

**ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI USUS SAPI
(*Bos taurus*) SERTA KEMAMPUANNYA DALAM
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
Eschericia coli dan *Shigella sp.***

SKRIPSI

OLEH :

**LULU FATMADEWI
14.870.0002**



**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2018**

Judul Penelitian : Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Sapi (*Bos taurus*)
Serta Kemampuannya dalam Menghambat Pertumbuhan
Eschericia coli dan *Shigella sp.*
Nama : Lulu Fatmadewi
NPM : 148700002
Fakultas : Biologi

Disetujui Oleh
Komisi Pembimbing :



Dra. Sartini M.Sc
Pembimbing I



Rahmiati S.Si M.Si
Pembimbing II



Dr. Mutri Sudibyo, Msi
Dekan



Ferdinand Susilo, S.Si M.Si
Ka. Prodi/WD I

Tanggal Lulus : 06 Juni 2018

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam tulisan skripsi ini saya kutip dari hasil karya orang lain telah ditulis sumbernya secara jelas sesuai norma, kaidah dan etika penulis ilmiah.

Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya dengan peraturan yang berlaku apabila kemudian hari ditemukan plagiat dalam skripsi ini.

Medan, Januari 2018



Lulu Fatma Dewi
14.870.0002

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Lulu Fatma Dewi
NPM : 14.870.0002
Program Studi : Biologi
Fakultas : Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-Exklusif Royalti-Free Right*) atas karya ilmiah yang berjudul : Isolasi Bakteri Asam laktat dari Usus Sapi (*Bos taurus*) Serta Kemampuannya Dalam Menghambat Pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Shigella sp.*

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan memublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan
Pada tanggal :
Yang menyatakan


(Lulu Fatma Dewi)

ABSTRACT

The purpose of this research was to determine the ability of BAL from cattle intestine (*Bos taurus*) in inhibiting the growth of *Escherichia coli* and *Shigella sp.* Testing of BAL capability in inhibiting growth of *Escherichia coli* and *Shigella sp.* using the disc-diffusion method or the Kirby-Bauer method, which was done by measuring the inhibit zone around the paper disc. Data were analyzed descriptively by displaying data in table and picture form. The results obtained 2 isolates of BAL from the cow intestine. All isolates showed positive results when tested for antibacterial against *Escherichia coli* and *Shigella sp.* In isolate BAL with code sp₁ has inhibition zone against *Escherichia coli* equal to 7.5 mm and to *Shigella sp.* of 6.8 mm, whereas in isolate BAL with code sp₂ has inhibition zone against *Escherichia coli* equal to 8.9 mm and to *Shigella sp.* of 8.0 mm. Based on the results obtained, it can be concluded that isolates of lactic acid bacteria with sp₂ code has inhibition zone 8.9 mm in inhibiting *Escherichia coli* while against bacteria *Shigella sp.* has a diameter of 8.0 mm.

Keywords: Cow (*Bos taurus*), Lactic Acid Bacteria (BAL), Antibacterial, *Escherichia coli*, *Shigella sp.*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan BAL yang berasal dari usus sapi (*Bos taurus*) dalam menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Shigella sp.* Pengujian kemampuan BAL dalam menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Shigella sp.* menggunakan metode difusi cakram atau metode Kirby-Bauer, yaitu dilakukan dengan mengukur zona hambat di sekeliling cakram kertas. Data dianalisis secara deskriptif dengan menampilkan data dalam bentuk tabel dan gambar. Dari hasil penelitian diperoleh 2 isolat BAL dari usus sapi. Seluruh isolat menunjukkan hasil positif saat diuji antibakteri terhadap *Eschericia coli* dan *Shigella sp.* Pada isolat BAL dengan kode sp₁ memiliki zona hambat terhadap *Eschericia coli* sebesar 7,5 mm dan terhadap *Shigella sp.* sebesar 6,8 mm, sedangkan pada isolat BAL dengan kode sp₂ memiliki zona hambat terhadap *Eschericia coli* sebesar 8,9 mm dan terhadap *Shigella sp.* sebesar 8,0 mm. Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri asam laktat dengan kode sp₂ memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *Eschericia coli* sebesar 8,9 mm sedangkan terhadap bakteri *Shigella sp.* memiliki daya hambat sebesar 8,0 mm.

Kata kunci : Sapi (*Bos taurus*), Bakteri Asam Laktat (BAL), Antibakteri, *Eschericia coli*, *Shigella sp.*

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Medan, pada tanggal 15 Desember 1994 anak dari ayahanda Kemin dan ibunda Surjannah dan merupakan anak keempat dari lima bersaudara.

Pada tahun 2001, penulis mulai memasuki pendidikan SD di Yayasan Perguruan Pelita Medan dan lulus pada tahun 2007. Tahun 2007, penulis melanjutkan pendidikan di SMP Swasta Pelita Medan dan lulus pada tahun 2010. Pada tahun 2010 penulis melanjutkan pendidikan di SMK Dharma Analitika Program Keahlian Kesehatan Medan dan lulus pada tahun 2013. Selanjutnya pada tahun 2014 terdaftar sebagai mahasiswa Strata Satu (S1) di Fakultas Biologi Universitas Medan Area.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Usus Sapi (*Bos taurus*) Serta Kemampuannya Dalam Menghambat Pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Shigella Sp.*”.

Ucapan terima kasih penulis kepada pihak yang banyak membantu dalam penulisan skripsi ini. Terutama kepada Bapak Dr. Mufti Sudibyo M.Si selaku Dekan Fakultas Biologi, Pembimbing I Ibu Dr. Sartini M.Sc, Pembimbing II Ibu Rahmiati S.Si, M.Si dan sekretaris komisi pembimbing Bapak Denny Akbar Tanjung S.Si, M.Si. yang memberikan saran dan masukan yang sangat berguna dalam penulisan hasil penelitian ini. Serta ucapan terima kasih kepada bapak/ibu dosen/staff Fakultas Biologi, keluarga besar dan teman-teman mahasiswa/I Fakultas Biologi Universitas Medan Area.

Penulis menyadari penulisan skripsi ini belum sempurna, masih banyak kesalahan dan kekurangan. Oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan hasil penelitian ini.

Akhirnya penulis berharap, kiranya skripsi ini dapat bermanfaat untuk pembangunan ilmu pengetahuan bagi penulis dan pembaca. Amin.

Medan, September 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTAK	i
ABSTRACT.....	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	4
1.3.Tujuan Penelitian	4
1.4.Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Bakteri Asam Laktat	5
2.2. Karakteristik Bakteri Asam Laktat.....	5
2.3. Sumber Bakteri Asam Laktat	6
2.4. Jenis-jenis Bakteri Asam Laktat	6
2.5. Peran Bakteri Asam Laktat	8
2.6. Potensi BAL Sebagai Probiotik	9
2.7. Bakteri Patogen	10
2.7.1. <i>Eschericia coli</i>	10
2.7.2. <i>Shigella sp.</i>	12
2.8. Pewarnaan Gram	12
2.9. Sapi (<i>Bos taurus</i>).....	14
2.9.1. Organ Pencernaan Sapi (<i>Bos taurus</i>).....	16
BAB III BAHAN DAN METODE.....	22
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	22
3.3. Lokasi Pengambilan Sampel	22
3.4. Prosedur Penelitian.....	23
3.4.1. Sterilisasi Alat dan Media.....	23
3.4.2. Isolasi Bakteri Asam Laktat	23
3.4.3. Pengamatan Makroskopis.....	23
3.4.4. Pengamatan Mikroskopis	24
3.4.5. Uji Biokimia	24
3.4.6. Uji Antagonis.....	25
3.4.7. Uji Ketahanan terhadap pH	26
3.4.8. Uji Ketahanan Kadar Garam	26
3.5. Analisis Data	27

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1. Isolasi Bakteri Asam Laktat	28
4.2. Karakteristik Mikroskopis isolat Bakteri Asam Laktat	29
4.3. Ketahanan Isolat BAL terhadap pH dan Kadar Garam	34
4.4. Kemampuan Isolat BAL dalam Menghambat Bakteri Patogen	38
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	42
5.1. Simpulan	42
5.2. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perbedaan Sifat Bakteri Gram positif dan Gram negatif	14
Tabel 2. Karakteristik Morfologi Isolat BAL	28
Tabel 3. Hasil Pewarnaan Gram Isolat BAL	29
Tabel 4. Hasil Uji Biokimia Isolat BAL	31
Tabel 5. Pertumbuhan Total Bakteri pada Variasi pH	35
Tabel 6. Pertumbuhan Total Bakteri pada Variasi Kadar Garam	36
Tabel 7. Diameter Zona Hambat	38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Eschericia coli</i>	11
Gambar 2. Organ Pencernaan Sapi (<i>Bos taurus</i>)	15
Gambar 3. Rumen	16
Gambar 4. Retikulum	17
Gambar 5. Omasum	17
Gambar 6. Usus Halus (<i>Intestinum tenue</i>)	18
Gambar 7. Usus Besar (<i>Intestinum crasum</i>)	19
Gambar 8. Biakan Murni isolat BAL	27
Gambar 9. Hasil Pewarnaan Gram	28
Gambar 10. Uji TSIA	32
Gambar 11. Zona Hambat Isolat BAL	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian	47
Lampiran 2. Proses Isolasi Bakteri Asam laktat dari Usus Sapi	48
Lampiran 3. Uji Biokimia	49
Lampiran 4. Hasil Uji Ketahanan Isolat BAL Terhadap Variasi pH	50
Lampiran 5. Hasil Uji Ketahanan Isolat BAL Terhadap Variasi Garam	51

BAB I

PEDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sapi potong adalah sapi yang dipelihara dengan tujuan utama sebagai penghasil daging, sehingga sering disebut sebagai sapi pedaging. Sapi potong di Indonesia merupakan salah satu jenis ternak yang menjadi sumber utama pemenuhan kebutuhan daging setelah ayam. Hal tersebut bisa dilihat dari konsumsi daging ayam 64%, daging sapi 19% dan daging babi 9% (Hastang dan Asnawi, 2014).

Sapi potong di Indonesia telah berkembang sejak zaman dahulu. Ada tiga bangsa sapi potong utama di Indonesia yaitu sapi ongole, bali dan madura serta hasil-hasil persilangannya baik yang telah diakui sebagai suatu strain maupun yang belum. Sapi potong yang paling tinggi populasinya di antara ketiga bangsa sapi tersebut adalah sapi Ongole, khususnya Peranakan Ongole (PO) yang merupakan hasil persilangan dari sapi Jawa yang penyebarannya hampir merata di seluruh Pulau Jawa dan beberapa wilayah di Pulau Sumatera dan Sulawesi (Talib dan Siregar, 1991).

Seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk di Indonesia, maka kebutuhan daging di Indonesia tiap tahun mengalami peningkatan. Kebutuhan konsumsi daging ini menuntut para ahli di bidang peternakan untuk berusaha meningkatkan produktivitas ternak. Salah satu cara untuk meningkatkan produktivitas ternak yang sekarang sedang berkembang yaitu dengan

memperbaiki pakan ternak menggunakan mikroorganisme seperti probiotik (Anastiawan, 2014).

Penggunaan probiotik untuk memperbaiki produktivitas ternak semakin banyak menarik perhatian para peneliti maupun praktisi peternakana. Probiotik didefinisikan sebagai substrat mikroorganisme yang diberikan kepada manusia atau ternak melalui pakan dan memberikan efek positif dengan cara memperbaiki keseimbangan mikroorganisme alami di dalam saluran pencernaan (Pamungkas dan Anggraeny, 2006).

Kelompok bakteri asam laktat apabila berada dalam saluran pencernaan inang berperan sebagai probiotik dan apabila berada pada lingkungan sekitar berperan aktif sebagai dekomposer, sehingga pemberian probiotik memberikan dampak yang baik karena tidak mengganggu keseimbangan lingkungan. Pemberian probiotik pada pakan ternak akan meningkatkan daya cerna pakan dalam saluran pencernaan ternak ruminansia sehingga proses absorpsi sari makanan menjadi lebih efektif dan efisien (Setyawan, dkk., 2014).

Bagi ternak ruminansia di Indonesia dengan karakter pakan berkualitas rendah, sangatlah dibutuhkan mikroorganisme selulolitik dalam jumlah yang cukup tinggi agar mampu memanfaatkan hijauan atau limbah pertanian yang lebih efisien dalam menghasilkan gizi yang dibutuhkan oleh ternak. Selain itu, perlu juga dikembangkan probiotik untuk memperbaiki komposisi mikroorganisme yang hidup di bagian usus halus ternak ruminansia untuk meningkatkan produktivitasnya. Mikroorganisme selulolitik berperan pada pencernaan pakan berserat tinggi, sehingga ruminansia memerlukan probiotik baik yang diaktifkan di saluran pencernaan bagian depan untuk membantu perkembangan bagian

rumen, maupun di saluran pencernaan bagian belakang untuk menghindari terjadinya diare akibat stres perubahan pakan atau bakteri patogen (Pamungkas dan Anggraeny, 2006).

Menurut WHO (2013) diare adalah salah satu dari dua penyakit yang menyebabkan angka kematian anak yaitu mencapai 29% diseluruh dunia atau terhitung sebanyak lebih dari 2 juta anak setiap tahun. Di Indonesia sendiri, kasus diare merupakan penyebab kedua terbesar kematian anak setelah kasus malnutrisi dengan total kematiannya mencapai 31,4%. Menurut WHO *Eschericia coli* dan *Shigella dysentriae* merupakan salah satu penyakit yang disebabkan infeksi bakteri melalui makanan. Spesies kelompok kedua bakteri tersebut merupakan genus bakteri penyebab utama diare dan dysentri diseluruh dunia dan ditularkan melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi atau melalui penderita.

Keberadaan bakteri asam laktat dalam saluran pencernaan penting untuk menjaga keseimbangan ekosistem mikroflora dalam usus. Bakteri-bakteri tersebut menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen *Eschericia coli* dan *Shigella dysentriae*. Pertumbuhan bakteri patogen dapat ditekan oleh bakteri asam laktat sehingga mampu menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus (Tambunan, 2016).

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi BAL yang terdapat di dalam usus sapi (*Bos taurus*) dan kemampuannya menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Shigella dysentriae*.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah BAL yang terdapat pada usus sapi (*Bos taurus*) mampu menghambat pertumbuhan *Esherichia coli* dan *Shygella sp.*

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan BAL asal usus sapi dalam menghambat pertumbuhan *Esherichia coli* dan *Shygella sp.*

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah BAL yang diisolasi dari usus sapi (*Bos taurus*) dapat menghambat pertumbuhan *Esherichia coli* dan *Shygella sp.*

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah dapat memberikan informasi ilmiah mengenai BAL yang terdapat dalam saluran pencernaan sapi (*Bos taurus*) dan dapat memberikan informasi terhadap penelitian-penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat pertama kali ditemukan oleh Pasteur pada tahun 1957. Pada saat Pasteur mempelajari kerusakan anggur yang berubah menjadi asam yang dikenal dengan istilah *Milchsauerbacillus* yang diartikan sebagai bakteri bentuk basil penghasil asam yang menyebabkan keasaman pada susu, pertama kali ditemukan oleh Hueppe pada tahun 1984. Bakteri asam laktat biasanya banyak ditemukan pada bahan pangan, diantaranya sayuran, buah-buahan, produk susu dan daging. Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan dari 3 sampai 4,5 sehingga pembentukan bakteri lain seperti bakteri pembusuk akan terhambat. Pada umumnya mikroorganisme akan tumbuh pada kisaran pH 6-8 (Andiani, 2012).

2.2. Karakteristik Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, katalase negatif, tahan terhadap kondisi asam dan bersifat fakultatif anaerob. Secara umum, BAL merupakan bakteri mesofilik dengan beberapa strain bersifat termofilik dan mampu tumbuh pada suhu 5-45⁰C. BAL mampu tumbuh pada pH 3,8 dan bersifat proteolitik dengan kebutuhan asam amino yang sangat spesifik. BAL telah banyak digunakan sebagai kultur starter dalam industri fermentasi pangan. BAL yang digunakan digunakan dalam produk fermentasi menghasilkan sejumlah substansi antibakteri, meliputi asam organik, hidrogen peroksida (H₂O₂) dan bakteriosin (Widodo, 2017).

2.3. Sumber Bakteri Asam Laktat

Secara alami BAL banyak dijumpai di berbagai habitat seperti makanan fermentasi, buah-buahan dan saluran pencernaan manusia atau ternak. Secara umum BAL ditemukan pada habitat yang kaya akan nutrisi seperti pada beberapa produk makanan (susu, daging dan sayuran), tetapi beberapa juga ditemukan pada mulut, pencernaan dan vagina dari mamalia. Berdasarkan habitat aslinya secara umum dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu bakteri asam laktat yang berasal dari tanaman (fermentasi nabati) dan bakteri asam laktat yang berasal dari susu (*dairy product*). Pada kelompok BAL yang berasal dari fermentasi nabati biasanya terdapat pada beberapa produk nabati seperti pickel buah dan sayuran, sauerkraut, kimchi, minuman beralkohol, produk fermentasi kedelai (tauco, miso, tempe), dan lain-lain. Sedangkan kelompok BAL yang berasal dari susu biasanya terdapat pada beberapa produk fermentasi susu yang sangat populer seperti *yoghurt*, keju, minuman probiotik, kefir, dadih, dan lain-lain (Susilawati, 2016).

2.4. Jenis-jenis Bakteri Asam Laktat

Menurut Sopandi dan Wardah (2014), jenis-jenis Bakteri Asam Laktat antara lain sebagai berikut :

Lactococcus

Genus bakteri ini meliputi beberapa spesies, tetapi hanya satu spesies yaitu *Lactococcus lactis* yang secara luas digunakan dalam fermentasi susu. *Lactococcus lactis* berbentuk oval, berdiameter 0,5-1,0 μm , berpasangan atau rantai pendek, nonmotil, tidak membentuk spora dan fakultatif anaerobik hingga mikroaerofil. Secara umum, *Lactococcus lactis* tumbuh baik pada suhu 20-30⁰C, mampu menghidrolisis laktosa dan kasein, serta dapat memfermentasi galaktosa,

sukrosa dan maltosa. Habitat alami *Lactococcus lactis* adalah tanaman hijau, lingkungan peternakan susu dan susu mentah.

Streptococcus

Genus bakteri ini meliputi *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis* dan *Streptococcus cremoris*. Hanya satu spesies dari genus *Streptococcus*, yaitu *Streptococcus thermophilus* yang digunakan dalam fermentasi susu. *Streptococcus thermophilus* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat hingga oval, berdiameter 0,7-0,9 μm , bersifat fakultatif anaerobik, serta dapat berada dalam bentuk berpasangan sampai rantai panjang. Habitat alami *Streptococcus thermophilus* belum diketahui, tetapi pada umumnya ditemukan dalam susu.

Pediococcus cerevisae

Bakteri ini merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat, khususnya terdapat berpasangan atau berempat. Walaupun bakteri jenis ini sebagai perusak bir dan anggur, namun bakteri ini berperan penting dalam fermentasi daging dan sayuran.

Leuconostoc

Pada saat ini terdapat 5 spesies *Leuconostoc* yang diketahui, yaitu *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc paramesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Leuconostoc carnosum* dan *Leuconostoc gelidum*. *Leuconostoc* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bulat hingga bulat panjang, berpasangan atau membentuk rantai, nonmotil, tidak membentuk spora, katalase negatif, bersifat fakultatif anaerobik, dapat tumbuh baik pada suhu 20-30⁰C, serta dapat memfermentasi glukosa menjadi asam laktat, etanol atau asam asetat. Spesies

Leuconostoc ditemukan pada tanaman, sayuran, susu dan beberapa susu olahan serta daging mentah dan daging olahan.

Lactobacillus

Genus bakteri ini meliputi *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus delbrueckii*. Keseluruhan spesies bakteri ini merupakan kelompok bakteri berbentuk batang, Gram positif dan sering berbentuk pasangan dan rantai dari sel-selnya. Jenis bakteri ini umumnya lebih tahan lama terhadap keadaan asam daripada jenis-jenis *Pediococcus* atau *Streptococcus* dan oleh karenanya menjadi lebih banyak terdapat pada sayuran. Pada hewan ternak lain seperti sapi dapat ditemukan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus lactis* dan *Lactobacillus brevis*.

Berdasarkan produk akhir metabolisme, BAL dapat dibagi menjadi dua kategori, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. BAL disebut homofermentatif apabila mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utama. Sedangkan, heterofermentatif menghasilkan asam asetat, etanol dan CO₂ selain asam laktat. Genus BAL yang bersifat homofermentatif meliputi *Pediococcus*, *Streptococcus*, beberapa strain dari genus *Lactococcus* dan beberapa strain dari genus *Lactobacillus*. Sedangkan, BAL disebut heterofermentatif diantaranya ialah *Weisella*, *Leuconostoc* dan beberapa strain dari genus *Lactobacillus* (Widodo, 2017).

2.5. Peran Bakteri Asam Laktat

BAL berperan besar dalam industri fermentasi pangan. Dari semua produk fermentasi asam laktat, produk fermentasi susu (baik secara kuantitas maupun kualitas) merupakan yang utama. Mengonsumsi produk pangan yang mengandung

BAL sangat menguntungkan. Hal ini karena terdapat beberapa manfaat konsumsi produk pangan yang mengandung BAL, yaitu (i) meningkatkan kesehatan saluran pencernaan; (ii) meningkatkan sistem imun; (iii) menurunkan gejala *lactose intolerance* dan menurunkan prevalensi alergi pada individu yang rentan; serta (iv) menurunkan risiko kanker kolon (Widodo, 2017).

2.6. Potensi BAL sebagai Probiotik

Probiotik pertama kali ditemukan oleh seorang ilmuwan Rusia bernama Metchnikoff. Dalam sebuah artikel yang diterbitkan dalam jurnal *Science* pada tahun 1962, dua dokter hewan yaitu Lilly dan Stillwell pertama kali mengemukakan istilah “probiotik” untuk merujuk “bakteri anaerob yang mampu menghasilkan asam laktat dari substrat makanan yang berbeda dan untuk merangsang pertumbuhan mikroorganisme lain. Parker (1974) juga mengemukakan bahwa probiotik sebagai organisme dan substansi dengan efek menguntungkan untuk hewan dengan mempengaruhi mikroflora saluran cerna. Sementara itu, Fuller (1989) mendefinisikan probiotik sebagai suplemen pakan yang berupa mikroba hidup yang memberikan efek menguntungkan bagi inang dengan memperbaiki keseimbangan mikroba saluran cerna (Lestari dan Helmyati, 2015).

Probiotik merupakan pakan aditif berupa mikroba hidup yang dapat meningkatkan keseimbangan mikroba di dalam saluran cerna hewan inang yang berperan meningkatkan kesehatan dan produktivitas hewan inang tersebut. Mikroflora yang digolongkan sebagai probiotik adalah Bakteri Asam Laktat (BAL) yang dapat memproduksi asam laktat terutama dari golongan *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria*. Beberapa penelitian menyatakan bahwa BAL mampu

menekan jumlah bakteri patogen penyebab gangguan pencernaan, mampu membentuk koloni, sehingga menjaga keseimbangan bakteri yang menguntungkan dalam usus dan meningkatkan kekebalan tubuh (Santoso, dkk., 2013).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sutrisna, dkk., (2015) diketahui bahwa bakteri asam laktat yang terdapat dalam usus itik mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, bakteri asam laktat tidak hanya menghasilkan asam laktat dan asam asetat (asam organik), tetapi juga senyawa-senyawa lain yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Senyawa tersebut diantaranya H₂O₂ diasetil dan bakteriosin. Bakteriosin merupakan zat antimikroba berupa polipeptidoglikan yang utuh, sehingga dinding sel akan melemah dan akibatnya sel bakteri akan mengalami lisis.

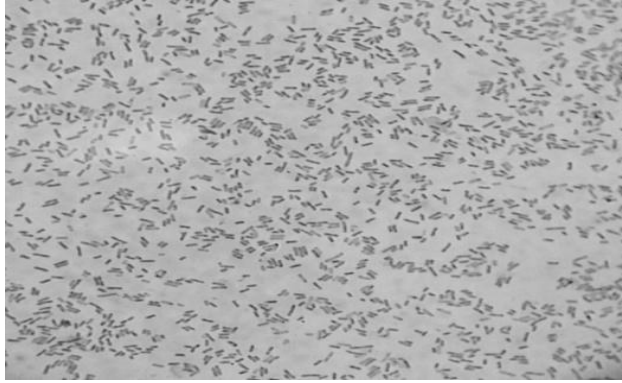
2.7. Bakteri Patogen

Salah satu bakteri patogen adalah *Eschericia coli* dan *Shigella dysentriae*.

2.7.1 *Eschericia coli*

Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1993), klasifikasi taksonomi *Eschericia coli* :

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enetrobacteriales
Famiy	: Enterobacteriaceae
Genus	: Eschericia
Spesies	: <i>Eschericia coli</i>



Gambar 1. *Eschericia coli* dengan perbesaran 1000x (Jamin, dkk., 2015).

Morfologi *E. coli* secara umum merupakan batang pendek dan gemuk tetapi kadang-kadang teramati sebagai bentuk batang panjang. Karakteristik bakteri tersebut bersifat sebagai bakteri Gram negatif, tidak tahan asam, tidak membentuk spora, sebagian besar bakteri *E. coli* bersifat motil dengan alat pergerakan flagella, beberapa strain memiliki kapsul serta bersifat anaerob fakultatif dan memiliki ukuran $0,4 - 0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$ (Wibowo dan Wahyuni, 2009).

Diare dapat didefinisikan sebagai malabsorpsi garam dan air yang mengakibatkan berkurangnya cairan dalam tubuh. Hal tersebut dapat terjadi ketika mukosa usus distimulasi untuk mengeluarkan garam dan air. Sejumlah racun bakteri, seperti racun bakteri enterotoksin sangat berhubungan erat dengan penyakit diare. Salah satu bakteri yang sangat identik dengan diare adalah *Eschericia coli*. *Eschericia coli* merupakan bakteri yang selalu terdapat pada sistem pencernaan manusia dan hewan berdarah panas dan telah umum dianggap sebagai indikator pencemaran kotoran (Rohdiana, dkk., 2013).

2.7.2 *Shigella sp.*

Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1993), klasifikasi taksonomi *Shigella dysenteriae* :

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enetrobacteriales
Famiy	: Enterobacteriaceae
Genus	: Eschericia
Spesies	: <i>Shigella sp.</i>

Shigella sp. termasuk kelompok bakteri Gram negatif, berbentuk batang, tidak berkapsul dan tidak membentuk spora, anaerob fakultatif, memfermentasi glukosa dengan membentuk asam tetapi jarang memproduksi gas dan secara alamiah hidupnya di usus (Novianti, 2015).

Disentri merupakan suatu infeksi yang menimbulkan luka dan menyebabkan tukak terbatas di kolon, ditandai dengan gejala khas yang disebut sebagai sindroma disentri, yakni sakit di perut yang sering disertai dengan tinja yang mengandung darah dan berlendir. Penyakit ini disebabkan oleh parasit dan bakteri, yaitu *Entamoeba histolytica* dan *Shigella spp.* Penyakit yang disebabkan oleh *Shigella sp.* adalah disentri basiller, yaitu suatu infeksi peradangan akut saluran pencernaan dengan kondisi kronis meliputi diare, buang air besar berair yang disertai darah, lendir dan nanah (Prasaja, dkk., 2014).

2.8. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram atau metode Gram adalah suatu metode empiris untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni Gram positif dan

Gram negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel mereka. Metode ini diberi nama berdasarkan penemunya, ilmuwan Denmark Hans Christian Gram (1853-1938) yang mengembangkan teknik ini pada tahun 1884 untuk membedakan antara *pneumokokus* dan bakteri *kebsiella pneumoniae*. Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode pewarnaan Gram. Bakteri Gram positif akan mempertahankan zat warna metil ungu gelap setelah dicuci dengan alkohol, sementara bakteri Gram negatif tidak (Hadioetomo, 1993).

Pengujian ini berguna untuk mengklasifikasikan kedua tipe bakteri berdasarkan perbedaan struktur dinding sel. Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode pewarnaan Gram. Bakteri Gram positif akan mempertahankan warna ungu gelap setelah dicuci dengan alkohol, sementara bakteri Gram negatif tidak. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang mempertahankan zat warna metil ungu sewaktu proses pewarnaan Gram. Bakteri jenis ini akan berwarna biru atau ungu di bawah mikroskop, sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah muda. Perbedaan klasifikasi antara kedua jenis bakteri ini terutama didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel bakteri (Hadioetomo, 1993).

Perbedaan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif dipelihatkan dari perbedaan dinding sel. Dinding sel bakteri Gram positif seperti bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sp.* sebagian besar terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk suatu struktur yang tebal dan kaku. Kekakuan pada dinding sel bakteri yang disebabkan karena lapisan peptidoglikan dan ketebalan peptidoglikan ini membuat bakteri Gram positif resisten terhadap

lisis osmotik. Bakteri Gram negatif seperti *Eschericia coli* dan *Pseudomonas sp.* terdiri atas satu atau sangat sedikit lapisan peptidoglikan pada dinding selnya. Selain itu dinding sel bakteri Gram negatif tidak mengandung asam teikoik tetapi mengandung sejumlah polisakarida dan lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia (Jawetz *et al.*, 2005).

Perbedaan penyusun dinding sel antara bakteri Gram positif dan Gram negatif dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini :

Tabel 1. Perbedaan Sifat Bakteri Gram positif dan Gram negatif

Sifat	Perbedaan	
	Bakteri Gram positif	Bakteri Gram negatif
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%).	Kandungan lipid tinggi (11-22%)
Ketahanan terhadap penisilin	Lebih sensitif	Lebih tahan
Penghambatan oleh pewarna basa	Lebih dihambat	Kurang dihambat
Kebutuhan nutrient	Kebanyakan spesies Relatif kompleks	Relatif sederhana
Ketahanan terhadap perlakuan fisik	Lebih tahan	Kurang tahan

(Fardiaz, 1992).

2.9. Sapi (*Bos taurus*)

Sapi adalah hewan ternak terpenting sebagai sumber daging, susu, tenaga kerja dan kebutuhan lainnya. Sapi menghasilkan sekitar 50% (45-55%) kebutuhan daging di dunia, 95% kebutuhan susu dan 85% kebutuhan kulit. Sapi berasal dari *family Bovidae*. Seperti halnya bison, banteng, kerbau (*Bubalus*), kerbau Afrika (*Syncherus*), dan anoa.

Bangsa sapi memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Subphylum : Vertebrata
Class : Mamalia
Ordo : Artiodactyla
Subordo : Ruminansia
Family : Bovidae
Genus : Bos
Spesies : *Bos taurus*

Bos indicus

Bos sondaicus (Syarif dan Harianto, 2011).

Bangsa sapi perah di bagi menjadi dua, yaitu : *Bos taurus* dan *Bos indicus*. *Bos taurus* adalah bangsa sapi yang hidup di daerah subtropis atau daerah yang mempunyai empat musim (musim salju, panas, semi dan gugur). Ciri utamanya adalah tidak memiliki punuk di punggungnya. Beberapa contoh yang termasuk ke dalam bangsa *Bos taurus* adalah sapi Shorthorn dan Guernsey (Inggris), Friesian Holstein/Fries Holland atau FH (Belanda), Ayrshire (Scotlandia Selatan), Jersey (Selat Channel antara Inggris dan Perancis), Brown Swiss (Switzerland), Red Danish (Denmark), Droughtmaster (Australia), sapi Israeli (Israel) dan terdapat beberapa jenis sapi lainnya yang merupakan turunan atau hasil persilangan dari bangsa-bangsa sapi tersebut. Sedangkan, *Bos indicus* adalah bangsa sapi yang hidup di daerah tropis atau beriklim panas. Beberapa contoh sapi yang termasuk ke dalam bangsa *Bos indicus* adalah sapi Zebu (India), Red Sindhi (India), Grati

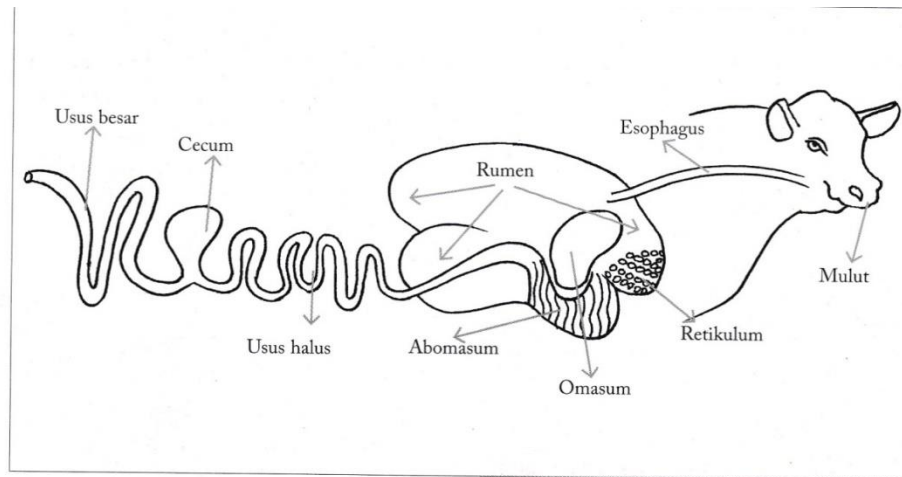
(persilangan antara FH dan sapi Jawa atau Madura), serta Sahiwal Cross (persilangan Sahiwal dengan FH) (Rianto dan Purbowati, 2010).

Ternak sapi, khususnya sapi potong merupakan salah satu sumber daya penghasil daging yang memiliki nilai ekonomi tinggi dan penting artinya di dalam kehidupan masyarakat. Daging sangat besar manfaatnya bagi pemenuhan gizi berupa protein hewani. Sapi sebagai salah satu hewan pemakan rumput sangat berperan sebagai pengumpul bahan bergizi rendah yang diubah menjadi bahan bergizi tinggi, kemudian diteruskan kepada manusia dalam bentuk daging (Sudarmono dan Sugeng, 2008).

2.9.1 Organ Pencernaan Sapi (*Bos taurus*)

Sistem pencernaan merupakan serangkaian proses perubahan fisik dan kimia yang dialami oleh bahan makanan selama berada dalam alat pencernaan. Proses pencernaan makanan pada ternak ruminansia relatif lebih kompleks dibandingkan dengan proses pencernaan pada jenis ternak lainnya (Muslim, dkk., 2014).

Sapi adalah ternak ruminansia yang mempunyai 4 bagian perut, yaitu rumen, retikulum, omasum dan abomasum. Pencernaan pada ruminansia terjadi secara mekanis (di dalam mulut), fermentatif (oleh mikroba di dalam rumen), dan hidrolisis (oleh enzim pencernaan di abomasum dan usus). Pada saat proses penyerapan nutrisi, dibutuhkan organ pencernaan. Berikut adalah organ-organ dalam proses pencernaan sapi :



Gambar 2. Organ Pencernaan Sapi (*Bos taurus*)

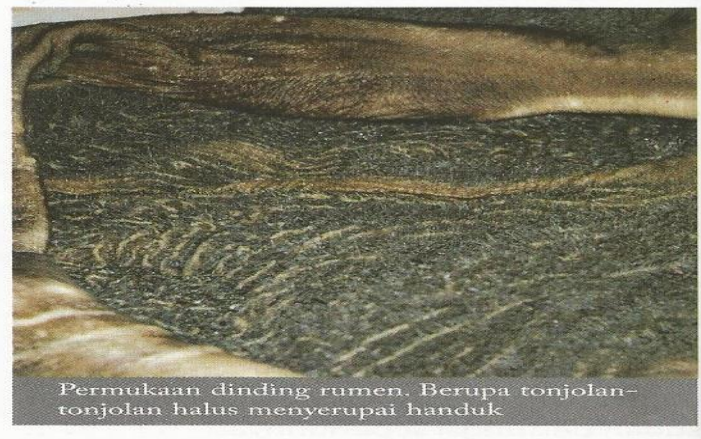
(Sumber : Rianto dan Purbowati, 2010).

a. Mulut

Di dalam mulut, pakan mengalami penghancuran pertama secara mekanis oleh gigi. Di dalam mulut, pakan juga mengalami pencampuran dengan saliva agar mudah ditelan. Saliva terdiri atas 99% air dan 1% sisanya terdiri atas mucin, garam-garam anorganik dan lisozim kompleks. Saliva pada sapi juga mengandung urea, fosfor (P) dan natrium (Na) yang dapat dimanfaatkan oleh mikrobia rumen. Saliva yang masuk ke dalam rumen memiliki sifat buffer (penyangga) yang berguna dalam menjaga pH rumen agar tidak naik atau turun terlalu tajam.

b. Rumen

Setelah mengalami pengunyahan di dalam mulut, pakan ditelan melalui pharinx dan melalui oesophagus menuju rumen. Rumen merupakan kantong yang besar sebagai tempat persediaan dan pencampuran bahan pakan untuk fermentasi oleh mikroorganismenya.



Gambar 3. Rumen
(Sumber : Rianto dan Purbowati, 2010).

Fungsi utama rumen adalah sebagai tempat untuk mencerna serat kasar dan zat-zat pakan dengan bantuan mikrobial. Mikroba tersebut hidup di dalam suasana anaerob dan sebagian dapat hidup dalam suasana fakultatif anaerob. Secara garis besar, mikroorganisme rumen dapat dibagi menjadi lima kelompok besar, yaitu bakteri, protozoa, jamur (fungi), virus dan amoeba. Aktivitas mikroorganisme rumen dapat berlangsung dengan baik pada pH 6.7-7,0.

c. Retikulum

Retikulum terletak di belakang rumen. Pada dinding retikulum terdapat papillae yang membentuk alur/garis-garis yang saling berhubungan sehingga berbentuk seperti sarang lebah. Secara fisik, tidak terdapat batas yang jelas antara retikulum dengan rumen sehingga kedua bagian tersebut sering disebut sebagai satu bagian, yaitu retikulo-rumen atau rumino-retikulum. Retikulum berfungsi mengatur aliran digesta dari rumen ke omasum.

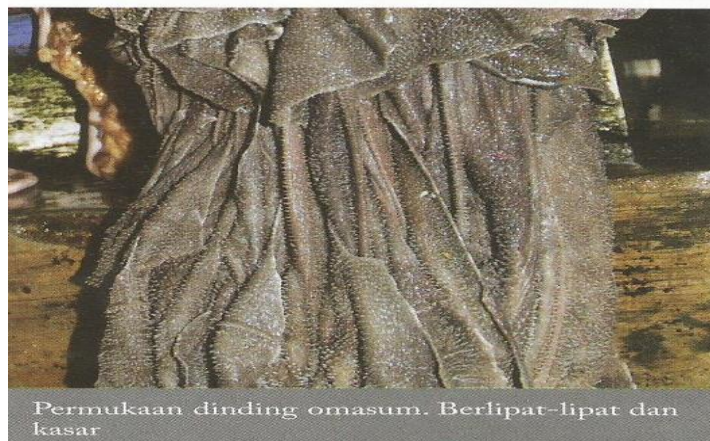


Gambar 4. Retikulum

(Sumber : Rianto dan Purbowati, 2010).

d. Omasum

Permukaan dinding omasum berlipat-lipat dan kasar. Terdapat 5 lamina (daun) yang mempunyai duri (spike). Semakin mendekati abomasum, ukuran spike semakin kecil. Fungsi lamina adalah menyaring partikel digesta yang akan masuk ke abomasum. Partikel digesta yang masih terlalu besar akan dikembalikan ke retikulum. Selanjutnya, partikel digesta tersebut akan mengalami regurgitasi (dikeluarkan kembali ke mulut) dan remastikasi (dikunyah lagi).



Gambar 5. Omasum

(Sumber : Rianto dan Purbowati, 2010).

e. Abomasum

Abomasum disebut perut sejati pada ternak ruminansia (termasuk sapi). Pada dinding abomasum terdapat kelenjar-kelenjar pencernaan yang menghasilkan cairan lambung yang mengandung pepsinogen, garam anorganik, mukosa dan asam hidroklorat dan faktor interinsik yang penting untuk absorpsi vitamin B₁₂ secara efisien. Pepsinogen merupakan bentuk inaktif dari pepsin yang menghidrolisis protein. Kondisi asam di dalam lambung mengaktifkan pepsinogen menjadi pepsin.

f. *Intestinum tenue* (Usus halus)

Intestine terdiri atas 3 bagian, yaitu duodenum, jejunum dan ileum. Panjang intestine pada sapi 22-30 kali panjang tubuhnya. Intestine berfungsi sebagai tempat penyerapan nutrisi. Digesta yang masuk ke dalam duodenum mengalami pencampuran dengan hasil sekresi dari duodenum itu sendiri, hati dan pankreas. Kelenjar duodenum menghasilkan cairan alkalin yang berguna sebagai pelumas dan melindungi duodenum dari asam hidroklorat yang masuk dari abomasum. Proses penyerapan terjadi terutama di jejunum dan ileum.



Gambar 6. Usus halus (Intestine)

(Sumber : Rianto dan Purbowati, 2010).

g. *Intestinum crasum* (Usus Besar)

Ada 3 organ pokok yang terdapat di dalam kelompok usus besar, yaitu colon, caecum dan rectum. Pada saat digesta masuk ke dalam colon, sebagian besar digesta yang mengalami hidrolisis sudah terserap sehingga materi yang masuk ke dalam colon adalah materi yang tidak tercerna. Hanya sedikit sekali digesta yang terserap lewat dinding usus besar. Materi yang tidak terserap kemudian dikeluarkan lewat anus sebagai feses.



Gambar 7. Usus besar (Colon)

(Sumber : Rianto dan Purbowati, 2010).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2018 sampai dengan bulan Maret 2018 di Laboratorium Kesehatan Medan.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu erlenmeyer, tangkai pengaduk, aluminium foil, inkubator, mikroskop, pipet tetes, ose jarum, *paper disk*, jangka sorong, neraca analitik, spatula, penjepit tabung, autoklaf, lumpang mortal, tabung reaksi, *object glass*, bunsen, ose cincin, cawan petri, alat vortex, gelas ukur, rak tabung dan kaki tiga.

Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah usus sapi, NaCl fisiologis, akuades, media MRSA (*de Mangan Rogose Sharpe Agar*), kristal violet, larutan iodine, safranin, alkohol, media *Nutrient Agar* (uji ketahanan terhadap keasaman (pH)), garam empedu, media SIM (uji motilitas), media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), H₂O₂ (uji katalase) dan media NA (*Nutrient Agar*).

3.3. Lokasi Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel di Rumah Potong Hewan yang berlokasi di Jl. Rumah Potong Hewan No.123 Mabar Kelurahan Mabar Hilir Kecamatan Medan Deli, Sumatera Utara.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Media

Alat-alat gelas seperti tabung reaksi, cawan petri, *object glass* dan pipet tetes disterilkan dengan sterilisasi panas kering (udara panas) dengan menggunakan oven. Sterilisasi dilakukan pada temperatur 170⁰-180⁰ C selama 1-2 jam. Jarum ose disterikan dengan sterilisasi panas kering diatas nyala api bunsen sampai merah membara.

Media dan alat non-gelas yang akan digunakan terlebih dahulu disterikan dengan sterilisasi panas basah yaitu dengan menggunakan autoklaf. Sterilisasi dilakukan selama 15 menit pada temperatur 121⁰ C dengan tekanan 2 atm.

3.4.2 Isolasi Bakteri Asam Laktat

Di ambil sebanyak 100 gram usus sapi bagian jejunum dan disterilkan dengan cara dibilas dengan akuades. Kemudian sampel digerus dengan menggunakan lumpang mortal. Hasil gerusan diambil sebanyak 1 gr dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi 10 ml NaCl fisiologi steril. Dibuat dari tiap seri pengenceran diinokulasikan ke dalam media MRSA steril di dalam cawan petri. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 25-30⁰C selama 48 jam.

3.4.3 Pengamatan Makroskopis

Pengamatan makroskopis yang dilakukan meliputi bentuk koloni (*shape*), bentuk tepi (*edge*), warna (*colour*), *elevation* dan permukaan koloni.

3.4.4 Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan morfologi koloni dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan Gram. Pertama-tama biakan bakteri ditotolkan pada *object glass* sebanyak 1 ose dan ditambahkan 1-2 tetes akuades selanjutnya dilakukan fiksasi diatas nyala api bunsen. Selanjutnya setelah kering, sebanyak 2-3 tetes kristal violet diteteskan pada koloni bakteri, diamkan selama 1 menit. Kemudian preparat dicuci dengan menggunakan akuades lalu dikeringkan. Kemudian teteskan 2-3 tetes larutan iodine diatas preparat dan dibiarkan selama 30 detik dan bilas kembali dengan alkohol kemudian dikeringkan. Selanjutnya, preparat ditetesi dengan larutan safranin sebanyak 2-3 tetes dan tunggu selama 1 menit. Selanjutnya dibilas dengan akuades dan dikering anginkan. Setelah itu diamati dibawah mikroskop.

3.4.5 Uji Biokimia

a. Uji Motilitas

Di ambil 1 ose isolat bakteri dengan menggunakan ose jarum. Lalu diinokulasikan dengan cara ditusuk pada media SIM (*Sulfida Indol Motility*) tegak. Kemudian diinkubasi pada suhu 25-30⁰C selama 48 jam.

b. Uji Katalase

Di ambil 1 ose isolat bakteri dengan menggunakan ose cincin. Kemudian dicelupkan ke dalam tabung reaksi yang berisi reagen H₂O₂. Hasil positif jika terbentuk gelembung gas dan hasil negatif jika tidak terbentuk gelembung gas.

c. Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Di ambil 1 ose isolat bakteri dengan menggunakan ose jarum. Kemudian diinokulasi dengan cara ditusukkan pada media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*).

Kemudian ambil lagi 1 ose isolat bakteri lalu digoreskan pada permukaan media. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 25-30⁰C. Perubahan yang terjadi setelah diinkubasi yaitu warna media menjadi kuning menandakan asam, warna media menjadi merah menandakan basa, warna menjadi hitam menandakan terbentuknya H₂S dan bila media terangkat menandakan bahwa mikroba tersebut mampu untuk memproduksi gas.

d. Uji Sitrat

Di ambil 1 ose isolat bakteri dengan menggunakan ose cincin. Kemudian diinokulasikan pada medium *simmon's citrate* (SCA) pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Pengamatan uji sitrat dilakukan dengan membandingkan medium *simmon's citrate* yang diinokulasikan isolat bakteri terhadap kontrol (tanpa inokulasi bakteri). Perubahan warna dari hijau menjadi biru menunjukkan bahwa bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

e. Uji Hidrolisis Gelatin

Di ambil 1 ose isolat BAL dengan ose jarum, kemudian diinokulasikan pada media gelatin 12% dan nutrient broth dengan takaran 13 gram/L. Kemudian tabung uji diinkubasi selama 72 jam. Setelah 72 jam tabung dimasukkan ke dalam lemari es selama 30 menit. Di amati apakah terjadi pencairan gelatin. Uji positif jika media mencair, maka berarti bakteri mampu menghasilkan *eksoenzim gelatinase*.

3.4.6 Uji Antagonis Isolat BAL terhadap Bakteri Patogen

Uji antagonis dilakukan dengan metode difusi cakram. Isolat BAL diremajakan pada media MRSA dan isolat bakteri patogen diremajakan pada

media NA steril. Masing-masing isolat dan bakteri patogen dibuat menjadi suspensi dengan kerapatan sel 10^8 CFU sesuai dengan standar Mc.Farland.

Disiapkan media NA steril di dalam cawan petri. Bakteri patogen di ambil dengan mencelupkan *cotton bud* steril ke dalam suspensi bakteri dengan kerapatan sel 10^8 CFU, lalu dioles pada permukaan media uji sampai merata. Selanjutnya sebanyak 10 μ l (mikroliter) isolat BAL ditetaskan pada kertas cakram kosong (*oxid*) dan diletakkan pada bagian tengah media uji yang sudah diolesi bakteri patogen. Cawan uji diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25-30⁰C. Diamati dan dicatat zona hambat berupa zona bening yang muncul. Diameter diukur dengan menggunakan jangka sorong.

3.4.7 Uji Ketahanan Isolat Terhadap Variasi pH

Uji ketahanan isolat terhadap asam dilakukan dengan menggunakan media *Nutrient Broth* yang ditambahkan dengan HCl dengan variasi pH (pH 2.5, 3.0, dan 3.5). Selanjutnya 1 ose isolat BAL diinokulasikan pada media tersebut. Lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam, selanjutnya ambil isolat BAL sebanyak 0,1 ml yang kemudian diinokulasikan pada media MRSA dan selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Dihitung jumlah total bakteri yang muncul pada media MRSA.

3.4.8 Uji Ketahanan Isolat Terhadap Kadar Garam

Uji ketahanan isolat terhadap kadar garam dilakukan dengan menggunakan media *Nutrient Broth* yang ditambahkan dengan garam dengan variasi pH (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, dan 2.5). selanjutnya 1 ose isolat BAL diinokulasikan pada media tersebut. Lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam, selanjutnya ambil isolat BAL sebanyak 0,1 ml yang

kemudian diinokulasikan pada media MRSA dan selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Dihitung jumlah total bakteri yang muncul pada media MRSA

3.5. Analisis Data

Data-data yang diperoleh pada semua tahapan penelitian dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan memberikan penjelasan atau penggambaran dari berbagai isolat BAL yang mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Shigella sp.*

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Isolasi Bakteri Asam Laktat.

Hasil isolasi bakteri asam laktat dari usus sapi (*Bos taurus*) diperoleh sebanyak dua isolat bakteri yang berbeda, yaitu sp₁. dan sp₂. Perbedaan ciri dari kedua isolat dapat dilihat pada Tabel 2. Isolat bakteri yang telah terpilih tersebut ditanam pada media MRSA yang bertujuan untuk menghasilkan biakan murni yang diinginkan tanpa ada kontaminan dari mikroba lain (Ed-har, *dkk.*, 2017).

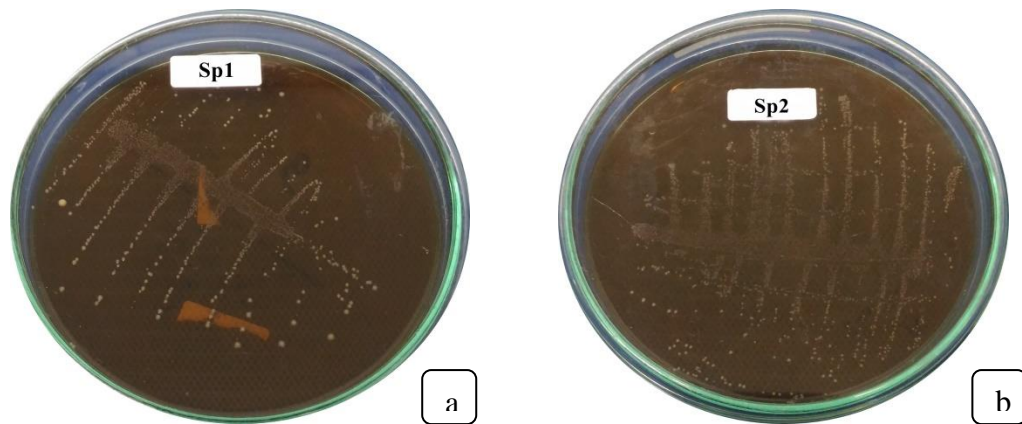
Tabel 2. Karakteristik Morfologi Isolat BAL

Kode Isolat	Bentuk Koloni				
	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepi	Permukaan
sp ₁ .	Bulat	Kuning	Cembung	Rata	Halus
sp ₂ .	Bulat	Putih susu	Cembung	Rata	Halus

Berdasarkan data pada Tabel 2 diketahui bahwa kedua isolat BAL yang diperoleh memiliki karakteristik yang berbeda. Perbedaan tersebut terdapat pada warna koloni bakteri, yaitu pada sp₁. memiliki warna koloni kuning sedangkan pada sp₂. memiliki warna koloni putih susu. Karakteristik lain yang diperoleh dari kedua isolat BAL yaitu memiliki bentuk koloni bulat, elevasi cembung, tepi rata dan permukaan koloni halus.

Hal ini sesuai dengan pendapat Ibrahim (2015) yang menyebutkan bahwa isolat bakteri asam laktat dari buah mangga mempunyai karakteristik secara makroskopis yaitu warna koloni putih susu, bentuk koloni bulat, tepi koloni *entire* (rata), permukaan halus dan elevasi cembung.

Isolat BAL setelah pemurnian dapat dilihat pada Gambar 8. berikut ini :



Gambar 8. Biakan murni isolat BAL
(a). sp₁. dan (b). sp₂. (Sumber : Koleksi pribadi).

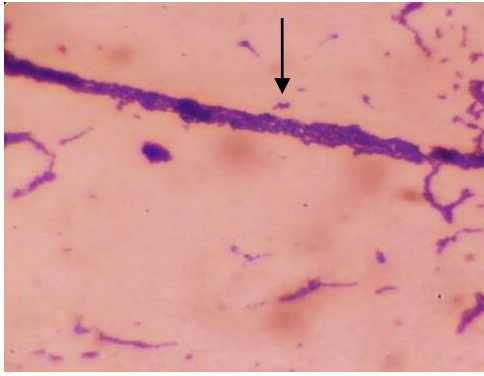
4.2. Karakteristik Mikroskopis Isolat Bakteri Asam Laktat

Pengamatan karakteristik mikroskopis isolat BAL dilakukan dengan melihat bentuk morfologi sel dan warna sel. Pengamatan karakteristik isolat BAL dilakukan dengan pewarnaan Gram dan uji biokimia. Pewarnaan Gram dilakukan untuk membedakan kelompok bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada Tabel 3.

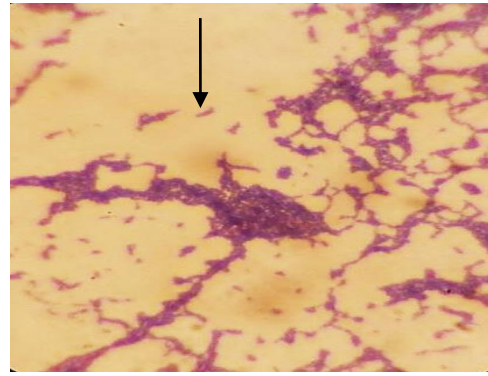
Tabel 3. Hasil Pewarnaan Gram Isolat BAL

Kode Isolat	Bentuk sel	Warna sel bakteri	Pewarnaan Gram
sp ₁ .	Batang	Ungu	Gram positif
sp ₂ .	Batang	Ungu	Gram positif

Berdasarkan data pada Tabel 3 diketahui bahwa kedua isolat bakteri merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk sel bakteri batang. Hal ini dapat diketahui dari warna sel bakteri yang bewarna ungu setelah dilakukan pewarnaan Gram.



(a). sp₁. bentuk sel bakteri basil



(b). sp₂. bentuk sel bakteri basil

Gambar 9. Bakteri Asam Laktat dengan pewarnaan Gram dengan perbesaran lensa objektif 100x
(Sumber : Koleksi pribadi)

Ibrahim, *dkk.* (2015) juga menyatakan bahwa pengamatan mikroskopis terhadap isolat bakteri asam laktat dari buah mangga bersifat Gram positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri. Pengamatan secara mikroskopis terhadap bakteri Gram positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri. Hal tersebut disebabkan karena bakteri ini mempunyai kandungan lipid yang lebih rendah, sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah terdehidrasi akibat perlakuan dengan alkohol. Dinding sel yang terdehidrasi menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat warna ungu kristal yang merupakan zat warna utama tidak dapat keluar dari sel dan sel akan tetap berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif terlihat berwarna merah karena bakteri ini kehilangan pewarna kristal violet pada waktu pembilasan dengan alkohol namun mampu menyerap pewarna tandingan yaitu safranin. Bakteri Gram negatif mengandung lipid. Lemak atau substansi seperti lemak dalam persentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri Gram positif. Dinding sel bakteri Gram negatif juga lebih tipis daripada sel bakteri Gram positif (Cappucino & Sherman, 2002).

Setelah dilakukan pengamatan karakteristik secara makroskopis dan mikroskopis selanjutnya dilakukan juga uji biokimia, yaitu uji motilitas, uji fermentasi sitrat, uji fermentasi karbohidrat, uji hidrolisis gelatin dan uji katalase. Adapun hasil uji biokimia yang telah dilakukan dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia Isolat BAL

Kode Isolat	Uji Fermentasi Karbohidrat							
	Slant	Butt	Gas	H ₂ S	Katalase	Motilitas	Ferm. sitrat	Hidrolisis Gelatin
sp ₁ .	Kuning	Kuning	-	-	+	-	-	-
sp ₂ .	Kuning	Kuning	-	-	-	-	-	-

Berdasarkan data pada tabel 4 diatas, diketahui bahwa isolat sp₁ dan sp₂ menunjukkan hasil negatif pada pengujian motilitas, fermentasi sitrat dan hidrolisis gelatin. Pada uji katalase, isolat sp₁ menunjukkan hasil (+) dengan adanya pembentukan gelembung setelah isolat ditetesi H₂O₂. Sedangkan, isolat sp₂ menunjukkan hasil negatif pada uji katalase.

Menurut Mutmainnah (2014) Uji katalase merupakan uji untuk mengidentifikasi mikroba yang mampu menghasilkan enzim katalase yang digunakan untuk memecah hidrogen peroksida yang terbentuk dari proses respirasi aerob dan bersifat toksik terhadap bakteri, menjadi dihidrogen oksida (H₂O) dan oksigen (O₂) yang tidak bersifat toksik lagi. Beberapa strain *Lactobacillus* menghasilkan antibiotik yang dapat membunuh bakteri melalui penjagaannya dari serangan bakteri yang berbahaya. Laily (2013) menyatakan bahwa bakteri asam laktat merupakan bakteri katalase negatif karena tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida dan bakteri

asam laktat umumnya bersifat mikroaerofilik hingga anaerob fakultatif, yang artinya apabila terdapat O₂ selama pertumbuhan akan bersifat toksik dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat.

Laily (2013) juga menyatakan bahwa bakteri asam laktat memiliki karakteristik Gram positif, non spora, berbentuk kokus atau basil dan tidak bergerak (non motil) serta memberikan reaksi negatif pada uji katalase (tidak bereaksi dengan hidrogen peroksida).

Uji motilitas adalah uji yang digunakan untuk melihat kemampuan dari suatu bakteri untuk bergerak (Amaliah, *dkk.*, 2018). Berdasarkan hasil uji motilitas pada tabel 4 menunjukkan bahwa kedua isolat BAL sp₁. dan sp₂. menunjukkan hasil uji motilitas negatif, yaitu tidak ditemukannya jejak pergerakan bakteri. Hasil uji motilitas ini sesuai dengan karakteristik bakteri asam laktat yang bersifat non motil atau yang berarti bakteri tidak memiliki flagela (Amaliah, *dkk.*, 2018).

Pengujian kemampuan fermentasi sitrat menunjukkan hasil negatif pada kedua isolat BAL. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua isolat BAL yang diperoleh yaitu sp₁. dan sp₂. tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Uji sitrat digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam menggunakan sitrat sebagai sumber energi bagi metabolisme sel. Media yang digunakan untuk uji ini adalah *Simmon's Citrate Agar* yang merupakan media sintetik dengan Na sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon, NH₄⁺ sebagai sumber N dan *brom thymol blue* sebagai indikator pH. Bila mikroorganisme mampu menggunakan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari media sehingga

menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna media dari hijau menjadi biru (Candra, 2006).

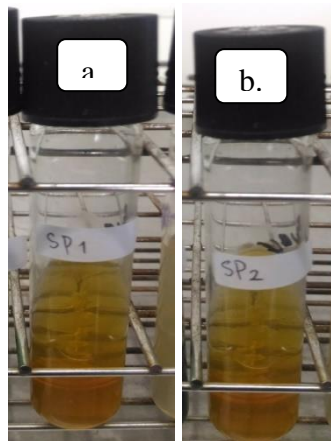
Candra (2006) menyebutkan bahwa lima jenis isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari produk bekasam ikan bandeng (*Chanos chanos*) memiliki kemampuan yang berbeda dalam memfermentasikan sitrat. Terdapat 2 isolat yaitu isolat B1 dan B5 menunjukkan hasil positif, dalam memfermentasikan sitrat dan terdapat ketiga isolat yaitu B2, B3 dan B4 menunjukkan hasil negatif, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mempunyai kemampuan dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Uji hidrolisis gelatin bertujuan untuk melihat apakah isolat bakteri asam laktat yang diperoleh memiliki enzim gelatinase yang dapat menguraikan gelatin. Hasil uji hidrolisis gelatin pada kedua isolat sp₁ dan sp₂ menunjukkan hasil negatif. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Situmeang (2017), yang menyatakan bahwa keempat isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari yoghurt tidak menghasilkan enzim gelatinase sehingga tidak mampu menghidrolisis gelatin.

Uji fermentasi karbohidrat digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa dengan menghasilkan asam dan gas. Pada media TSIA dapat diketahui terjadinya fermentasi glukosa, laktosa atau sukrosa dan produksi gas dari glukosa yang ditandai dengan terbentuknya rongga-rongga di bagian bawah agar. Warna merah pada agar menunjukkan reaksi basa, sedangkan warna kuning menunjukkan reaksi asam. Warna merah pada permukaan dan kuning di bagian bawah tabung menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa tetapi tidak laktosa dan sukrosa. Warna kuning pada bagian permukaan dan bawah

tabung menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Pembentukan gas pada media TSIA dapat dilihat dari adanya rongga yang terbentuk pada bagian bawah agar dan media terangkat, sedangkan pembentukan H₂S dapat dilihat dari terbentuknya endapan hitam pada dasar media (Mutmainah, 2014).

Pada pengujian fermentasi karbohidrat kedua isolat bakteri asam laktat diketahui mampu memfermentasikan ketiga jenis gula yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Hal ini ditunjukkan dengan perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Warna media berubah karena terjadi hidrolisis Karbohidrat dan perubahan pH pada media.



Gambar 10. Uji TSIA
(a) sp₁. (b) sp₂. (Sumber : Koleksi pribadi)

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Andiani (2012), menyatakan bahwa isolat bakteri asam laktat asal dari susu kerbau dapat memfermentasikan glukosa dengan menghasilkan asam tanpa pembentukan gas dan kedua isolat bakteri dapat memfermentasikan laktosa dan sukrosa.

4.3. Ketahanan Isolat BAL terhadap pH dan Kadar Garam.

Konfirmasi isolat BAL dilakukan dengan menguji viabilitas hidup BAL pada variasi pH dan kadar garam. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 5 dan tabel 6.

Tabel 5. Pertumbuhan total bakteri pada variasi pH

Jumlah Total Bakteri (CFU)		
Variasi pH	Isolat bakteri	
	sp1.	sp2.
2,5	8	5
3,0	5	3
3,5	0	0

Uji ketahanan terhadap variasi pH menggunakan tiga variasi pH yang berbeda, yaitu pH 2,5 , 3,0 , dan 3,5. Pada pH 3,5 tidak ada isolat yang tumbuh, hal ini diduga dapat terjadi karena perbedaan komposisi membran sitoplasma sel bakteri. Cotter dan Hill (2003) menyatakan bahwa perbedaan ketahanan terhadap pH pada beberapa spesies BAL berhubungan dengan permeabilitas dinding sel terhadap proton (H^+). Permeabilitas sel terhadap H^+ salah satunya ditentukan oleh aliran proton keluar secara aktif (*active outflow*) yang diaktivasi oleh ATPase membran untuk translokasi H^+ . Menurut Puspawati *et al.*, (2010) juga menyatakan bahwa bakteri asam laktat mengalami kematian disebabkan oleh beberapa faktor seperti ketersediaan nutrisi pada media berkurang, energi cadangan dalam sel habis, adanya penumpukan asam dan metabolit lainnya.

Menurut Pratiwi (2008), bakteri asam laktat mempunyai toleransi pH dengan rentang yang luas. Bakteri asam laktat juga mampu mempertahankan sitoplasma lebih alkali dari pada pH ekstraseluler. pH menurunkan indikasi konsentrasi ion hidrogen. Peningkatan dan penurunan konsentrasi ion hidrogen

dapat menyebabkan ionisasi gugus-gugus dalam protein, amino dan karboksilat. Hal ini dapat menyebabkan denaturasi yang dapat mengganggu pertumbuhan sel.

Menurut Surono (2004), untuk pertumbuhannya bakteri juga memerlukan pH tertentu. Namun pada umumnya bakteri memiliki jarak pH yang sempit yaitu sekitar 6,5 – 7,5 atau pada pH netral. Beberapa bakteri ada yang dapat bertahan hidup dibawah pH 4, tetapi ada pula bakteri yang dapat hidup dan tubuh pada pH alkalis. Oleh karena bakteri termasuk makhluk hidup dimana dalam tubuhnya juga mengalami proses biokimiawi, misalnya proses metabolisme, memerlukan peranan enzim, maka masing-masing bakteri juga memiliki pH optimal untuk pertumbuhannya.

Harimurti, *et al* (2007) standar yang digunakan untuk isolat bakteri asam laktat yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah isolat tersebut harus mampu bertahan pada pH 3. Selama itu kondisi pH yang terendah pada saluran pencernaan diperkirakan pada pH mencapai 2,5. Berdasarkan tabel 5 hasil isolasi bakteri asam laktat dari usus sapi (*Bos taurus*) menunjukkan kedua isolat mampu bertahan dan tumbuh pada pH 2,5 dan 3,0.

Tabel 6. Pertumbuhan total bakteri pada variasi kadar garam

Jumlah Total Bakteri (CFU)		
Variasi kadar garam	Isolat Bakteri	
	sp1.	sp2.
0,5%	10	7
1,0%	20	23
1,5%	17	20
2,0%	5	7
2,5%	0	5

Uji ketahanan isolat sp₁ dan sp₂ terhadap variasi kadar garam pada tabel 6 menunjukkan hasil bahwa isolat BAL mampu hidup pada media dengan konsentrasi garam 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,0% sedangkan sp₁ diketahui tidak lagi mampu hidup pada pH 2,5%. Isolat sp₂ mampu bertahan pada media dengan kadar garam 2,5% yaitu sebanyak 5 CFU. Perbedaan kemampuan viabilitas sp₁ dan sp₂ terhadap kadar garam disebabkan adanya perubahan struktur membran sel dan sifat permeabilitas sel yang terjadi akibat enzim lipolitik yang disekresikan pankreas bereaksi dengan asam lemak pada membran sitoplasma. Bakteri yang tahan terhadap garam empedu tidak mengalami permeabilitas seluler dan tidak mengalami kebocoran materi intraseluler akibat dari terkikisnya lipid oleh garam empedu sehingga bakteri mampu bertahan dan mengalami peningkatan populasi (Begley *et al.*, 2006).

Widodo (2017) menyatakan bahwa terdapat hubungan antara komposisi asam lemak dinding sel bakteri dan kemampuannya untuk dapat bertahan terhadap garam empedu. Cairan empedu merupakan campuran dari asam empedu, kolesterol, asam lemak, fosfolipid dan pigmen empedu. Kombinasi tersebut bersifat bakterisidal bagi mikrobia komensal dalam tubuh manusia, kecuali bagi beberapa genus penghuni usus yang tahan terhadap empedu.

Sunaryanto (2013) menyatakan bahwa isolat *Lactobacillus sp.* asal dadih susu kerbau, mampu bertahan pada konsentrasi garam empedu 0,5% dan mampu bertahan pada pH 2.

Menurut Sivram PL dan Vishwanath (2012) menyatakan bahwa salah satu syarat mikroba yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah mampu bertahan pada konsentrasi garam empedu paling tidak 0,3% dan pH 2. Hal ini

disebabkan bahwa kondisi dalam saluran pencernaan mengandung garam empedu rata-rata 0,3% dan dengan tingkat keasaman pH 2.

Dengan demikian kedua isolat bakteri asam laktat yaitu sp₁. dan sp₂. yang diisolasi dari usus sapi (*Bos taurus*) ini berpotensi untuk dapat dimanfaatkan sebagai agensia probiotik.

4.4. Kemampuan Isolat BAL dalam menghambat bakteri patogen

Kemampuan isolat BAL dalam menghambat bakteri patogen ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Nilai rata-rata diameter zona hambat dari isolasi bakteri sp₁. dan sp₂. dalam menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Shigella sp.* dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Diameter rata-rata zona hambat hasil uji antagonis BAL terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Shigella sp.*

Kode Isolat	Rata-rata diameter zona hambat (mm)	
	<i>Escherici coli</i>	<i>Shigella sp.</i>
sp ₁ .	7,5 mm	6,8 mm
sp ₂ .	8,9 mm	8,0 mm

Sutrisna (2012), menyatakan bahwa kategori penghambatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yaitu diameter 8,5-10 mm respon hambatan pertumbuhan sedang, diameter 10,2-20 mm respon hambatan pertumbuhan kuat dan diameter >20 mm respon hambatan pertumbuhan sangat kuat. Berdasarkan tabel 6 isolat yang diuji aktifitas antibakteri dari bakteri asam laktat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan *Shigella sp.* Hal ini menunjukkan bahwa bakteri asam laktat dari usus sapi mampu menghasilkan daya hambat atau sebagai antibakteri.

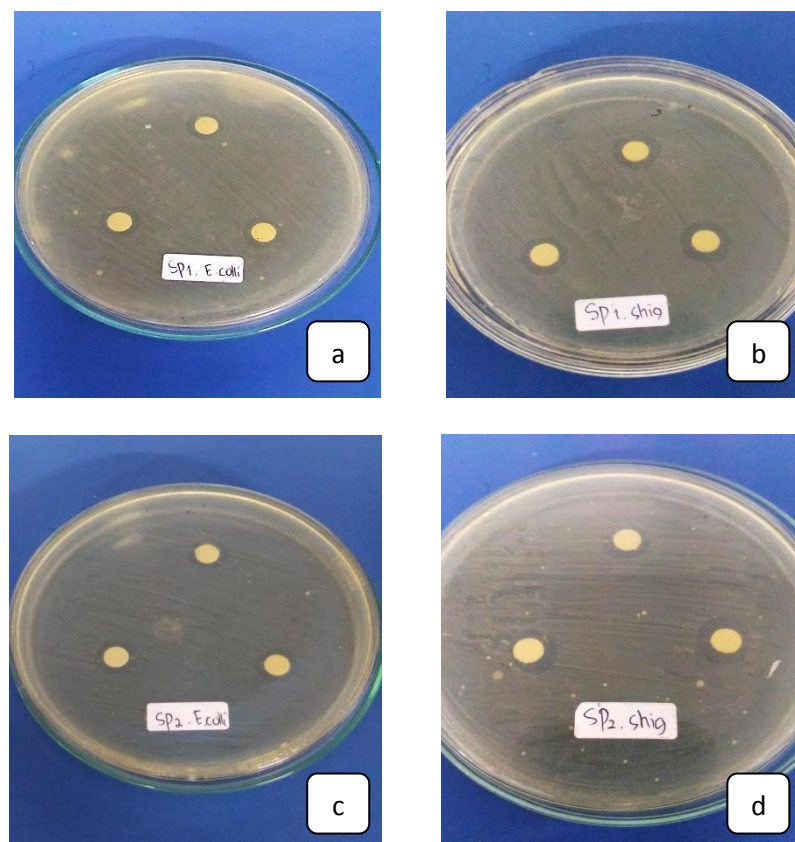
Menurut Susanti, *dkk.*, (2007) salah satu kriteria yang diinginkan dari bakteri asam laktat yang digunakan sebagai kultur probiotik adalah kemampuannya untuk menghambat bakteri patogen sehingga mampu berkompetisi dengan bakteri patogen untuk mempertahankan keseimbangan mikroflora normal usus. BAL umumnya menghasilkan sejumlah besar asam laktat, asam asetat dan etanol serta sejumlah kecil asam organik lainnya dari fermentasi substrat energi karbohidrat. Senyawa organik inilah yang diketahui merupakan senyawa antimikroba yang penting.

Tahap pengujian aktivitas antimikroba BAL bertujuan untuk menyeleksi isolat berdasarkan aktivitas senyawa antimikrobanya dan pengaruhnya terhadap bakteri uji yang patogen. Selain senyawa organik utama seperti asam laktat dan asam asetat, BAL juga diketahui menghasilkan senyawa lainnya yang juga bersifat antagonistik dan memiliki spektrum penghambatan yang cukup luas. Senyawa tersebut dihasilkan dalam jumlah lebih sedikit, diantaranya asam format, asam lemak bebas, amonia, etanol, hidrogen peroksida, diasetil, antibiotik, enzim yang bersifat bakteriolitik dan bakteriosin (Setianingsih, 2010).

Berdasarkan tabel 7 memperlihatkan aktivitas antimikroba isolat sp₁. dan sp₂. terhadap *Eschericia coli* dan *Shigella sp.* dengan nilai yang bervariasi. Nilai zona hambat terbesar terhadap *E.coli* ditunjukkan oleh sp₂. yaitu 8,9 mm. Sedangkan nilai zona hambat terbesar terhadap *Shigella sp.* ditunjukkan oleh sp₂. yaitu sebesar 8 mm.

Menurut Misgiyarta dan Widowati (2002), bakteri asam laktat dinyatakan memiliki kemampuan unggul apabila menghasilkan zona hambat terbesar, semakin besar zona hambat yang terbentuk maka semakin unggul pula bakteri

asam laktat itu dalam menghambat aktifitas hidup bakteri uji. Kemampuan penghambatan dimungkinkan karena adanya substansi antimikroba (asam laktat maupun bakteriosin) yang dapat menghambat pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Shigella sp.* Selanjutnya perbedaan aktifitas hambat dimungkinkan karena adanya perbedaan metabolisme glukosa yang dihasilkan bakteri asam laktat, ada yang bersifat homofermentatif dan heterofermentatif, serta sifat bakteriosin yang hanya mampu menghambat bakteri tertentu (Rinto, *et al.*, 2010).



Gambar 10. Zona hambat isolat BAL terhadap *E.coli* dan *Shigella sp.*
(a). *E.coli* pada isolat sp₁. (b). *Shigella sp.* pada isolat sp₁.
(c). *E.coli* pada isolat sp₂. (d). *Shigella sp.* pada isolat sp₂.
(Sumber : Koleksi pribadi).

Hasil penelitian Setianingsih (2010), menunjukkan bahwa isolat BAL yang diisolasi dari ASI keseluruhan isolat BAL yang diuji oleh *Eschericia coli* dan *Salmonella sp.* menunjukkan sifat antagonistik yang relatif tinggi dengan rata-rata

penghambatan sebesar 10,7 mm terhadap *Eschericia coli* dan penghambatan sebesar 8,0 mm terhadap *Salmonella sp.*

Berdasarkan penelitian di atas, membuktikan bahwa isolat bakteri yang diisolasi dari usus sapi ditemukan adanya bakteri asam laktat, dimana senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat terbukti memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Shigella sp.*

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh simpulan sebagai berikut :

- a. Diperoleh 2 jenis isolat BAL dari usus sapi (*Bos taurus*), yaitu sp₁. dan sp₂.
- b. Zona hambat terbesar dalam menghambat bakteri *Eschericia coli* dan *Shigella sp.* ditunjukkan oleh isolat bakteri sp₂. dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 8,9 mm dan sebesar 8,0 mm.

5.2. Saran

Adapun saran untuk peneliti selanjutnya yaitu, penelitian ini perlu dikembangkan lagi dengan mengidentifikasi isolat bakteri asam laktat yang diperoleh hingga ke tingkat spesies, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi lain yang dimiliki oleh isolat bakteri asam laktat dan perlu dilakukan penelitian karakteristik substansi antimikroba yang dihasilkan isolat bakteri asam laktat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anastiawan. 2014. Isolasi Karakteristik Bakteri Probiotik yang Berasal dari Usus Itik Pedaging *Anas domesticus*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Andiani, W. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kerbau asal Kabupaten Enrekang. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Alauddin Makasar. Makasar.
- Amaliah, Z.Z.N., Bahri, S., dan Amelia, P. 2018. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta. *Jurnal Farmasi*. 5 (1) : 253-257.
- Bergey's, D.H. 1993. Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed. USA: Baltimore-Maryland.
- Begley, M., C. G. M. Gahan, and C. Hill. 2006. Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 : 1729-1738.
- Candra, J.I. 2006. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Produk Bekasam Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). *Skripsi*. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Cappucino, J. G & Sherman, N. 2002. Microbiology A Laboratory Manual. 8th Ed. Addison Wesley Publishing Company.
- Ed-har, A.A., Widyastuti, R., dan Djajakirana, G. 2017. Isolasi dan Identifikasi Mikroba Tanah Pendegradasi Selulosa dan Pektin dari Rhizosfer *Aquilaria malaccensis*. Alumni Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB. Bogor. *Jurnal Lahan*. 1 (1) : 58-64.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. Jakarta : Gramedia Pustaka Umum.
- Fitriyah, N.L. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Rumput Kebar (*Biphytum sp.*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Hastang dan Asnawi, A. 2014. Analisis Keuntungan Peternak Sapi Potong Berbasis Peternakan Rakyat di Kabupaten Bone. Dosen Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makasar. *Jurnal*. 1(1) : 240-252.
- Harimurti, S., Endang, S.R., Nasroedin dan Kurniasih. 2007. Bakteri Asam Laktat dari Intestin Ayam Sebagai Agensia probiotik. *Animal Production*. 9 (2) : 82-91.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta : Gramedia.

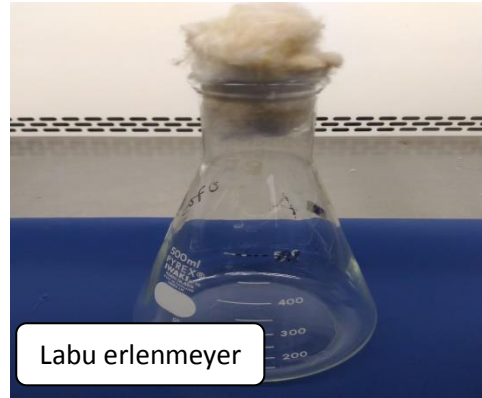
- Ibrahim, A., Fridayanti, A. dan Delvia, F. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica L.*). Laboratorium Penelitian dan Pengembangan FARMAKA TROPIS Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman Samarinda. Kalimantan Timur. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1 (2) : 159-163.
- Jamin, F., Abrar, M., Dewi, M., S.V.S, Yanrivina., Fakhrurran., Manaf, Z.H dan Syafruddin. 2015. Infeksi Bakteri *Eschericia coli* Pada Anak Ayam Kampung (*Gallus domesticus*) di Pasar Lambaro Aceh Besar. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. *Jurnal Medika Veterinaria*. 9 (1). 2015.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20*. Jakarta : EGC.
- Kadir, I.R. 2016. Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) Kandidat Probiotik Asal Saluran Pencernaan DOC Broiler Terhadap Berbagai Kondisi Asam lambung. *Skripsi*. Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Alauddin Malang.
- Laily, I.N., Utami, R. Dan Widowati, E. 2013. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawi Asin. Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret Surakarta. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2 (4).
- Lestari, L.A dan Helmyati, S. 2015. Peran Probiotik di Bidang Gizi dan Kesehatan. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Muslim, G., Sihombing, J.E., Fauziah, S., Abrar, A., dan Fariani, A. 2014. Aktivitas Proporsi Berbagai Cairan Rumen dalam Mengatasi Tanin dengan Teknik In Vitro. Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Palembang. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*. 3 (1) : 25-36.
- Mutmainnah, H., Gobel, R.B., Djide, N., dan Dwyana, Z. 2014. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung *Gallus domesticus*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam universitas Hasanuddin. Makassar. *Jurnal Sains*.
- Misgiyarta dan Widowati, S. 2002. Seleksi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat Indigenous. Balai Penelitian Biogenik dan Sumber Daya Genetik Pertanian Bogor.
- Novianti, D. 2015. Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri *Shigella dysentriae*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas PGRI Palembang. *Jurnal Sainmatika*. 12 (1) : 1-7.
- Pamungkas, D. dan Anggraeny, Y.N. 2006. Probiotik Dalam Pakan Ternak Ruminansia. Loka Penelitian Sapi Potong, Jl. Pahlawan No. 2 Grati, Pasuruan 67184. *Jurnal WARTAZOA*. 16 (2). 2006.

- Prasaja, D., Darwis, W dan Astuti, S. 2014. Uji Efektivitas Kombinasi Ekstrak Kulit Batang dan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Sebagai Antibakteri *Shigella dysenteriae*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 12 (2) : 83-91.
- Puspawati, N.N., Nuraida, L., Adawiyah, D.R. 2010. Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung untuk mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Air Susu Ibu pada Proses Pengeringan Beku. *Jurnal Teknologi Industri Pangan*. 1 : 59-65.
- Pelczar, M.J. & E. C. S. Chan. 2007. Dasar-dasar Mikrobiologi. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Rohdiana, D., Arief, D.Z., dan Budiman, A. 2012. Aktivitas Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli* oleh Berbagai Jenis teh dan Seduhannya. Fakultas Teknik Universitas Pasundan Bandung. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*. 16 (1) : 37-44.
- Rianto, E dan Purbowati, E. 2010. Panduan Lengkap Sapi Potong. Penerbit Penebar Swadaya, Semarang.
- Rinto, Sasanti, A.D., dan Fitria, K. 2010. Bakteri Asam Laktat dari Pencernaan Nila dan Tongkol yang Berpotensi Menghambat Bakteri Pembusuk, Pembentuk Histamin dan Patogen pada Produk Perikanan. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya. *Prosiding Seminar Nasional*.
- Sutrisna, R., Ekowati, N dan Rahmawati, D. 2012. Uji Daya Hambat Isolat Bakteri Asam Laktat usus Itik (*Anas domesticus*) Pada Bakteri Gram Positif dan Pola Pettumbuhan Isolat Bakteri Usus Itik Pada Media *Mrs Broth*. Fakultas Pertanian Unila Bandar Lampung. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 13 (1) : 52-59.
- Susanti, I., Kusmaningtyas, R.W. dan Naningtyas, F. 2007. Uji Sifat Probiotik Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Bahan Pangan Fungsional. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Bioindustri – BPPT Jakarta. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 18 (2).
- Situmeang, S.M.F., Musthari dan Riadi, S. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yoghurt dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli* dan *Salmonella typhi*. Politeknik Kesehatan Kemenkes RI Jurusan Analis Kesehatan Medan. *Jurnal Biosains*. 3 (3).
- Santoso, B., Maunatin, A., Hariadi, BT dan Abubakar, H. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Rumput Raja (*Pennisetum purpureophoides*) sebagai Kandidat Probiotik pada Ternak. Fakultas Peternakan Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Negeri Papua. *Jurnal IIV*. 18 (2) : 131-137.
- Supandi, T dan Wardah. 2014. Mikrobiologi Pangan. Penerbit ANDI, Yogyakarta.

- Sudarmono, A.S dan Sugeng, Y.B. 2008. Pemeliharaan Perbaikan Produksi Prospek Bisnis dan analisis Penggemukan Sapi Potong. Penerbit Penebar Swadaya, Semarang.
- Syarif, E.K., dan Harianto, B. 2011. Buku Pintar Beternak dan Bisnis Sapi Perah. PT AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- Setyawan, A.A., Sukanto dan Widyastuti, E. 2014. Populasi Bakteri Asam Laktat Pada Budidaya Ikan Nila yang Diberi Pakan Fermentasi Limbah Pertanian dengan Suplemen Enceng Gondok dan Probiotik. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokarta. *Jurnal Scripta Biologica*. 1 (1) : 91-95.
- Susilawati, S. 2016. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Air Cucian Beras. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.
- Setianingsih, S. 2010. Kajian Senyawa Antimikroba Bakteri Asam Laktat Homofermentatif Isolat ASI. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sunaryanto, R., dan Marwoto, B. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih Susu Kerbau. Balai Pengkajian Bioteknologi BPP Teknologi Kawasan PUSPIPTEK Serpong Tangerang Banten. *Jurnal Saintek dan Teknologi Indonesia*. 14 (3) : 228-233.
- Surono, I.S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Tambunan, A.R. 2016. Karakteristik Probiotik Berbagai Jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas (*Ananas sativus*). *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Talib, C., dan Siregar, A.R. 1991. Peranan Pemuliaan Ternak Potong di Indonesia. Balai Penelitian Ternak Ciawi. *Jurnal WARTAZOA*. 2 (1-2).
- Widodo, Dr. 2017. Bakteri Asam Laktat Strain Lokal. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- WHO. 2013. *Ending preventable deaths from pneumonia and diarrhoea by 2025*. Diperolehdari http://www.who.int/maternal_child_adolescent/news/2013/gapped_launch/en/index.html. Mei 2013.
- Wibowo, M.H., dan Wahyuni, A.E.T. 2008. Studi Patogenitas *Eschericia coli* Isolat Unggas Pada Ayam Pedaging Umur 15 Hari. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada. *Jurnal Veteriner*. 9 (2): 87-93.
- Yusmarini, Indrati, R., Utami, T., dan Marsono, Y. 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Proteolitik dari Susu Kedelai yang Terfermentasi Spontan. Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Riau. Pekanbaru. *Jurnal Natur Indonesia*. 12 (1) : 28-33.

LAMPIRAN

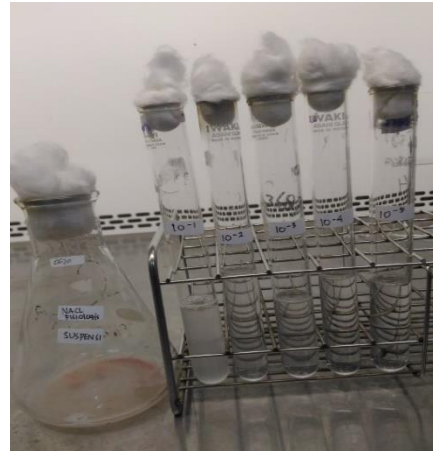
Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian



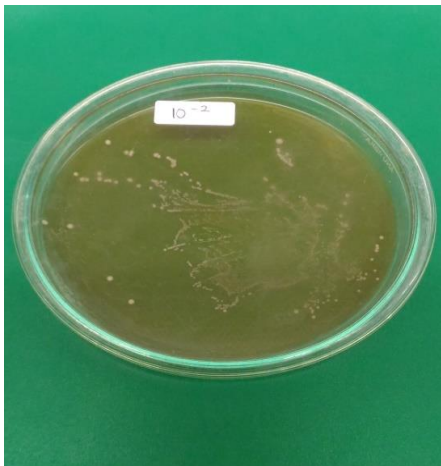
Lampiran 2. Proses Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Sapi (*Bos taurus*)



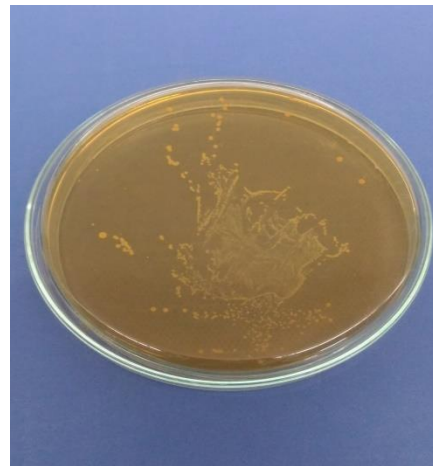
Suspensi Sampel Usus Sapi



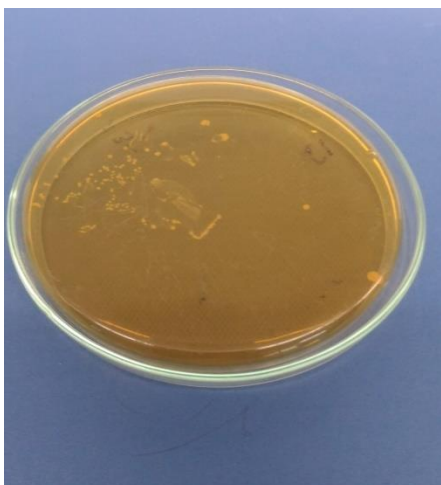
Proses Pengenceran



Isolat BAL Pada Pengenceran 10^{-2}



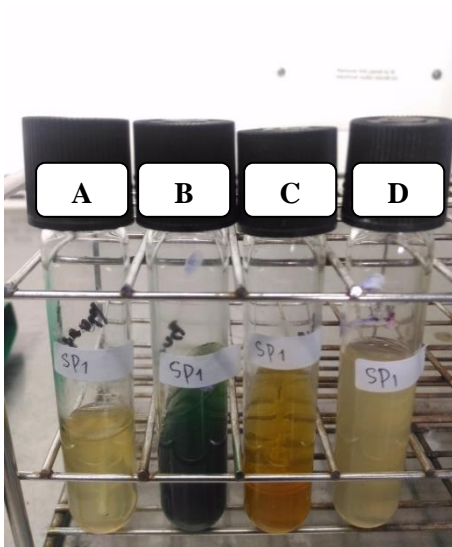
Biakan Campuran Isolat BAL



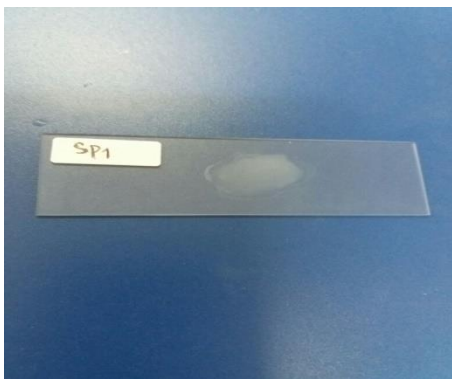
Biakan Campuran Isolat BAL

Lampiran 3. Uji Biokimia

Isolat bakteri sp₁

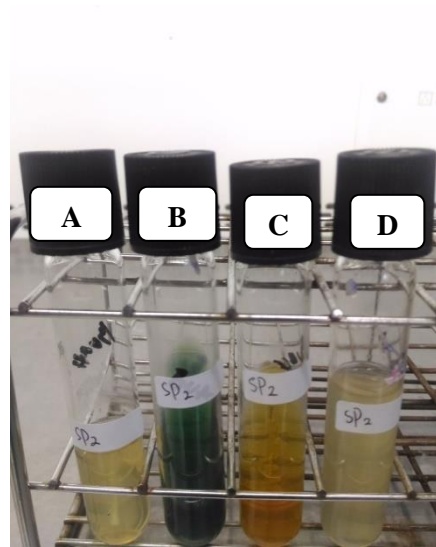


- (A) : Uji Motilitas
- (B) : Uji Sitrat
- (C) : Uji Fermentasi Karbohidrat
- (D) : Uji Hidrolisis Gelatin



Uji Katalase (+) pada sp₁

Isolat bakteri sp₂

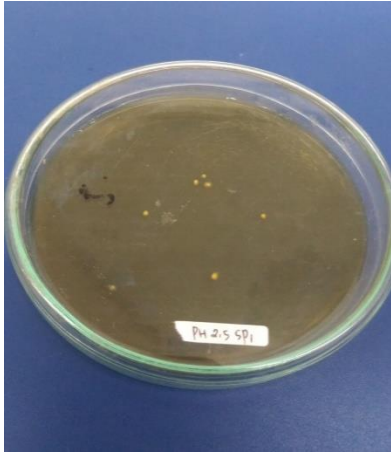


- (A) : Uji Motilitas
- (B) : Uji Sitrat
- (C) : Uji Fermentasi Karbohidrat
- (D) : Uji Hidrolisis Gelatin

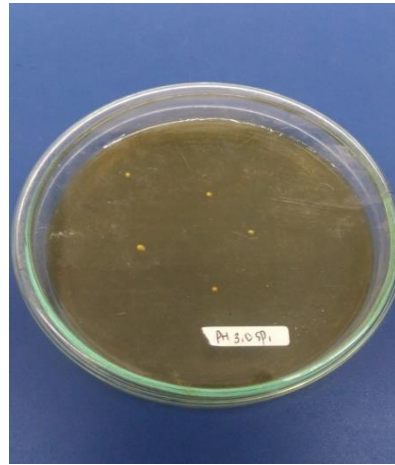


Uji Katalase (-) pada sp₂

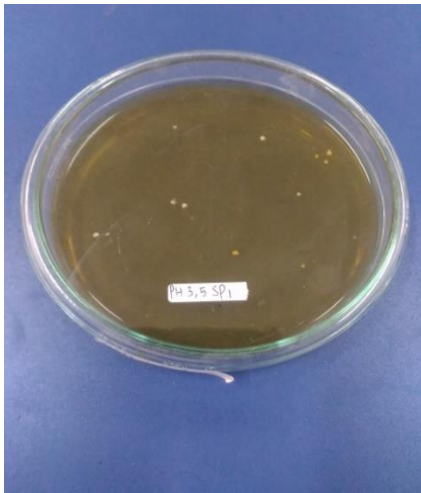
Lampiran 4. Hasil Uji Ketahanan Isolat BAL Terhadap Variasi pH



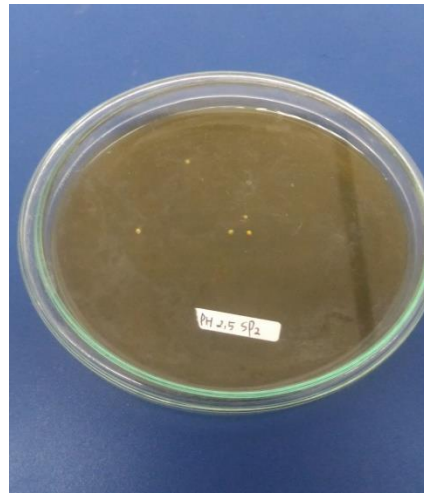
pH 2,5 pada Isolat bakteri sp₁



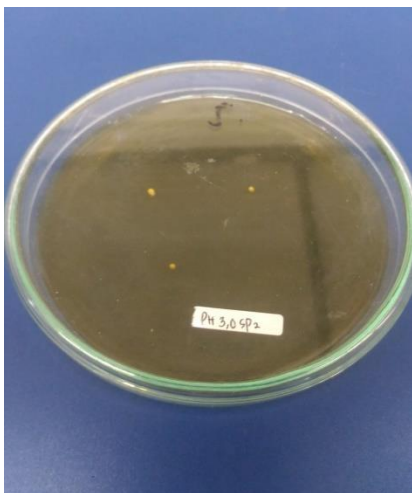
pH 3,0 pada Isolat bakteri sp₁



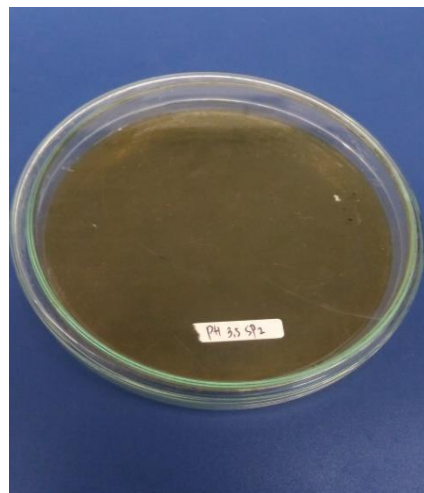
pH 3,5 pada Isolat bakteri sp₁



pH 2,5 pada Isolat bakteri sp₂

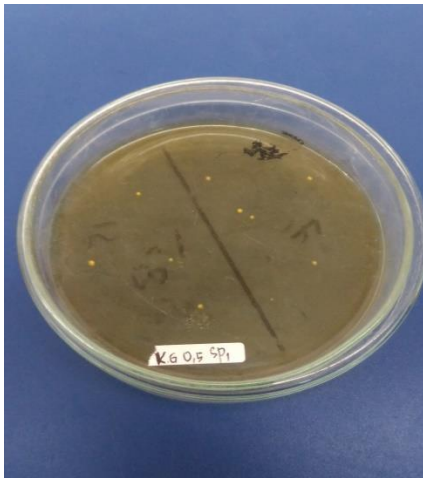


pH 3,0 pada Isolat bakteri sp₂

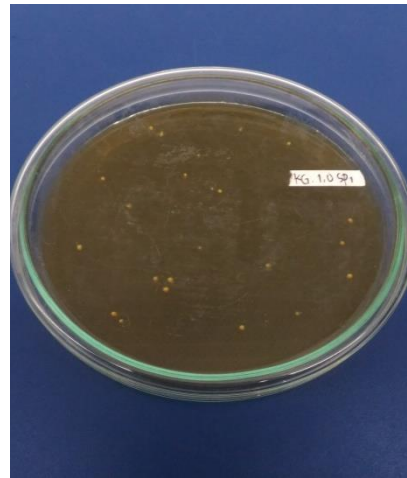


pH 3,5 pada Isolat bakteri sp₂

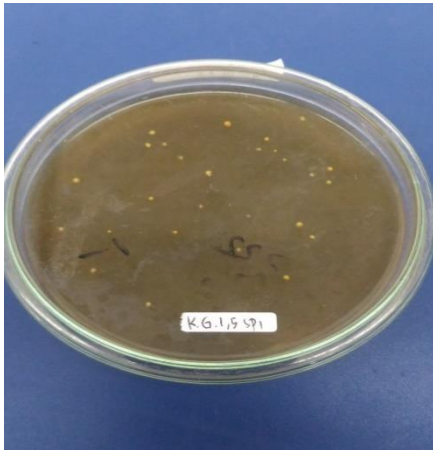
Lampiran 5. Hasil Uji Ketahanan Isolat BAL Terhadap Variasi Kadar Garam



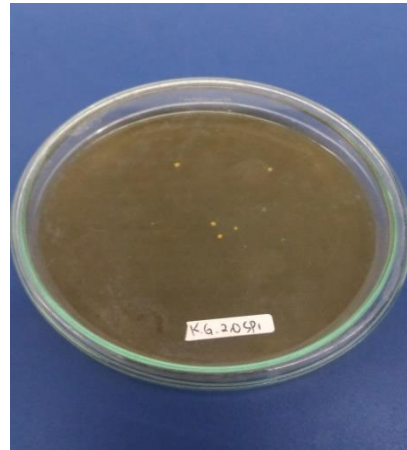
Kadar Garam 0,5% pada Isolat sp₁



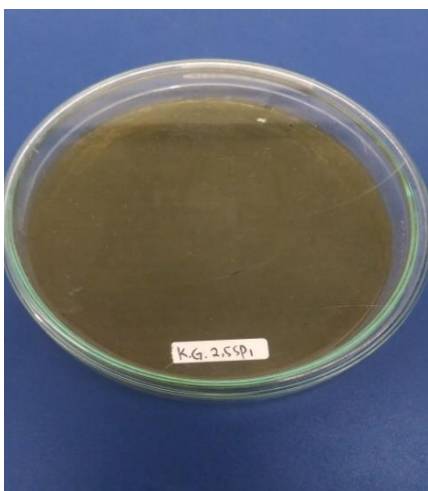
Kadar Garam 1,0% pada Isolat sp₁



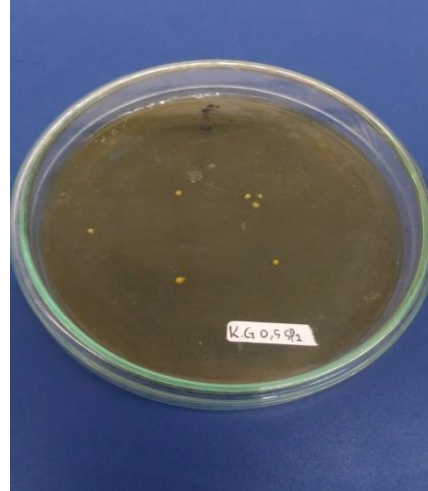
Kadar Garam 1,5% pada Isolat sp₁



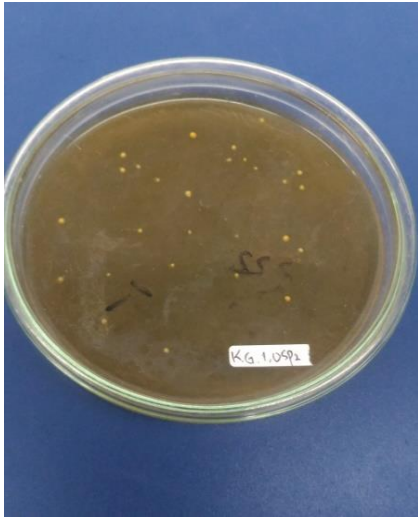
Kadar Garam 2,0% pada Isolat sp₁



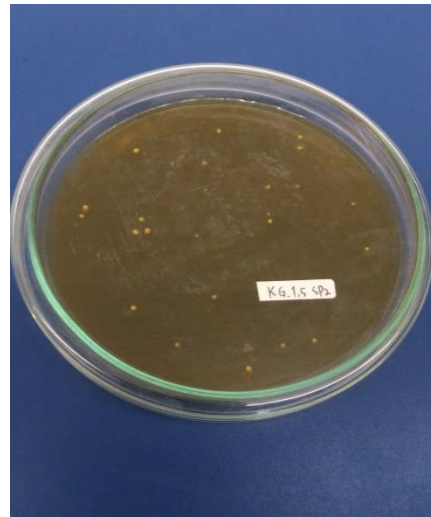
Kadar garam 2,5% pada Isolat sp₁



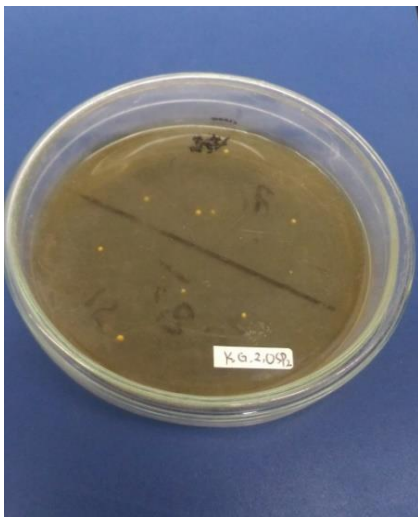
Kadar Garam 0,5% pada Isolat sp₂



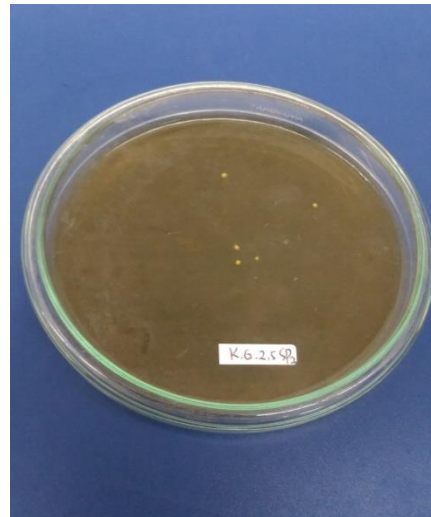
Kadar Garam 1,0% pada Isolat sp₂



Kadar Garam 1,5% pada Isolat sp₂



Kadar Garam 2,0% pada Isolat sp₂



Kadar Garam 2,5% pada Isolat sp₂