan kekebalan. Oleh karena itu probiotik harus mampu menjajah saluran pencernaan, bahkan untuk waktu yang singkat, terutama di daerah atas seperti usus kecil dan perut, untuk memiliki efek penghalang yang lebih kuat terhadap patogen atau untuk mempertahankan kekebalan. Jika probiotik berhasil dalam upaya ini, mengobati penyakit radang atau penyakit menular kronis, serta mencegah infeksi gastrointestinal, dapat dimungkinkan (Tensiska, 2008).

Bakteri asam laktat yang berdiam di usus dan membentuk hubungan simbiosis dengan mikroflora usus adalah bakteri probiotik, yang biasa disebut sebagai bakteri baik. Pemberian probiotik memiliki efek menguntungkan pada kesehatan karena mereka memiliki kapasitas untuk memerangi bakteri berbahaya di usus. Produk probiotik biasanya mengandung mikroorganisme dari keluarga *Lactobacillus* atau *Bifidobacterium* (Nur Afiat, 2016).

Bakteri probiotik seperti bakteri asam laktat dikenal menghasilkan senyawa yang aman yang dapat bertahan selama pemrosesan dan penyimpanan serta bermusuhan dengan bakteri patogen, dan dapat bertahan hidup di lingkungan asam termasuk lambung, jus pankreas, dan empedu. Selain itu, bakteri ini memiliki kapasitas untuk melindungi epitel inang mereka (Anastiawan, 2014)

Tidak semua bakteri dapat di jadikan sebagai Probiotik harus memiliki aktivitas antibakteri dan antikarsinogenik, dapat menjajah sistem pencernaan, dan meningkatkan penyerapan usus, di antara kriteria lainnya. *Bifidobacterium brevis*, *B. infantis*, *B. longu*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, dan *Streptococcus thermophilus* adalah beberapa contoh probiotik yang sering digunakan. Probiotik ini dapat ditemukan dalam susu dan suplemen makanan yang dijual di toko-toko (Anastiawan, 2014).

## 2.4 Bakteriosin

Bakteriosin merupakan protein yang diproduksi dan diekresikan oleh bakteri, berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain terutama yang memiliki hubungan filogenetik yang erat. Namun, senyawa ini mudah terdegradasi oleh enzim proteolitik dalam sistem pencernaan manusia dan hewan (Kusmiati & Malik, 2010).

Penggunaan bakteriosin sebagai agen biopreservatif untuk mengelola beberapa kontaminasi bakteri memiliki potensi yang sangat besar. Secara komersial, bakteriosin masih sulit didapat dan mahal. Di sisi lain, Indonesia memiliki koleksi Bakteri Asam Laktat (BAL) yang cukup besar, yang dapat digunakan untuk memproduksi bakteriosin. Oleh karena itu, penyelidikan lebih lanjut diperlukan ke dalam generasi bakteriosin dari berbagai sumber BAL yang mungkin dapat memenuhi kebutuhan ini (Romadhon et al., 2012).

Beberapa jenis bakteri terutama bakteri asam laktat (BAL) membuat bakteriosin. Bakteri asam laktat ini menghasilkan bahan kimia ini. Bakteriosin memiliki efek yang menguntungkan pada kesehatan, cepat diserap dan aktif pada dosis rendah. Sangat menarik untuk dicatat bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh mikroorganisme tidak dapat mencegah pertumbuhannya sendiri (Romadhon et al., 2012).

Ketika terkena infeksi tertentu, probiotik memiliki kapasitas untuk membuat bakteriosin, yang selektif hanya untuk beberapa jenis patogen tersebut. Probiotik juga menciptakan sejumlah zat lain, termasuk asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan sejumlah antimikroba tambahan. Selain itu, probiotik menghasilkan sejumlah nutrisi penting untuk sistem kekebalan tubuh dan metabolisme inang mereka, termasuk vitamin B (asam pantotenat), piridoksin, niasin, asam folat, cobalamin, dan biotin. Selain itu, probiotik memasok antioksidan penting seperti vitamin K yang mendukung keseimbangan dan kesehatan tubuh (Anastiawan, 2014).

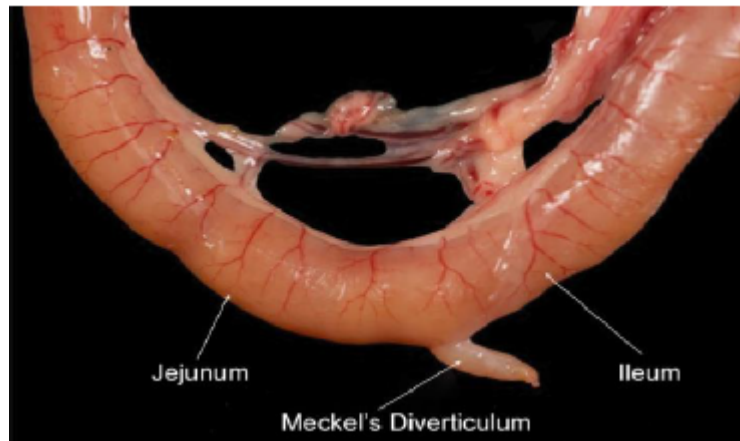
## 2.5 Genus Bakteri Asam Laktat

Bakteri gram positif yang dikenal sebagai bakteri asam laktat (BAL) mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Kelompok BAL terdiri dari sembilan genera bakteri: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, dan *Propionibacterium* (Anastiawan, 2014).

Bakteri Asam Laktat (BAL) yang ada di dalam sistem pencernaan ayam atau bebek memiliki potensi yang dapat diapresiasi dalam proses isolasi dan pemanfaatannya sebagai probiotik. Saat kita memasukkan isolat BAL yang berasal dari saluran pencernaan unggas ke dalam saluran pencernaan ayam yang juga sebagian dari kelompok unggas, tindakan ini berpotensi meningkatkan efisiensi dan kemampuan adaptasi. Harapannya adalah bahwa isolat BAL dapat membantu menjaga keselarasan antara mikroorganisme yang tidak berbahaya dan yang berpotensi berbahaya, dengan demikian memperbaiki kesejahteraan ayam jantan. Jenis-jenis BAL yang sering menjadi titik awal meliputi kelompok *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, dan *Streptococcus*. Ini memiliki relevansi penting untuk memastikan aplikasi probiotik yang tepat dalam mendukung kesehatan pencernaan ayam jantan dan mengoptimalkan manfaatnya sebagai probiotik (Nur Afiat, 2016).

## 2.6 Sumber Isolat

Usus besar merupakan lingkungan yang diperkaya oleh beragam dan kompleksnya mikroorganisme yang aktif dalam berbagai proses metabolisme. Fungsi utamanya adalah untuk menyimpan energi dari karbohidrat yang sebelumnya tidak dapat dicerna di sebagian usus. Proses ini terjadi berkat kemampuan mikroorganisme dalam mengubah dan menyerap karbohidrat yang tidak dapat diserap oleh lapisan dinding usus. Karena itulah, peran mikroorganisme sangat penting dalam pelaksanaan fermentasi karbohidrat tersebut (Anastiawan, 2014).



**Gambar 2 Usus Halus Ayam Broiler**

Mikroorganisme juga terlibat dalam produksi vitamin B dan vitamin K. Selain itu, mereka mengambil bagian dalam metabolisme xenobiotik, asam empedu, dan sterol. Jenis karbohidrat yang dapat difermentasi, seperti polisakarida nonstarch, pati resisten, dan oligosakarida, memiliki dampak signifikan pada beberapa bakteri dalam usus bereaksi terhadap makanan. Ketika sumber daya ini hadir, bakteri dapat berkembang dan membuat sekitar 15 gram biomassa, yang kemudian dikeluarkan melalui tinja dan mengandung sekitar 1 gram nitrogen bakteri. Kejadian serupa juga terjadi di usus ternak, di mana mikroba sangat penting untuk memfasilitasi proses penyerapan nutrisi dari makanan yang diambil oleh ternak tersebut (Anastiawan, 2014).

Usus besar mengandung sejumlah besar bakteri yang melibatkan berbagai jenis mikroorganisme yang memiliki peran kunci dalam proses fermentasi dan dekomposisi sisa-sisa makanan. Di sisi lain, di usus kecil, jumlah mikroflora lebih terbatas dibandingkan dengan usus besar. Keterbatasan mikroflora ini menunjukkan bahwa sistem pertahanan terhadap patogen juga memiliki batasan di usus kecil. Salah satu alasan utama mengapa sebagian besar infeksi virus dan bakteri menyerang usus kecil adalah karena usus ini merupakan awal dari sistem pencernaan dan berinteraksi langsung dengan makanan yang kita konsumsi. Oleh karena itu, jika patogen memasuki tubuh melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi, usus kecil menjadi tempat pertama yang terpapar. Sistem

kekebalan tubuh harus aktif berperan di usus kecil untuk mengatasi patogen ini sebelum mereka dapat menyebar ke organ tubuh lainnya. Walaupun jumlah mikroflora di usus kecil lebih sedikit, perannya dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus dan melindungi tubuh dari potensi bahaya yang mungkin disebabkan oleh patogen tetap sangat penting (Anastiawan, 2014).

## **BAB III**

### **BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan September sampai Mei 2023 di Laboratorium PT Vaksindo Satwa Nusantara Plant 1.

#### **2.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Botol Schott, pisau bedah, babi tetes, tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, mikroskop, barang-barang kaca, penggaris, rak tabung, aluminium foil, inkubator, autoklaf, BSC (*Bio safety Cabinet*), gelas ukur, lemari es, batang pengaduk, lampu bunsen, timbangan digital, oven, mikropipet, Pipettor, gunting bedah, dan pipet adalah instrumen yang digunakan dalam penelitian ini.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah usus ayam broiler yang masih segar dari 3 ayam yang berbeda, akuades, alkohol 70%, PBS, MRSA (*De Mann Ragosa Sharpe Agar*), MRSB, NA (*Nutrient Agar*), NB, Media agar fermentasi, Media MR-VP Cair, *methyl-red*, KOH & alfanaftol, Gula (glukosa, laktosa, sukrosa, maltosa), Kristal violet, larutan lugol, safranin, HCl 0,1 N, NaCl (Natrium Clorida), CaCO<sub>3</sub>, reagen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, minyak imersi, Garam Empedu, tisu, kertas label, kertas cakram, kultur murni bakteri *Salmonella spp.*

#### **3.3 Metode Penelitian**

##### **3.3.1 Persiapan Alat dan Bahan**

###### **3.3.1.1 Persiapan Bahan**

1. Pembuatan Media MRSB (De Mann Ragosa Sharpe Broth)

Hingga 5,2 g media MRSB dilarutkan dalam 100 mL air berair. Campuran tersebut kemudian dipanaskan sambil



diaduk sampai homogen. Setelah itu, botol ditutup dengan hati-hati dengan aluminium foil dan disterilkan selama 15 menit dalam autoklaf yang diatur ke 121°C. Setelah itu, media dibagi menjadi tabung reaksi dan diinkubasi selama semalam untuk mencari validasi kontaminasi.

2. Pembuatan Media MRSA (De Mann Ragosa Sharpe Agar)

100 mL air akuades digunakan untuk melarutkan 6,2 g media MRSA sama sekali. Setelah itu, campuran dimasak sambil diaduk sampai homogen. Botol kemudian ditutup dengan hati-hati dengan aluminium foil sebelum disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C dalam autoklaf. Media dimasukkan ke piring petri setelah sterilisasi, di mana ia diinkubasi semalaman untuk mencari kontaminasi.

3. Pembuatan Media NB (Nutrient Broth)

Hingga 1,3 g media NB dilarutkan dalam 100 mL air berair. Campuran tersebut kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Setelah itu, botol ditutup dengan hati-hati dengan aluminium foil dan disterilkan selama 15 menit dalam autoklaf yang diatur ke 121°C. Setelah itu, media dibagi menjadi tabung reaksi dan diinkubasi semalaman untuk mencari kontaminasi.

4. Pembuatan Media NA (Nutrient Agar)

100 mL air akuades digunakan untuk melarutkan total 2,8 g media NA. Setelah itu, campuran dimasak sambil diaduk sampai homogen. Botol kemudian ditutup dengan hati-hati dengan aluminium foil sebelum disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C dalam autoklaf. Media dimasukkan ke piring petri setelah sterilisasi, di mana ia diinkubasi semalaman untuk mencari kontaminasi.

## 5. Pembuatan Media Uji Fermentasi

Sebanyak 2 g Protoase Pepton, 8 g medium HIA 2 g NaCl dan 4 mL Phenol Red 0,2 % dilarutkan dengan 200 mL air akuades. Selanjutnya tutup mulut botol ditutup dengan aluminium foil kemudian disterilisasikan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian didistribusi media ke cawan petri dan ditambahkan 1 mL gula *dextrose* 20% yang sudah steril.

### 3.3.2 Prosedur Penelitian

#### 3.3.2.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat

Usus dikeluarkan dari *freezer* dan dibiarkan sampai lunak, kemudian bagian dalam (isi) usus dikerok dengan menggunakan *scalpel*. Hasil kerokan tersebut kemudian dihaluskan dan ditimbang sebanyak 1 gr dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan diencerkan dengan larutan PBS dengan pengenceran  $10^1$  sampai  $10^3$ . Proses pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 ml suspensi dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml PBS, dan hal yang sama dilakukan hingga seri pengenceran sampai  $10^3$ . Kemudian ambil sebanyak 1 ml sampel dari masing-masing tiga seri pengenceran yaitu  $10^1$ ,  $10^2$  dan  $10^3$  diinokulasikan pada medium MRSA +  $\text{CaCO}_3$  1% dalam cawan petri menggunakan metode *Pour Plate*, kemudian diinkubasi selama 2 x 24 jam. Koloni yang terdapat zona bening disekitar koloni menunjukkan bahwa koloni tersebut adalah dugaan bakteri asam laktat.

#### 3.3.2.2 Tahap Pemurnian Kultur Bakteri

Pemurnian dimulai dengan memilih koloni-koloni yang disekitarnya terdapat zona bening, Koloni tunggal yang menghasilkan zona bening dan tumbuh di media MRSA +  $\text{CaCO}_3$  1% diambil dengan jarum ose steril dengan membelah agar karena koloni berada di antara permukaan agar kemudian koloni

di inokulasikan pada media MRS Broth. Kultur kemudian di inkubasi 24 jam dalam keadaan anaerob pada suhu 37°C. Kultur yang tumbuh kemudian di simpan untuk penyimpanan dan pengecekan lebih lanjut.

### **3.3.2.3 Screening untuk Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri Patogen**

Selanjutnya penting untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen untuk menilai potensi dan kemampuan mereka sebagai bakteri probiotik yang menghasilkan bakteriosin. Penggunaan disk kertas digunakan untuk memilih kandidat isolat yang bagus.

*Salmonella spp.* dan kandidat isolat bakteri probiotik kemudian di kultur kembali pada medium kaldu dan di inkubasi selama dua hari. Isolat *Salmonella spp* kemudian disebarluaskan pada media dengan metode *Spread Plate*. Kemudian siapkan disk kertas steril dan rendam selama 10 menit di setiap suspensi kandidat isolat probiotik. Disk kertas kemudian ditempatkan di atas media NA dan di inkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C dengan kondisi anaerob CO<sub>2</sub> 5%. Kemudian diameter zona bersih yang dihasilkan di ukur menggunakan penggaris. *Salmonella spp.* digunakan sebagai bakteri indikator dalam proses penampisan ini. Tujuan skrining ini adalah untuk mengidentifikasi dan memvalidasi isolat probiotik yang dapat digunakan untuk membuat bakteriosin yang dapat menghambat bakteri patogen.

### **3.3.2.4 Pengamatan Makroskopis**

Setelah pemurnian, morfologi masing-masing koloni diperiksa. Aspek visual BAL diamati meliputi permukaan (elevasi), bentuk koloni, bentuk tepi, dan warna koloni.

### **3.3.2.5 Pengamatan Mikroskopis**

Pada kultur bakteri yang telah di inkubasi 24 jam, pewarnaan Gram dilakukan untuk mengamati fitur mikroskopis. Objek kaca yang sebelumnya dibersihkan kemudian dilapisi secara merata

dengan sampel bakteri. Sampel kemudian distabilkan dengan dikeringkan di atas api Bunsen. Setelah itu, pewarna kristal violet ditambahkan dan didiamkan selama satu menit untuk memungkinkan pewarna menembus bakteri. Sediaan kemudian dibilas dengan air mengalir dan diolah dengan larutan yodium. Lalu di bilas di bawah air mengalir dan kemudian dicuci dengan alkohol mengalir setelah satu menit. Pewarna safranin kemudian ditambahkan, diamkan sebentar dan kemudian preparat tersebut dibilas lagi dengan air mengalir.

Sediaan dapat diperiksa di bawah mikroskop setelah pengeringan. Bakteri gram positif diidentifikasi dengan tanda berwarna ungu, yang menunjukkan kapasitas mereka untuk mengikat pewarna kristal violet.

#### **3.3.2.6 Uji Biokimia**

##### **1. Uji Katalase**

Setiap isolat bakteri sebanyak 1 ose (round ose) dari kultur stok, dan kemudian direndam ke dalam reagen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang ada di kaca preparat. Hasil positif akan menunjukkan bahwa gelembung gas telah terbentuk pada ose, sedangkan hasil negatif akan menunjukkan bahwa tidak ada gelembung gas yang terbentuk.

##### **2. Uji MR (*Methyl Red*) dan VP (*Voges Proskauer*)**

Satu isolat bakteri ose (round ose) diambil dari stok kultur dan disuntikkan ke dalam media MR-VP cair dalam tabung reaksi. Pada suhu 37°C, inkubasi kemudian dilakukan 48 jam. Preparat isolat bakteri kemudian diteteskan sebanyak 5 tetes metil merah hingga terbentuk warna merah muda hingga merah yang menunjukkan bahwa mikroba menghasilkan asam merupakan indikasi isolat Positif pada uji MR.

Juga dari stok kultur, satu ose isolat bakteri (*spherical ose*) diinokulasi pada media MR-VP cair dalam tabung

reaksi. Setelah itu, inkubasi dilakukan selama total 3x24 jam pada suhu 37°C. 0,2 mL KOH 40% dan 0,6 mL alfa-naftol kemudian ditambahkan ke medium, yang kemudian diaduk selama 30 detik. Perubahan warna medium menjadi ungu muda menunjukkan hasil yang Positif pada uji VP.

### 3. Uji Motilitas

Dari stok kultur, 1 isolat ose kandidat probiotik (*straight ose*) diinokulasi dengan cara menusukkan isolat ke media NA (Nutrient Agar) tegak dan di inkubasi dilakukan 48 jam pada suhu 37°C dalam keadaan anaerobik. Adanya perambatan di sekitar tanda tusukan jarum pada medium menunjukkan adanya hasil positif (motil), sedangkan tidak adanya rambatan di sekitar bekas tusukan jarum pada medium menunjukkan adanya hasil negatif (non-motil).

### 4. Uji Fermentasi

Berbagai gula-gula yang digunakan pada uji fermentasi yaitu glukosa, laktosa, sukrosa, dan maltosa. Sebanyak 1 ose kandidat probiotik di *Streak* ke setiap media dan dihomogenisasi dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Untuk menentukan jenis fermentasi yang terjadi, tes fermentasi dilakukan dengan penekanan pada produksi gas pada isolat.

Homofermentasi dan heterofermentasi adalah dua tipe fermentasi yang digunakan oleh bakteri asam laktat. Bakteri akan menciptakan asam laktat sebagai produk sampingan utama fermentasi dalam homofermentasi. Sementara pada jenis heterofermentasi, bakteri juga menciptakan etanol dan sejumlah asam lain, termasuk asam asetat, dan gas CO<sub>2</sub> selain asam laktat. Oleh karena itu, bakteri asam laktat dikategorikan sebagai heterofermentasi jika mereka menciptakan gas yang terkandung dalam tabung Durham

selama uji fermentasi. Namun, jika isolat bakteri tidak menghasilkan gas, maka dianggap sebagai homofermentasi (Nur Afiat, 2016).

### 3.3.2.7 Uji Ketahanan Probiotik

#### 1. Uji Ketahanan Terhadap Keasaman Lambung (pH)

Media MRSB yang telah ditambahkan HCl 0,1 N hingga mencapai pH 3, 5, dan 7, yang setara dengan pH lambung, digunakan untuk melakukan uji ketahanan asam. Setiap isolat bakteri diinokulasi ke media MRSB-HCl dalam jumlah hingga 1 ose (round ose) dari stok kultur. Setelah itu, media diinkubasi dua hari pada suhu 37°C. Bakteri akan menghasilkan hasil positif jika berhasil tumbuh pada medium MRSB-HCl, sedangkan hasil negatif menunjukkan bahwa tidak ada bakteri yang tumbuh pada medium MRSB-HCl.

#### 2. Uji Ketahanan Terhadap Garam Empedu

Garam empedu sintetis (*ox bile*) ditambahkan ke media MRSB dengan konsentrasi 1% dan 5%. Sebanyak 1 ose isolat bakteri dari kultur stock ditambahkan ke dalam media garam empedu MRSB. Setelah itu, proses inkubasi selama 2-3 hari pada suhu 37°C, lalu di *Streak* pada media MRS Agar. Perbandingan jumlah koloni bakteri yang tumbuh sebelum dan sesudah inkubasi diamati.

#### 3. Uji Ketahanan Temperatur (suhu)

Setiap isolat bakteri disuntikkan ke dalam media MRSB dalam tabung reaksi sebanyak 1 ose (*round ose*) stok kultur. Setelah itu, tabung reaksi diinkubasi selama dua hari berturut-turut pada suhu 22°C, 30°C, dan 37°C. Jika ada pertumbuhan bakteri pada medium, hasil positif akan diamati; Jika tidak ada, menunjukkan hasil negatif.

### **3.4 Parameter Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini adalah (i) jumlah isolat; (ii) morfologi koloni dan sel, termasuk pengamatan makroskopik dan mikroskopis, uji biokimia, dan uji resistensi.

### **3.5 Analisis Data**

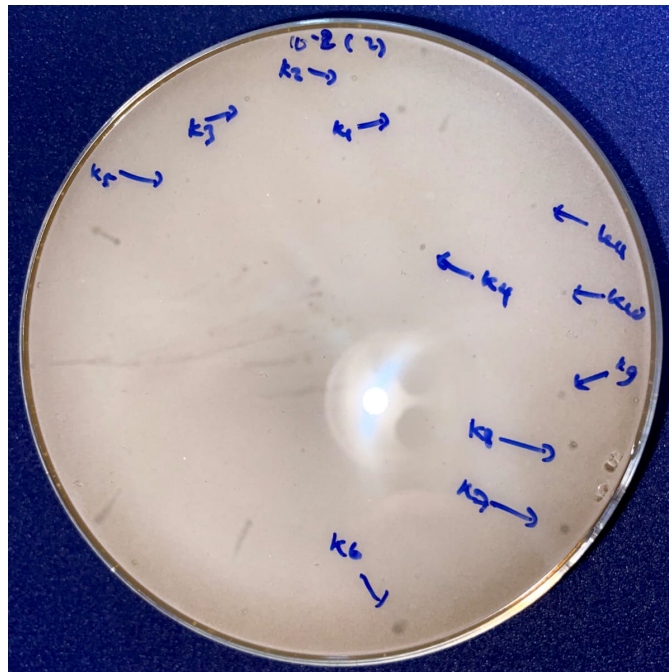
Metodologi deskriptif digunakan dalam penyelidikan ini untuk mengumpulkan informasi dan hasil isolasi bakteri dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat. Pengamatan ini direkam baik secara langsung maupun tidak langsung untuk menciptakan bukti yang akan dibahas sebagai hasil penelitian menggunakan buku *Bergey's Manual Of Determinate Bacteriology*.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

#### 4.1.1 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat

Untuk mengisolasi bakteri probiotik asam laktat, digunakan medium MRSA + CaCO<sub>3</sub> 1% dan diinkubasi selama 2x24 jam. Setelah inkubasi, beberapa koloni akan tampak dengan zona bening di sekitarnya. Koloni bakteri yang memiliki zona bening diambil dari pengenceran 10<sup>-2</sup>, karena pada pengenceran ini koloni-koloni telah terpisah dengan jelas seperti yang terlihat dalam gambar di bawah ini.



**Gambar 3 Isolat Bakteri (A-I) Hasil Isolasi Bakteri Probiotik**

Hasil isolasi menunjukkan adanya 9 koloni dengan zona bening pada medium MRSA + CaCO<sub>3</sub> 1%. Selanjutnya, dilakukan pemurnian pada kesembilan koloni tersebut dan dilakukan uji hambat terhadap bakteri patogen. Hasil dari uji hambat untuk kesembilan koloni tersebut tercatat dalam Tabel 1.



#### 4.1.2 Identifikasi Bakteri Asam Laktat

**Tabel 1** Tabel *Screening* Zona Penghambatan

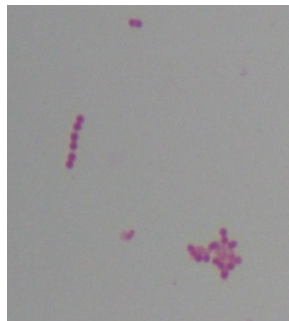
<b>Nama Isolat</b>	<b>Diameter zona hambat (mm)</b>
A	Tidak ada zona penghambatan
B	1 mm
C	2 mm
D	Tidak ada zona penghambatan
E	Tidak ada zona penghambatan
F	1 mm
G	2 mm
H	1 mm
I	1 mm

Enam kultur dengan zona penghambatan diperoleh, dan penyelidikan morfologi koloni dilakukan. Tabel 2 di bawah ini menunjukkan karakteristik morfologi dari enam koloni yang berhasil diamati.

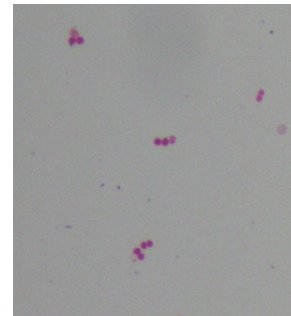
**Tabel 2** Morfologi Koloni Isolat Bakteri Probiotik yang Diperoleh

<b>Isolat</b>	<b>Bentuk Koloni</b>				
	<b>Bentuk</b>	<b>Tepi</b>	<b>Bentuk permukaan</b>	<b>Warna</b>	<b>Bau</b>
B	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih	Berbau
C	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih	Berbau
F	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih	Berbau
G	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih	Berbau
H	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih	Berbau
I	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih	Berbau

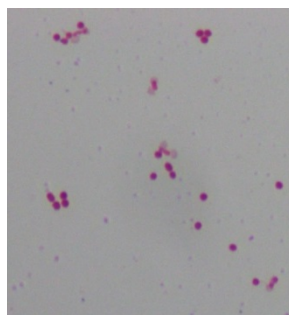
Pengamatan morfologi bakteri asam laktat berikutnya dilakukan dengan pengecetan Gram setelah morfologi koloni diamati. Gambar 3 di bawah ini menampilkan hasil pengecetan Gram.



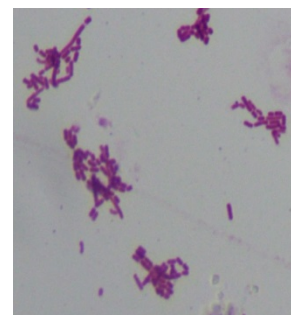
Isolat B  
(*Coccus*, Positif)



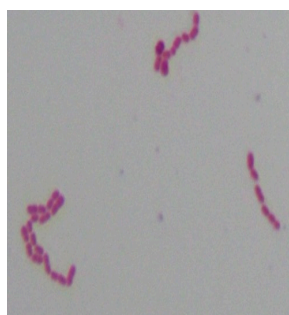
Isolat C  
(*Coccus*, Positif)



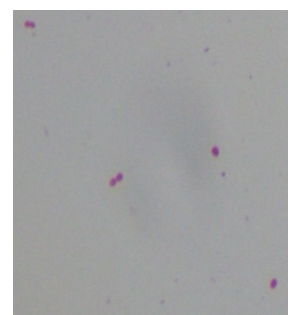
Isolat F  
(*Coccus*, Positif)



Isolat G  
(*Basil*, Positif)



Isolat H  
(*Basil*, Positif)



Isolat I  
(*Coccus*, Positif)

#### **Gambar 4 Hasil Pengecatan Gram dengan Perbesaran 100X**

Setelah pemeriksaan morfologi dengan mikroskop yang ditunjukkan pada gambar 3 di atas, semua isolat menjalani pemeriksaan karakteristik untuk

menentukan spesies bakteri kandidat probiotik. Pada tabel di bawah ini, Tabel 3 dan 4, dapat mengamati sifat isolat.

**Tabel 3 Hasil Pengecetan Gram dan Uji Ketahanan Isolat**

Nama Isolat	Karakteristik									
	Pengecetan Gram		Ketahanan Asam (pH)			Ketahanan Garam Empedu		Ketahanan Suhu (°C)		
	Bentuk	Gram	3	5	7	1%	5%	22	30	37
B	Coccus	Positif	+	++	++	-	-	++	++	+++
C	Coccus	Positif	-	++	++	-	-	++	++	+++
F	Coccus	Positif	-	++	++	-	-	++	++	+++
G	Basil	Positif	-	+++	+++	-	-	+++	++	+++
H	Basil	Positif	+	+++	+++	-	-	+++	++	+++
I	Coccus	Positif	+	++	++	-	-	++	++	+++

Keterangan : *Coccus* = bulat, *Basil* = batang; (+++) = banyak endapan, (++) = cukup banyak endapan, (+) = sedikit endapan, (-) = tidak ada pertumbuhan bakteri.

**Tabel 4 Hasil Uji MRVP, Motilitas, Katalase dan Uji Fermentasi**

Isolat	Uji MR	Uji VP	Motilitas	Katalase	Uji Fermentasi			
					Maltosa	Glukosa	Sukrosa	Laktosa
B	+	-	-	-	+	+	+	+
C	+	-	-	-	+	+	+	+
F	+	-	-	-	+	+	+	+
G	+	-	-	-	-	+	+	-
H	+	-	-	-	-	+	+	-
I	+	-	-	-	+	+	+	+

Keterangan : (+) = Bereaksi, (-) = tidak bereaksi.

## 4.2 Pembahasan

### 1. Morfologi dan Karakteristik Isolat BAL (Bakteri Asam Laktat)

Berdasarkan hasil isolasi dari sembilan koloni (A, B, C, D, E, F, G, H, dan I) yang menunjukkan zona jelas pada media MRSA yang ditambahkan 1% CaCO<sub>3</sub>, enam koloni (B, C, F, G, H, dan I) diisolasi, dan koloni ini menunjukkan zona penghambatan dalam uji skrining zona penghambatan.

Semua isolat diambil dari pengenceran  $10^{-2}$  karena pada pengenceran ini koloni sudah terpisah.

Karakteristik fisiologis bakteri asam laktat berbeda secara signifikan satu sama lain. Media MRSA (Man Rogosa Sharpe Agar) disarankan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat karena selektif untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Untuk memilih bakteri asam laktat yang dapat tumbuh dalam medium, ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  hingga 1%. Anda akan melihat zona bersih di sekitar koloni bakteri yang berkembang setelah inkubasi selama 24 hingga 48 jam. Zona bening ini berkembang karena bakteri asam laktat membuat asam laktat selama fase pertumbuhan dan inkubasi, yang bergabung dengan  $\text{CaCO}_3$  yang tidak larut dalam medium untuk menghasilkan kalsium laktat yang larut. Ini menunjukkan bahwa ada wilayah atau zona tertentu di sekitar koloni bakteri yang berkembang (Anastiawan, 2014).

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni (Tabel 2), ditentukan bahwa semua isolat (B, C, F, G, H, dan I) memiliki lingkaran kecil dengan tepi datar dan permukaan cembung, berwarna putih, dan berbau.

Temuan ini menunjukkan adanya Bakteri Asam Laktat (BAL) pada saluran cerna ayam broiler. Menurut Nur Afiat Agus (2016), bakteri asam laktat (BAL) dapat diekstraksi dan digunakan sebagai probiotik. BAL ditemukan di saluran pencernaan ayam.

Pewarnaan gram digunakan untuk melakukan pengamatan setelah mengumpulkan data morfologi dari enam isolat (Gambar 3). Gambar 3 menunjukkan bahwa isolat (G dan H) memiliki sifat Gram positif berbentuk basil berdasarkan hasil pewarnaan Gram (Tabel 3), sedangkan isolat (B, C, F, dan I) memiliki fitur Gram positif berbentuk kokus. Perkembangan rona ungu pada sel bakteri selama proses ini mengidentifikasi bakteri sebagai Gram positif. Di sisi lain, jika sel bakteri berwarna merah, itu berarti bakteri tersebut Gram negatif. Ketika bakteri Gram positif ditetaskan dengan alkohol 95%, dinding sel mengalami dehidrasi, yang mengurangi ukuran pori-pori sel dan meningkatkan permeabilitasnya, memungkinkan bakteri mempertahankan rona ungu mereka berkurang. Sel bakteri tetap ungu

sebagai akibat dari pewarna kristal violet yang tidak dapat keluar dari sel. Safranin merah, pewarna tambahan yang tidak dapat mencapai dinding sel, tidak berdampak. Ketika bakteri Gram negatif dibilas dengan alkohol 95%, lipid dari dinding sel dilepaskan dan pori-pori sel terbuka, menyebabkan pewarna kristal violet bocor keluar dari sel dan mengubah sel tidak berwarna. Akibatnya, bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan rona kristal violet. Jika sel bakteri awalnya tidak berwarna dan kemudian ditetaskan dengan safranin, sel akan menyerap pewarna dan berubah menjadi merah ketika dilihat di bawah mikroskop (Campbell et al., 2008).

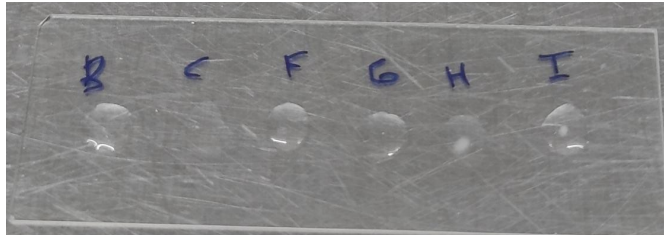
Reaksi pewarnaan dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Yodium dan pewarna ungu digunakan untuk menodai bakteri, yang kemudian dibilas dengan alkohol dan diwarnai sekali lagi dengan pewarna merah. Mayoritas dinding sel bakteri Gram-positif mengandung peptidoglikan, dan bakteri ini akan terus menunjukkan warna ungu setelah pewarnaan. Gel periplasma, yang terletak di antara membran plasma dan membran luar, memiliki lebih sedikit peptidoglikan pada bakteri Gram negatif. Oleh karena itu, dinding sel bakteri gram negatif akan membocorkan pewarna ungu-yodium selama prosedur pewarnaan, menyebabkan bakteri menjadi merah ketika diwarnai dengan pewarna merah (Campbell et al., 2008).

## **2. Hasil Pengujian Uji Biokimia Isolat BAL**

### **a. Uji Katalase**

Isolat bakteri kemudian di uji menggunakan reagen hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), Uji katalase digunakan untuk mengetahui apakah enzim katalase ada dalam bakteri kandidat. Bakteri penghasil katalase mampu melarutkan dan mengurai  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ .

Berdasarkan hasil tes (Gambar 4), keenam isolat diuji negatif untuk tes katalase. Ketika isolat ditambahkan ke larutan  $H_2O_2$ , tidak ada gelembung udara ( $O_2$ ) yang terbentuk.



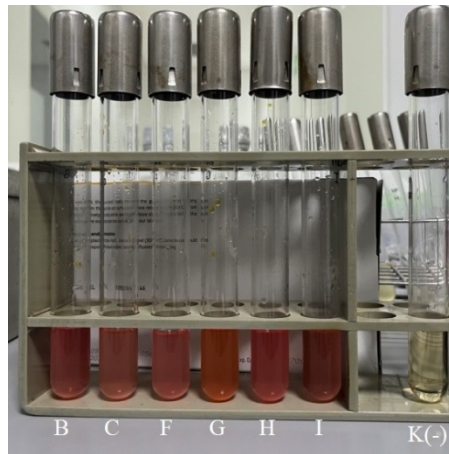
Keterangan: (-) = tidak ada gelembung yang terbentuk

### Gambar 5 Hasil Uji Katalase

Hasil positif dari tes katalase ditunjukkan oleh munculnya gelembung, yang menunjukkan bahwa gas oksigen ( $O_2$ ) sedang dibuat sebagai hasil dari enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri yang memecah  $H_2O_2$ . Karena bakteri asam laktat termasuk ke dalam bakteri katalase negatif, tidak ada gelembung udara atau gas yang dihasilkan selama tes katalase. Mekanisme enzim katalase melibatkan pelarutan  $H_2O_2$ , yang dibuat ketika bakteri melakukan respirasi. Untuk memerangi  $H_2O_2$  beracun yang mereka buat sendiri, bakteri yang dapat mendegradasi  $H_2O_2$  menggunakan enzim katalase mengembangkan mekanisme pertahanan. Kehadiran gelembung oksigen yang dihasilkan adalah karakteristik yang menunjukkan aktivitas katalase. Bakteri positif katalase akan mendegradasi  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ .  $H_2O_2$  yang disediakan tidak dipecah oleh bakteri katalase negatif, karenanya tidak menghasilkan oksigen. Bakteri negatif katalase, bagaimanapun, tidak menghasilkan gelembung. Romadhon et al. (2012) berhipotesis bahwa hasil biokimia menggunakan enzim katalase terhadap bakteri asam laktat menghasilkan hasil negatif.

b. Uji MR (*Methyl Red*) dan VP (*Voges Proskauer*)

Tes MR (*Methyl Red*) dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri memfermentasi asam campuran. Menurut temuan penelitian, semua isolat (B, C, F, G, H, dan I) lulus uji MR (Metil Merah), yang ditunjukkan dengan perubahan warna pada semua isolat yang terjadi ketika kompleks merah terbentuk di media kuning setelah ditetesi dengan reagen. Perubahan warna ini ditunjukkan pada Gambar 5 di bawah ini.



**Gambar 6 Hasil Pengamatan Uji MR**

Suci Nurul et al. (2016) melaporkan bahwa isolat bakteri asam laktat (BAL) dari berbagai sumber menunjukkan temuan yang menguntungkan pada uji MR (*Methyl Red*) dengan pergeseran warna sedang dari kuning ke merah. Temuan ini menunjukkan bahwa isolat mampu memfermentasi karbohidrat dan membuat campuran asam sebagai produk sampingan dari proses fermentasi.

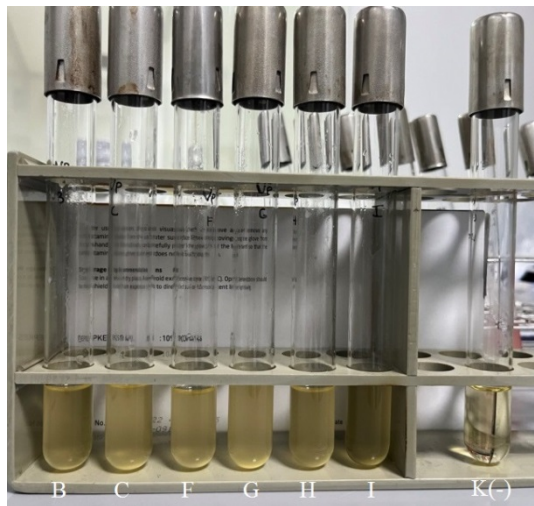
Bakteri Asam laktat akan membuat asam laktat, asam asetat, asam suksinat, dan asam format ketika memfermentasi glukosa dalam media MR-VP. PH medium bisa turun menjadi sekitar 5 atau lebih rendah sebagai akibat dari penumpukan asam ini. Warna medium akan bergeser menjadi merah jika indikator merah (*Methyl Red*) diterapkan. Perubahan rona ini menunjukkan bahwa bakteri dapat membuat kombinasi asam. Ketika cincin merah maupun medium berubah menjadi merah selama tes MR, menunjukkan bahwa ada sedikit atau tidak ada asam organik yang tersisa dalam medium, tes dianggap negatif.

Bakteri akan membuat asam laktat, asam asetat, asam suksinat, dan asam format ketika memfermentasi glukosa dalam media MR-VP (*Voges Preskauser*). PH medium bisa turun menjadi sekitar 5 atau lebih rendah sebagai akibat dari penumpukan asam ini. Warna medium akan bergeser menjadi merah jika indikator merah (*Methyl Red*) diterapkan. Perubahan rona ini menunjukkan bahwa bakteri dapat membuat kombinasi asam.

Ketika cincin merah maupun medium berubah menjadi merah selama tes MR, menunjukkan bahwa ada sedikit atau tidak ada asam organik yang tersisa dalam medium, tes dianggap negatif.

Teknik ini juga digunakan untuk menemukan mikroba yang dapat mengubah karbohidrat menjadi 2,3-butadiol, yang akan menumpuk di media tanam. Hal ini dimungkinkan untuk mengidentifikasi keberadaan asetoin (asetilmetilkarbonil) sebagai komponen awal dalam produksi 2,3-butanadiol dengan menambahkan campuran 40% KOH dan 5%  $\alpha$ -naftol dalam etanol. Ketika KOH ditambahkan, warna kaldu akan bergeser menjadi merah muda, menandakan adanya asetoin. Ketika  $\alpha$ -naftol ditambahkan, perubahan warna ini menjadi lebih terlihat. Karena 2,3-butanadiol diubah kembali menjadi asetoin melalui oksidasi, perubahan warna media dalam kultur lebih terlihat di daerah yang terkena udara langsung sehingga dapat mengklarifikasi hasil reaksi.

Hasil uji VP untuk masing-masing dari delapan isolat bakteri probiotik dari BAL ditunjukkan pada gambar di bawah ini.



**Gambar 7 Hasil Pengamatan Uji VP**

Sintesis asetoin adalah senyawa yang diidentifikasi dalam uji VP, menjadikannya pendekatan tidak langsung untuk memeriksa 2,3-butanadiol. Namun karena asetoin adalah prekursor 2,3-butadiol dan



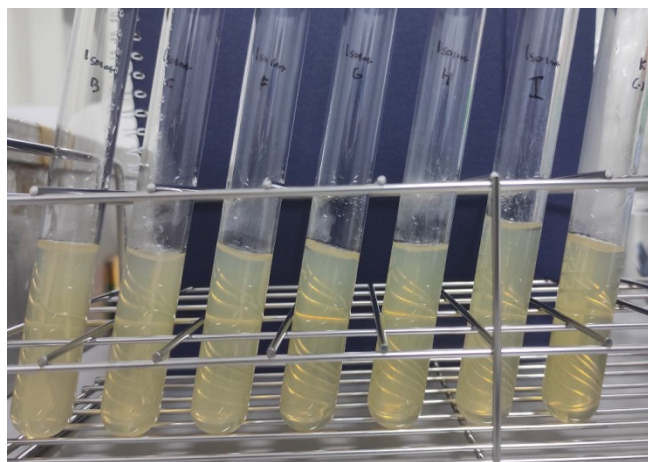
biasanya terbentuk bersamaan dengannya, tes VP dapat digunakan sebagai alat untuk mendeteksi keberadaannya (Anastiawan, 2014).

Menurut temuan, semua isolat (B, C, F, G, H, dan I) menunjukkan hasil negatif dalam uji VP (*Voges Preskauer*). Setelah larutan KOH 40% dan a-naftol 5% ditambahkan, tercatat bahwa warna medium tetap tidak berubah. Temuan yang tidak menguntungkan ini menunjukkan bahwa baik 2,3-butanadiol maupun asetoin tidak diproduksi oleh enam isolat. Jika demikian, tidak ada cukup media untuk berubah warna setelah indikator ditambahkan. Studi Suci Nurul *et al.* (2016) menunjukkan bahwa isolat BAL dari berbagai asal juga memberikan temuan negatif dalam pengujian VP.

c. Uji Motilitas

Kapasitas untuk gerakan independen dalam mikroorganisme dikenal sebagai motilitas. Adanya pertumbuhan yang menyebar di sekitar tusukan kultur atau munculnya penyebaran seperti akar putih di sekitar inokulasi dapat digunakan untuk mendeteksi karakteristik motilitas bakteri. Ini menunjukkan adanya flagela, fitur yang memungkinkan bakteri bergerak (Nur Afiat, 2016).

Menurut hasil pengujian pada enam isolat, tidak ada gerakan atau proliferasi di dekat tusukan, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 7 di bawah ini.



**Gambar 8 Hasil Pengamatan Uji Motilitas**

Dalam pengujian ini, keberadaan propagasi pada tanda tusukan media dipertimbangkan untuk mengukur mobilitas bakteri. Mayoritas sel bakteri memiliki bentuk spiral, dan sedangkan sebagian besar bakteri berbentuk batang tidak bergerak (non-motil), bakteri melingkar dapat bergerak (bergerak). Bakteri asam laktat adalah kategori bakteri Gram-positif, bulat tanpa spora, beberapa di antaranya tidak bergerak (non-motil) dan yang lainnya bergerak (motil), menurut (Anastiawan, 2014)

d. Uji Fermentasi

Salah satu proses metabolisme yang dilakukan mikroorganisme adalah fermentasi. Mikroorganisme menghasilkan berbagai bahan kimia akhir selama fermentasi. Misalnya, fermentasi karbohidrat dapat menghasilkan produksi asam yang berbeda, termasuk asam laktat dan propionat, serta ester, keton, dan gas.

Pengujian untuk fermentasi dilakukan untuk menentukan spesies dari genus bakteri tertentu. Gula dipecah menjadi asam organik untuk melihat apakah bakteri dapat memfermentasinya. Mayoritas mikroba memperoleh energi mereka dari substrat karbohidrat, yang kemudian difermentasi menjadi asam organik (seperti asam laktat, asam format, dan asam asetat), dengan atau tanpa generasi gas. Tergantung pada enzim yang dimiliki masing-masing organisme, organisme yang berbeda akan menggunakan karbohidrat atau gula yang berbeda. Dalam uji fermentasi, gula ditanam untuk mengamati perkembangan asam, yang ditunjukkan dengan perubahan warna indikator dari merah menjadi kuning sebelum tanam (untuk indikasi merah fenol atau biru menjadi kuning untuk indikator biru brompimo, misalnya). Selain itu, uji fermentasi juga digunakan untuk mendeteksi pembentukan gas dengan melihat adanya udara dalam tabung peragian/fermentasi (tabung Durham).

Reaksi kesetimbangan reduksi-oksidasi yang dikenal sebagai fermentasi terjadi ketika beberapa atom energi (donor elektron) berkurang dan yang lainnya teroksidasi. Zat organik berfungsi sebagai donor elektron (reduktor) dalam jalur fermentasi. Pemecahan karbohidrat

dan asam amino terjadi secara anaerobik, atau tanpa menggunakan oksigen, dan disebut sebagai proses fermentasi. Mayoritas zat yang terdegradasi selama fermentasi adalah karbohidrat, namun hanya spesies bakteri tertentu yang dapat memfermentasi asam amino. Setidaknya ada tiga proses yang diakui pada bakteri untuk memecah glukosa (karbohidrat), termasuk jalur Embden-Meyerhoff-Parnas (EMP), juga dikenal sebagai glikolisis, yang hadir dalam jamur dan sebagian besar bakteri. Asam laktat (dalam bakteri asam laktat), etanol, dan CO<sub>2</sub> (dalam ragi) adalah produk dari proses ini (Retnowati, 2007).

Jenis karbohidrat yang digunakan pada uji fermentasi karbohidrat antara lain: sukrosa, laktosa, maltosa, glukosa, yang dapat dilihat dibawah ini.

**Tabel 5 Uji Fermentasi**

Isolat	Uji Fermentasi			
	Maltosa	Glukosa	Sukrosa	Laktosa
B	+	+	+	+
C	+	+	+	+
F	+	+	+	+
G	-	+	+	-
H	-	+	+	-
I	+	+	+	+

Ket : (+) = Media Berubah warna kuning, (-) = Media tidak berubah warna

Keempat isolat yang menjalani uji fermentasi gula atau uji karbohidrat menunjukkan perubahan warna dari merah menjadi kuning, yaitu isolat B, C, F, dan I. Temuan ini menunjukkan bahwa keempat isolat tersebut dapat memfermentasi semua karbohidrat yang diuji (maltosa, glukosa, sukrosa, dan laktosa), namun isolat G dan H tidak memberikan hasil positif pada uji laktosa dan maltosa karena tidak menunjukkan adanya perubahan warna. Ini menunjukkan bahwa isolat G dan H tidak dapat membuat asam laktat yang diperlukan untuk memfermentasi karbohidrat ini, sebagaimana dibuktikan dari tidak adanya perubahan warna.

### 3. Hasil Pengujian Ketahanan Probiotik

#### a. Uji Ketahanan Terhadap Keasaman Lambung (pH)

Nilai pH yang berbeda dikaitkan dengan kondisi sistem pencernaan yang berbeda. Keasaman asam lambung merupakan komponen penting dalam menentukan tingkat pH dalam saluran pencernaan. Sebelum bakteri dapat memasuki usus, keasaman lambung berfungsi sebagai gerbang awal (Awalia, 2017).



**Gambar 9 Hasil Uji Ketahanan pH**

Jelas dari temuan uji keasaman (pH) bahwa tiga isolat - B, H, dan I - dapat tumbuh pada media dengan keasaman (pH) 3-7. Koloni bakteri yang berkembang di bagian bawah tabung reaksi menunjukkan bahwa inilah masalahnya. Isolat (C, F, dan G) menunjukkan pertumbuhan pada pH 5 dan 7, tetapi tidak pada pH 3.

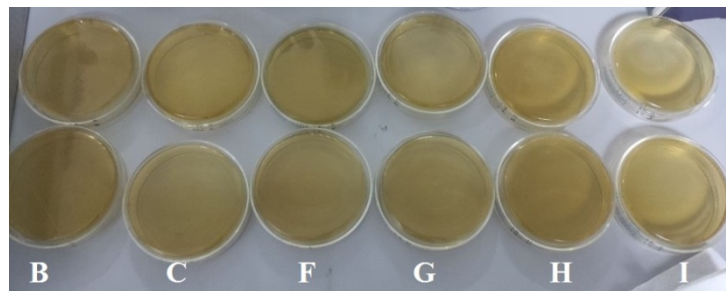
Anastiawan (2014) melaporkan bahwa pengujian probiotik untuk ketahanan pH dilakukan dengan menggunakan media MRSB dengan penambahan HCl 0,1 N untuk mencapai pH 2,5-3 (konsisten dengan pH lambung). Menurut hasil pengujian, isolat bakteri probiotik dapat tumbuh pada kisaran pH 2,5 hingga 3. Temuan ini menunjukkan bahwa isolat BAL dapat menahan asam lambung, menunjukkan bahwa mereka mungkin bakteri probiotik. Tingkat pertumbuhan dipengaruhi oleh perubahan pH media kultur, dan pertumbuhan bakteri memiliki kisaran pH dan pH ideal tertentu. Meskipun media awalnya disesuaikan dengan pH yang dibutuhkan untuk pengembangan, produk metabolit yang dibuat

oleh mikroorganisme secara bertahap akan menghambat pertumbuhan bakteri .

b. Uji Ketahanan Terhadap Garam Empedu

Bakteri asam laktat tidak hanya harus tahan terhadap pH rendah, tetapi juga terhadap garam empedu, agar dapat diuji potensinya sebagai bakteri probiotik. Menurut Anastiawan (2014), ketahanan terhadap garam empedu dan tingkat keasaman adalah kualitas penting bagi bakteri asam laktat karena mempengaruhi seberapa aktif mereka dalam sistem pencernaan, terutama di daerah usus di mana empedu dilepaskan di bagian atas usus besar. Mengontrol pertumbuhan infeksi usus yang memasuki sistem pencernaan dimungkinkan berkat kapasitas probiotik untuk meningkatkan kolonisasi lactobacilli di usus bagian atas.

Berdasarkan temuan pengujian ketahanan garam empedu bakteri asam laktat, ditentukan bahwa semua isolat memiliki endapan garam empedu di bagian bawah tabung setelah 1x24 jam. Berdasarkan temuan tersebut, kemudian dilakukan uji pertumbuhan pada media MRS Agar. Apakah ada pertumbuhan bakteri pada media MRSA setelah penambahan garam empedu sintetis 1% dan 5% dari hasil kultur MRSB digambarkan pada gambar di bawah ini.



**Gambar 10 Hasil Uji Ketahanan Garam Empedu**

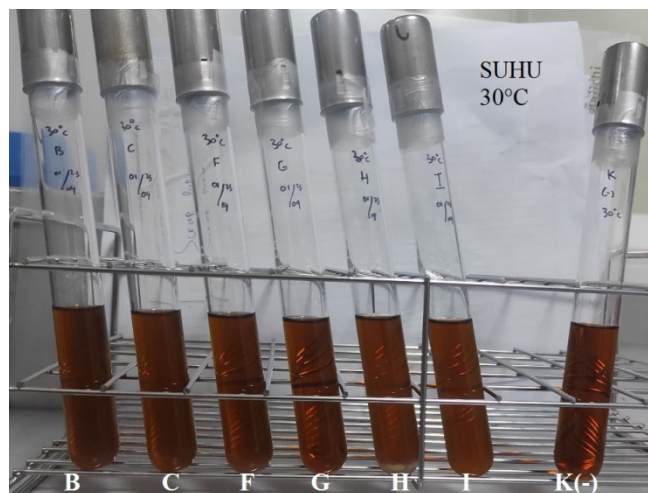
Dari hasil pengujian di peroleh data bahwa seluruh isolat menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri pada kadar garam sintetis 1% dan 5%.

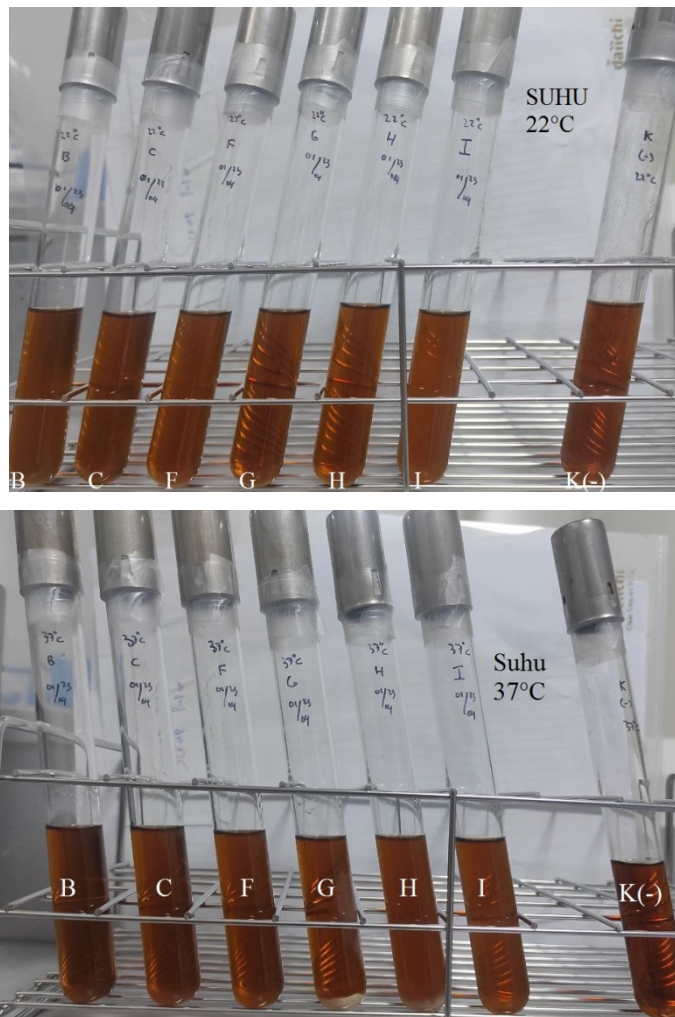
Permeabilitas sel bakteri dipengaruhi oleh garam empedu. Dipercayai bahwa bakteri empedu yang tidak rentan terhadap garam

menderita kebocoran materi intraseluler yang signifikan sebagai akibat dari gangguan permeabilitas membran sel mereka, yang pada akhirnya menghasilkan lisis sel. Membran sitoplasma dapat ditembus dan bereaksi secara kimia dengan garam empedu karena karakteristiknya sebagai zat aktif permukaan. Hal ini mengakibatkan modifikasi dan kerusakan pada struktur membran. Hal ini diyakini bahwa berbagai struktur asam lemak dalam membran sel bakteri mempengaruhi bagaimana permeabel mereka dan seberapa tahan mereka terhadap garam empedu (Anastiawan, 2014).

c. Uji Ketahanan Temperatur (suhu)

Suhu adalah komponen penting yang mempengaruhi perkembangan, proliferasi, dan ketahanan bakteri. Keenam isolat dapat berkembang pada suhu 22°C, 30°C, dan 37°C, menurut pengamatan. Namun, pertumbuhan tampak lebih baik pada 37°C, menunjukkan bahwa kedua isolat probiotik Gram positif dan Gram negatif BAL bersifat termofilik. Gambar berikut menunjukkan hasil pengujian yang dilakukan pada berbagai suhu tertentu.





**Gambar 11 Hasil Uji Ketahanan Suhu**

Awalia (2017) setiap strain memiliki suhu optimal yang berbeda untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat dapat dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan suhu pertumbuhan yang mereka sukai, kelompok mesofilik (yang lebih menyukai suhu 25°C dan maksimum 37°C hingga 40°C) dan kelompok termofilik (yang lebih menyukai suhu 37°C hingga 45°C dan maksimum 45°C hingga 52°C). Lebih lanjut Surono menyebutkan bahwa variasi masing-masing strain dalam pertumbuhan bakteri asam laktat. Beberapa bakteri dapat tumbuh pada suhu serendah 5°C, membuat sifat mereka adalah psikotrofik.

#### 4. Analisis Data

Pengujian ketahanan makroskopik, mikroskopis, biokimia, dan probiotik pada estimasi isolat (B, C, F, dan I) telah menentukan bahwa mereka adalah *Enterococcus sp.* Isolat adalah Gram positif, memiliki bentuk coccus bulat, negatif untuk katalase, positif untuk MR, negatif untuk VP, non-motil untuk motilitas, dan positif untuk fermentasi hemofermentatif. Bakteri Gram-positif yang dikenal sebagai *Enterococcus sp.* sebelumnya milik genus *Streptococcus sp.* (Nur Afiat, 2016). Menurut (Holt *et al.*, 1994) *Enterococcus sp.* memiliki morfologi bulat atau bulat telur, dan sering membentuk rantai-rantai pendek. Bakteri ini termasuk dalam kelompok Gram positif, kadang-kadang dapat bersifat motil dengan sedikit flagela. Mereka bersifat fakultatif anaerob, dan saat difermentasi, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas, sehingga pH akhir mencapai kisaran 4,2–4,6. *Enterococcus sp.* memiliki sifat katalase negatif dan biasanya dapat tumbuh pada suhu 10°C–45°C (optimum 37°C).

Pada isolat (G dan H) memiliki pengamatan mikroskopis: Gram positif, bentuk *basil* (batang) pendek. Kedua isolat uji katalase negatif, uji MR positif, uji VP negatif, uji motilitas non motil, uji fermentasi hemofermentatif dan dapat memfermentasikan karbohidrat pada pengujian gula yang dilakukan sehingga diperkirakan isolat G dan H merupakan *Lactobacillus sp.*

Menurut (Nur Afiat, 2016)., *Lactobacillus sp.* memiliki karakteristik sebagai berikut: selnya berbentuk batang dengan ukuran dan bentuk yang sangat seragam, beberapa bentuk sel sangat panjang, sementara yang lain berbentuk batang bulat. Bakteri ini dapat muncul dalam bentuk sel tunggal atau membentuk rantai yang pendek sampai panjang. *Lactobacillus sp.* adalah anaerob fakultatif dan dapat diklasifikasikan sebagai Gram positif, meskipun sebagian ada yang bersifat Gram negatif. Sebagian besar spesies tidak bergerak dan bersifat mesofilik, meskipun beberapa jenisnya bersifat psikotropik.



Pada uji ketahanan probiotik, isolat (B, H dan I) menunjukkan ketahanan terhadap berbagai pH (3, 5, 7) dan ketahanan suhu (22°C, 30°C, 37°C) namun tidak mampu bertahan pada berbagai uji ketahanan garam empedu. Hal ini disebabkan oleh faktor jumlah konsentrasi bakteri yang terlalu sedikit. Sedangkan pada isolat (C, F dan G) menunjukkan isolat dapat bertahan pada uji ketahanan pH (5 dan 7) dan bertahan pada suhu 22°C, 30°C dan 37°C serta pada uji ketahanan terhadap garam empedu tidak menunjukkan pertumbuhan sel bakteri. Hal ini disebabkan bakteri pada isolat (C, F dan G) tidak bisa bertahan pada pH yang terlalu asam.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil isolasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ayam broiler didapatkan 6 isolat bakteri memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa yang mampu menghambat bakteri *Salmonella spp* dan 3 isolat (B, H dan I) yang berpotensi sebagai sumber bakteri probiotik.
2. Keseluruhan isolat yang di dapatkan termasuk ke dalam kelompok bakteri bersifat Gram positif. Isolat (B, C, F dan I) berbentuk bulat (coccus) tergolong kelompok *Enterococcus sp.*, sedangkan Isolat bakteri (G dan H) berbentuk batang (basil) tergolong kelompok *Lactobacillus sp.*

#### **5.2 Saran**

Bakteri kandidat probiotik yang telah didapatkan dapat di uji lanjutan terhadap bakteri patogen lain seperti *E. coli* dan dapat diidentifikasi karakteristiknya lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Rahman. (2020). Performa Produksi Ayam Ras Pedaging Fase Finisher yang Diberi Ransum Dengan Penambahan Ampas Tahu Fermentasi *Aspergillus niger*. In *UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SULTAN SYARIF KASIM RIAU* (Vol. 21, Issue 1).
- Agus, N. A. (2016). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat Asal Saluran Pencernaan Broiler Umur Tiga Hari. In *Skripsi univeristas islam negeri alauddin*.
- Ali, N., Agustina, A., & Dahniar, D. (2019). Pemberian Dedak Yang Difermentasi Dengan EM4 Sebagai Pakan Ayam Broiler. *AGROVITAL: Jurnal Ilmu Pertanian*, 4(1), 1. <https://doi.org/10.35329/agrovital.v4i1.298>
- Anastiawan. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal Dari Usus Itik Pedaging *Anas domesticus*. In *Universitas Hasanuddin*. <https://core.ac.uk/download/pdf/77626682.pdf>
- Awalia, F. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibiotik Bakteri Asam Laktat Pada Usus Ayam Bangkok *Gallus domesticus*. In *UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR* (Vol. 87, Issue 1,2).
- Bimantara, J. G. (2021). *Penyalahgunaan Antibiotik di Peternakan Ayam Broiler*. PT Kompas Media Nusantara. <https://www.kompas.id/baca/ekonomi/2021/07/16/penyalahgunaan-antibiotik-di-peternakan-ayam-broiler>
- Bukhori, A. (2018). *Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Saluran Pencernaan Ikan Nila (Oreochromis niloticus) dan Kemampuannya Dalam Menghambat Staphylococcus aureus dan Shigella sp.*
- Campbell, N. A., Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., & Jackson, R. B. (2008). Biologi Edisi Kedelapan Jilid 3. *International Journal of Social Ecology and Sustainable Development*, 1(1), 1–577.
- Chotiah, S., Besar, B., Veteriner, P., No, J. R. E. M., Pos, K., & Barat, J. (2018). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik untuk Mengatasi Salmonellosis pada Ayam Pedaging ( Characterization of Lactic Acid Bacteria as Probiotic Candidate to Overcome the Salmonellosis in Broiler ). *Buletin Plasma Nutfah*, 24(1), 89–96.
- Hamidah, N. M., Rianingsih, L., & Romadhon. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurna Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11–20. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jitpi/article/view/6742/3551>
- Harahap, N. (2015). Isolasi dan Enkapsulasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Ayam Kampung (*Gallus domesticus*) Sebagai Pengendali *Escherichia coli*. In *Tesis*.

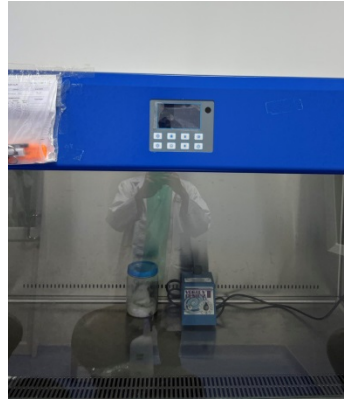
- John G. Holt, Noel R. Krieg, Peter H. A. Sneath, James T. Staley, S. T. W. (1994). *Bergey's Manual's of Determination Bacteriology* (Ninth Edit).
- Kusmiati, K., & Malik, A. (2010). Aktivitas Bakteriosin Dari Bakteri *Leuconostoc Mesenteroides* Pbac1 Pada Berbagai Media. *Makara Journal of Health Research*, 6(1). <https://doi.org/10.7454/msk.v6i1.10>
- Nurbaiti, Rosyidi, A., & Ali, M. (2016). Skrening Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Usus Ayam Broiler sebagai Kandidat Probiotik untuk Unggas. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Peternakan Indonesia Volume*, 2(1), 144–149.
- Nurul, S. (2016). PERTUMBUHAN *Escherichia coli* YANG DIISOLASI DARI FESES ANAK AYAM BROILER TERHADAP EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) The Effect of Bay Leaf (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) Extract on the Growth of *Escherichia coli* Isolated from B. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(1), 2007–2010. <https://doi.org/10.21157/j.med.vet..v10i2.4636>
- Retnowati, A. A. (2007). Uji Potensi Antibakteri Senyawa yang Dihasilkan Bakteri Dalam Susu Fermentasi Yakult® Terhadap *Escherichia coli* dan *Enterococcus faecalis*.
- Romadhon, Subagiyo, & M, S. (2012). Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria Pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan*, 8(1), 59–64.
- Sasha Sabrina Sabir. (2021). Uji Kemampuan Bakteri *Lactobacillus* sp. Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Air *Citrobacter* sp. dan *Shigella* sp. Secara In-Vitro. In *Universitas Hasanuddin* (Vol. 14, Issue 1).
- Sumarsih, S., Sulistiyanto, B., Sutrisno, C. I., & Rahayu, E. S. (2012). Peran Probiotik Bakteri Asam Laktat terhadap Produktivitas Unggas. *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*, 10(1), 1–9.
- Tensiska. (2008). Probiotik dan Prebiotik Sebagai Pangan Fungsional. *Universitas Padjajaran*, 53(9), 1689–1699.
- Umiarti, A. T. (2020). *Manajemen Pemeliharaan Broiler* (Edisi 1). Pustaka Larasan.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alat-alat yang digunakan



Autoklaf (Hirayama)



BSC (Med Future)



Timbangan digital



Oven



Inkubator



Kulkas



Mikroskop (Olympus)



Mikropipet



Gelas ukur



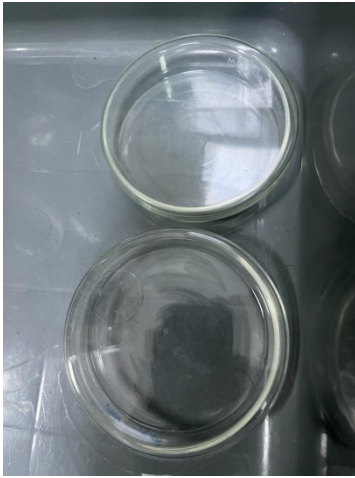
Jarum Ose



Objek Glass



Rak Tabung



Cawan Petri



Botol Schott

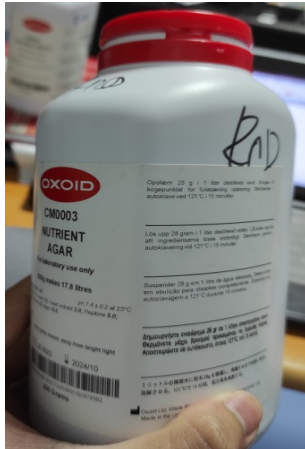


Bunsen

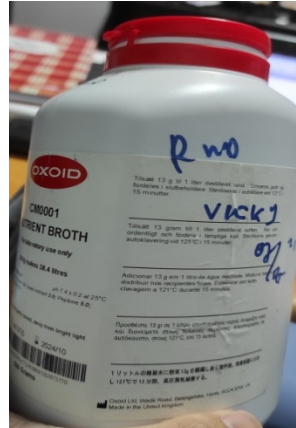


*Pipettor*

## Lampiran 2. Bahan yang digunakan



Nutrient Agar



Nutrient Broth



MRSA



MRSB



Alkohol



Kristal Violet





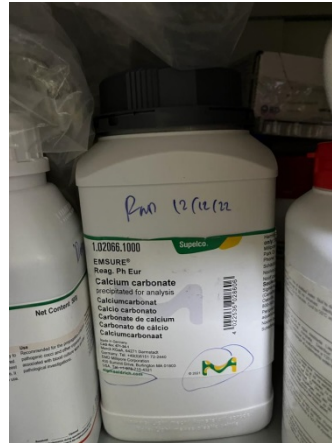
Lugol



Safranin



Gula-Gula



CaCO<sub>3</sub>



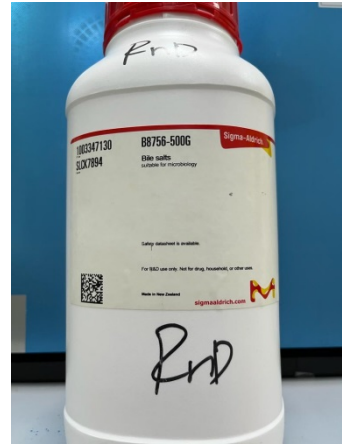
Minyak Immersi



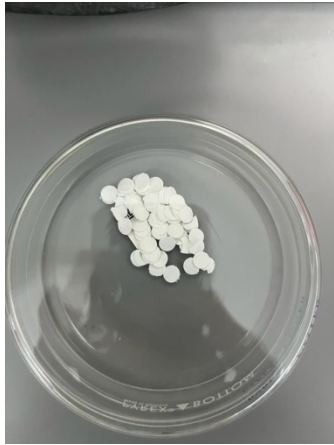
Akuades



PBS



Garam Empedu



Kertas Cakram



Kultur *Salmonella* sp.

Lampiran 3. Skema Kerja Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Saluran Pencernaan Ayam *Broiler*

