

**UJI POTENSI SENYAWA ANTIBAKTERI DARI ISOLAT BAKTERI
ASAM LAKTAT AYAM BURAS *Gallus domesticus* ASAL PESISIR
KABUPATEN PANGKEP SECARA IN SILICO**

ZIA ASSYA' ATUR ROHMA

H041181031



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

**UJI POTENSI SENYAWA ANTIBAKTERI DARI ISOLAT BAKTERI
ASAM LAKTAT AYAM BURAS *Gallus domesticus* ASAL PESISIR
KABUPATEN PANGKEP SECARA IN SILICO**

*Skripsi Ini Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Program Studi S1 Biologi Departemen Biologi Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin*

**ZIA ASSYA' ATUR ROHMA
H041181031**

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI POTENSI SENYAWA ANTIBAKTERI DARI ISOLAT BAKTERI
ASAM LAKTAT AYAM BURAS *Gallus domesticus* ASAL PESISIR
KABUPATEN PANGKEP SECARA IN SILICO**

Disusun dan diajukan oleh

ZIA ASSYA' ATUR ROHMA

H041 18 1031

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Biologi Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 01 Februari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Dirayah R. Husain, DEA.

NIP 196005251986012001

Pembimbing Pertama

Dr. Nur Haedar, S.Si., M. Si.

NIP 196801291997022001

Ketua Program Studi
Dr. Magdalena Litany, M.Sc
NIP 196409291989032002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zia Assya' Atur Rohma

NIM : H041181031

Program Studi : Biologi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa skripsi dengan judul:

**Uji Potensi Senyawa Antibakteri dari Isolat Bakteri Asam Laktat Ayam
Buras *Gallus domesticus* Asal Pesisir Kabupaten Pangkep Secara In Silico**

adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 01 Februari 2023

Yang Menyatakan



Zia Assya' Atur Rohma

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah *Subhanah wa Ta'ala*, yang telah memberikan ridha serta karunia-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi dengan judul “Uji Potensi Senyawa Antibakteri dari Isolat Bakteri Asam Laktat Ayam Buras *Gallus domesticus* Asal Pesisir Kabupaten Pangkep Secara In Silico” sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan program pendidikan sarjana (S1) di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Makassar.

Proses penyelesaian skripsi ini merupakan serangkaian perjuangan yang cukup panjang bagi penulis. Tanpa bantuan, motivasi, dan doa dari berbagai pihak, penulis tidak dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik-baiknya. Oleh karena itu penulis sangat bersyukur dan mengucapkan banyak-banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah banyak membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada keluarga besar terkhusus kepada kedua orang tua, Ayahanda Moh. Sholeh dan Ibunda Zamroh Prihantini, atas konsistensinya dalam membimbing dan membesarkan penulis. Terima kasih kepada Paman Edi Hartono dan Tante Zuiyyina Zahrini yang telah menjadi orang tua kedua bagi penulis, yang telah memotivasi dan membimbing sehingga penulis dapat tumbuh besar seperti sekarang. Terima kasih juga kepada saudara-saudari penulis yaitu Muh. Avil Hidayat, Muh. Arifudin Rosidi, dan Ade Lola Zafira, doa terbaik untuk kalian yang telah menyemangati dan mendukung penulis. Terima

kasih telah banyak memberikan nasihat kepada penulis selama menempuh pendidikan hingga saat ini.

Terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada Ibu Prof. Dr. Hj. Dirayah R. Husain, DEA. Selaku pembimbing utama dan Ibu Dr. Nur Haedar, S.Si, M.Si. selaku pembimbing pertama, atas bimbingan, arahan, waktu dan kesabaran yang telah diberikan kepada penulis mulai dari penyusunan sampai terselesaikannya skripsi ini. Terima kasih atas segala bantuan yang diberikan baik berupa kritik, saran, pikiran maupun motivasi yang membantu penulis selama proses penulisan skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Si., selaku Rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
2. Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Sc selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, beserta seluruh staf yang telah membantu penulis dalam hal akademik dan administrasi.
3. Ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc., selaku Ketua Departemen Biologi, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Penulis mengucapkan terima kasih atas ilmu, masukan, saran, dan dukungannya.
4. Ibu Dr, Markarmah, M.Si., selaku Penasehat Akademik (PA) yang telah memberikan dukungan dan bimbingan kepada penulis selama studi hingga penyusunan skripsi ini, dan Ibu Dr. Elis Tambaru, M.Si., selaku Dosen Penguji, terima kasih atas segala arahan dan saran yang telah diberikan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
5. Bapak/Ibu Dosen Departemen Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis, baik pada waktu perkuliahan maupun saat penelitian dan penyelesaian skripsi ini.

6. Kak Fuad, S.Si dan kak Rihuh Wardhani, S.Si, M.Si., terima kasih sebesar-besarnya atas segala bimbingan, bantuan, saran, dan ilmunya selama proses perkuliahan, penelitian, hingga penyusunan skripsi ini.
7. Teman-teman Biologi angkatan 2018, terima kasih atas kerja sama dan dukungannya selama ini, semoga kesuksesan menghampiri kita semua.
8. Teman-teman seperjuangan di Lab. Mikrobiologi, yaitu saudari Ni Putu Shintia Reski dan saudara Shamad. Terima kasih atas segala loyalitas, waktu, usaha, dan ilmunya selama penelitian, doa terbaik untuk kalian.
9. Teman-temanku, Ni Putu Shintia Reski, Mutia Putri, dan Dian Islamiah. penghargaan tertinggi untuk kalian selaku *support system* baik selama masa studi, penelitian, sampai terselesaikannya skripsi ini. Semoga kita semua bisa sukses bersama. Juga kepada Andi Saripada Ardillah dan A. Annisa Salim Kantao, terima kasih atas dukungan dan semangatnya selama penulisan skripsi ini.

Pada akhirnya penulis berterima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Terima kasih sebesar-besarnya atas segala bantuan, dukungan, bimbingan dan do'a yang telah diberikan kepada penulis. Semoga semua bantuan kalian diberikan balasan yang baik oleh Allah *Subhanahu wa Ta'ala*.

Makassar, 01 Februari 2023

Penulis

ABSTRAK

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang memiliki toleransi tinggi untuk pH rendah. Bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari glukosa dan zat penghambat pertumbuhan seperti bakteriosin yang dapat mencegah perkembangbiakan bakteri patogen. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri asam laktat ayam buras *Gallus domesticus* sebagai antibakteri dengan metode *in silico*. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode uji daya hambat *in vitro* dengan menggunakan metode difusi agar dan metode uji *in silico* dengan menggunakan aplikasi molecular docking yaitu PyRx dan Way2Drugs PASS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat PaPJ 1 dan PaPB 3 yang berasal dari ayam buras *Gallus domesticus* pada uji daya hambat secara *in vitro* menunjukkan sifat bakterisidal terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil uji *in vitro* ini kemudian didukung oleh uji *in silico* dan uji Way2Drugs, dimana pada uji *in silico* didapatkan senyawa dengan binding affinity terendah yang dimiliki oleh senyawa Cyclohexane-1,3,5-triphenyl (CH) yang berasal dari isolat PaPJ 1 dan Cyclo(L-Pro-L-Val) (CL) dan Stigmast-4-En-3-One (SM-4) yang berasal dari isolat PaPB 3. Kemudian dilakukan pengujian kembali dengan uji Way2Drugs, hasilnya diperoleh nilai *Probable to be Active* (PA) pada ketiga senyawa dan diketahui bahwa Cyclo(L-Pro-L-Val) (CL) memiliki nilai PA yang paling tinggi diantara ketiganya yaitu 0,329. Pada pengujian potensi senyawa antibakteri isolat PaPJ 1 dan PaPB 3 dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen. Hasil tersebut menunjukkan senyawa bakteri asam laktat ayam buras *Gallus domesticus* berpotensi sebagai agen antibakteri.

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat, Ayam Buras *Gallus domesticus*, Antibakteri, In Silico.

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are bacteria that have a high tolerance to low pH. Lactic acid bacteria produce lactic acid as the main product of glucose and growth-inhibiting substances such as bacteriocins that can prevent the proliferation of pathogenic bacteria. The purpose of this study was to determine the ability of isolates of lactic acid bacteria of *Gallus domesticus* as antibacterials by the in silico method. This study was conducted using the in vitro inhibitory power test method using the agar diffusion method and the in silico test method using molecular docking applications, namely PyRx and Way2Drugs PASS. The results showed that PaPJ 1 and PaPB 3 isolates derived from free-range chicken *Gallus domesticus* in the in vitro inhibitory power test showed bactericidal properties against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The results of this in vitro test were then supported by the in silico test and the Way2Drug test, where in the in silico test, the compound with the lowest affinity binding owned by the Cyclohexane-1,3,5-triphenyl (CH) compound derived from PaPJ 1 and Cyclo (L-Pro-L-Val) (CL) and Stigmast-4-En-3-One (SM-4) isolates derived from PaPB 3 isolates was obtained. Then tested again with the Way2Drugs test, the results obtained Probable to be Active (PA) values in the three compounds and it was found that Cyclo (L-Pro-L-Val) (CL) had the highest PA value among the three, namely 0.329. In testing the potential of antibacterial compounds isolates PaPJ 1 and PaPB 3 can produce bioactive compounds that are able to inhibit the growth of pathogenic bacteria. The results showed that the lactic acid bacterial compound of *Gallus domesticus* has the potential to be an antibacterial agent.

Keywords: Lactic Acid Bacteria, *Gallus domesticus*, Antibacterial, In Silico.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Bakteri Asam Laktat.....	4
II.1.1 Karakteristik Bakteri Asam Laktat	4
II.1.2 Jenis-Jenis Bakteri Asam Laktat	5
II.1.3 Habitat Bakteri Asam Laktat	7
II.1.4 Mekanisme Pembentukan Asam Laktat	8
II.2 Probiotik	10
II.2.1 Manfaat dan Peran Probiotik	13

II.3 Gass Chromatograpy-Mass Spectrometry (GC-MS).....	14
II.4 In Silico	15
BAB III METODE PENELITIAN	17
III.1 Alat.....	17
III.2 Bahan	17
III.3 Cara Kerja	17
III.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	17
III.3.2 Pembuatan Media.....	18
III.3.3 Pengujian Antibakteri Dengan In Vitro	18
III.3.4 Ekstraksi Bakteri Asam Laktat.....	20
III.3.5 Analisis Senyawa Antibakteri	20
III.3.6 Pengujian Antibakteri Dengan Metode In Silico	21
III.3.7 Analisis Data	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
IV.1 Uji Daya Hambat Secara In Vitro	23
IV. 2 Ekstraksi Bakteri Asam Laktat	32
IV. 3 Analisis Senyawa Antibakteri.....	33
IV. 4 Uji In Silico.....	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	50
V.1 Kesimpulan.....	50
V.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Hambat (Menggunakan <i>Blank Disk</i>) Pada Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri <i>S.aureus</i> dan <i>E. coli</i> inkubasi 1x24 jam	25
Tabel 2. Hasil Pengukuran Zona Hambat (Menggunakan <i>Blank Disk</i>) Pada Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> inkubasi 2x24 jam	25
Tabel 3. Hasil Pengukuran Zona Hambat (Menggunakan Pencadang) Pada Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> inkubasi 1x24 jam	26
Tabel 4. Hasil Pengukuran Zona Hambat (Menggunakan Pencadang) Pada Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> inkubasi 2x24 jam	27
Tabel 5. Senyawa-senyawa Hasil Identifikasi GC-MS Isolat PaPJ 1	34
Tabel 6. Senyawa-senyawa Hasil Identifikasi GC-MS Isolat PaPB 3	36
Tabel 7. Hasil Molecular Docking Senyawa Metabolit Bakteri Isolat PaPJ 1	40
Tabel 8. Hasil Molecular Docking Senyawa Metabolit Bakteri Isolat PaPB 3	41
Tabel 9. Hasil Uji Way2Drugs senyawa Cyclohexane-1,3,5-triphenyl	47
Tabel 10. Hasil Uji Way2Drugs senyawa Cyclo(L-prolyl-L-valine).....	47
Tabel 11. Hasil Uji Way2Drugs senyawa Stigmast-4-En-3-One	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Proses Pembentukan Laktosa Menjadi Asam Laktat Melalui Jalur EMP	9
Gambar 2. Mekanisme Utama Probiotik	12
Gambar 3. Hasil Uji Daya Hambat Isolat PaPJ 1 dan PaPB 3 (Menggunakan <i>Blank Disk</i>) inkubasi 1x24 jam	24
Gambar 4. Hasil Uji Daya Hambat Isolat PaPJ 1 dan PaPB 3 (Menggunakan <i>Blank Disk</i>) inkubasi 2x24 jam	25
Gambar 5. Hasil Uji Daya Hambat Isolat PaPJ 1 dan PaPB 3 (Menggunakan Pencadang) inkubasi 1x24 jam	26
Gambar 6. Hasil Uji Daya Hambat Isolat PaPJ 1 dan PaPB 3 (Menggunakan Pencadang) inkubasi 2x24 jam	26
Gambar 7. Hasil Evaporasi Supernatan Isolat Bakteri PaPJ 1 dan PaPB 3	33
Gambar 8. Hasil Analisis GC-MS Isolat PaPJ 1	34
Gambar 9. Hasil Analisis GC-MS Isolat PaPB 3	36
Gambar 10. Visualisasi interaksi Ligan (Senyawa Kontrol) – Makromolekul (Reseptor)	42
Gambar 11. Visualisasi interaksi Ligan (Senyawa Kontrol) Isolat PaPJ 1 – Makromolekul (Reseptor)	43
Gambar 12. Visualisasi interaksi Ligan (Senyawa Kontrol) Isolat PaPB 3 – Makromolekul (Reseptor)	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Uji Bakteri Asam Laktat Ayam Buras <i>Gallus domesticus</i>	58
Lampiran 2. Uji Daya Hambat Secara In-Vitro	59
Lampiran 3. Ekstraksi Bakteri Asam Laktat	60
Lampiran 4. Alur Pengujian In-Silico	61
Lampiran 5. Dokumentasi Pembuatan Stok dan Kultur Isolat Bakteri Asam <i>Laktat</i>	62
Lampiran 6. Dokumentasi Uji Daya Hambat Bakteri	63
Lampiran 7. Dokumentasi Ekstraksi Bakteri Asam Laktat	65
Lampiran 8. Hasil Analisis GC-MS	66
Lampiran 9. Hasil Molecular Docking.....	70
Lampiran 10. Visualisasi Hasil Molecular Docking	72

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Bakteri asam laktat merupakan sekelompok bakteri Gram-positif, tidak membentuk spora, kokus atau batang, organisme katalase-negatif, dan memiliki toleransi tinggi untuk pH rendah. Bakteri asam laktat termasuk mikroba terpenting yang digunakan dalam fermentasi makanan, serta dalam meningkatkan rasa dan tekstur pada produk makanan fermentasi. Menurut Khalid (2011), bakteri asam laktat memiliki pertumbuhan optimum pada pH 5,5-5,8. Bakteri asam laktat memiliki ciri yaitu menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari glukosa dan zat penghambat pertumbuhan seperti bakteriosin yang dapat mencegah perkembangbiakan bakteri dan patogen pembusuk makanan.

Bakteri asam laktat dapat ditemukan dalam bahan makanan yang membusuk, dalam produk susu, daging dan ikan yang difermentasi, acar sayuran, minuman fermentasi, jus, limbah, dan di rongga mulut manusia dan hewan, serta dalam saluran pencernaan manusia dan hewan. Pada manusia, bakteri asam laktat ini terutama menghuni rongga mulut, saluran pencernaan, dan merupakan organisme dominan yang terdapat pada genital manusia dan hewan (Todorov, 2009; Djadouni dan Kihal, 2012; Mokoena, 2017).

Beberapa bakteri asam laktat memiliki manfaat dalam bidang kesehatan sehingga dapat digunakan sebagai probiotik. Probiotik merupakan suatu istilah yang digunakan pada mikroorganisme hidup yang apabila diberikan dalam jumlah memadai akan dapat bermanfaat bagi kesehatan inangnya. Probiotik ini merupakan bakteri yang berpotensi untuk meningkatkan keseimbangan mikroflora

didalam saluran pencernaan. Probiotik memiliki beberapa efek menguntungkan seperti mencegah reaksi bakteri patogen, meningkatkan kekebalan pada hewan, memasok enzim untuk membantu pencernaan, dan menghasilkan antimikroba guna meningkatkan kesehatan hewan. Berdasarkan *GRAS Notice Inventory* (2020), menyatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk dalam bakteri baik dan memenuhi status *Generally Recognized as Safe* (GRAS) yang artinya aman sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agen probiotik.

Kandidat probiotik dapat dipilih dan diisolasi dari saluran pencernaan ayam buras. Persyaratan bakteri sebagai kandidat probiotik antara lain yaitu harus mampu hidup pada suasana asam (pH 3-4) dan garam empedu. Berdasarkan penelitian Yulianto dan Lokapirnasari (2018), yang mampu mengidentifikasi tiga spesies dari *Lactobacillus* diantaranya yaitu *L. plantarum*, *L. acidophilus*, dan *L. casei* yang diisolasi dari saluran gastrointestinal dari *Gallus domesticus* menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki sifat tahan terhadap pH asam dan tahan terhadap garam empedu.

Penelitian lain dilakukan oleh Husain *et al* (2017), yang mengidentifikasi bakteri probiotik dari saluran pencernaan ayam buras *Gallus domesticus*, yang mana isolat bakteri ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang diisolasi memiliki sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, dimana pada masa inkubasi 24 dan 48 jam menghasilkan zona bening. Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut bersifat bakterisida, yang artinya mampu membunuh dan menghentikan proses fisiologis aktifitas bakteri lain.

Penemuan dan di bidang pengembangan obat, metode *in silico* telah digunakan untuk pengembangan obat baru. Dalam proses pengembangan obat, tentunya sangat penting untuk mengevaluasi potensi risiko toksikologis dari kandidat obat dalam penelitian ini yaitu probiotik, untuk mengurangi biaya dan waktu yang digunakan. Uji *in silico* ini dapat digunakan untuk mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target sehingga dapat diprediksi potensi aktifitas dari suatu senyawa yang akan di uji (Patel *et al.* 2020).

Berdasarkan uraian materi di atas maka dilakukan penelitian ini untuk mengetahui potensi senyawa antibakteri dari bakteri asam laktat yang diisolasi dari saluran pencernaan ayam buras *Gallus domesticus* dengan metode *in silico*.

I.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri asam laktat ayam buras *Gallus domesticus* sebagai antibakteri dengan metode *in silico*.

I.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan akan memberikan informasi mengenai kemampuan isolat bakteri asam laktat dari ayam buras *Gallus domesticus* sebagai antibakteri yang dianalisis dengan metode *in silico*.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Agustus sampai dengan November 2022 di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah mikroorganisme Gram-positif, katalase-negatif, secara morfologis sebagai kokus atau batang dan tidak membentuk spora. BAL secara industri digunakan dalam fermentasi untuk meningkatkan rasa dan tekstur makanan dan pakan. Bakteri asam laktat menghasilkan asam organik dan zat penghambat lainnya, termasuk bakteriosin, yang menjaga mikroba pembusuk makanan dan mikroorganisme patogen tetap terkendali. Bakteri asam laktat menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon dan energi tanpa menggunakan oksigen. BAL menghasilkan peroksidase sebagai perlindungan terhadap kerusakan dari produk sampingan oksigen (Mokoena *et al.*, 2021).

Bakteri asam laktat homofermentatif menggunakan karbohidrat hanya untuk menghasilkan asam laktat, sedangkan Bakteri asam laktat heterofermentatif menghasilkan asam laktat dan senyawa lain seperti asam asetat atau alkohol dan karbon dioksida. Peptida antimikroba yang diproduksi oleh spesies BAL terpilih disebut bakteriosin. Bakteriosin yang berasal dari BAL telah menarik minat industri dan ilmiah yang besar sebagai agen biokontrol karena aman dan efisien mencegah kerusakan makanan olahan minimal dengan manfaat perpanjangan umur simpan dan pencegahan kerugian ekonomi (Sidhu dan Nehra, 2019).

II.1.1 Karakteristik Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat termasuk kedalam bakteri Gram-positif. Pada pewarnaan gram sel-sel yang tidak dapat melepaskan warna dan akan tetap berwarna seperti warna kristal violet yaitu biru-ungu disebut bakteri gram positif.

Sedangkan sel-sel yang dapat melepaskan kristal violet dan mengikat safranin sehingga berwarna merah muda disebut bakteri gram negatif. Keadaan ini berhubungan dengan komposisi senyawa penyusun dinding sel. Pada bakteri gram positif mengandung peptidoglikan lebih banyak dan lemak lebih sedikit dibandingkan bakteri gram negatif. Menurut Husain *et al* (2017), bakteri asam laktat memiliki karakteristik yang berbeda-beda tetapi selalu Gram-positif. Dari pengamatan mikroskopis, BAL dapat berbentuk batang, seperti *Lactobacillus*, atau berbentuk kokus, seperti *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, dan *Pediococcus* (Li *et al.* 2016). Bakteri asam laktat dapat memproduksi senyawa antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella sp.* (Sari *et al.* 2013), *Escherichia coli*, dan *Salmonella thypi* (Husain *et al.* 2017) yang ditandai dengan terbentuknya zona bening (zona hambat) dalam masa inkubasi 24 jam.

Kandidat probiotik dari bakteri asam laktat diperlukan untuk bekerja di saluran pencernaan inang. Kandidat probiotik ini dipilih berdasarkan beberapa kriteria, antara lain resistensi terhadap keasaman dan garam empedu (yang dapat merusak dinding sel bakteri) dan enzim atau metabolit yang digunakan sebagai pertahanan (Handa dan Sharma, 2016; Husain *et al.* 2017).

II.1.2 Jenis-Jenis Bakteri Asam Laktat

1. *Lactobacillus*

Lactobacillus telah dilaporkan sebagai probiotik paling menonjol dari kelompok bakteri asam laktat lainnya. *Lactobacillus* membutuhkan karbohidrat, produk pemecahan protein, vitamin, dan biasanya tekanan oksigen rendah. Produk utama fermentasi *Lactobacillus* adalah asam laktat (Teuber, 1993). Perubahan komposisi, keragaman, dan fungsi mikrobiota usus oleh spesies probiotik telah

dipelajari menggunakan alat dan teknik termasuk metode yang bergantung pada kultur dan sekuensing metagenomik. Namun, beberapa penelitian telah menunjukkan hubungan spesies probiotik dengan komposisi mikrobiota usus yang berubah. Analisis metagenomik menunjukkan bahwa pengobatan dengan campuran probiotik *Lactobacillus* dan *Bifdobacterium* (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifdobacterium bifdum*) secara signifikan mengubah komposisi mikrobiota usus. dan peningkatan sensitivitas insulin. Strain probiotik *Lactobacillus* dapat meningkatkan fungsi penghalang gastrointestinal dengan proliferasi beberapa bakteri berbahaya (Karczewski *et al.* 2010; Xue *et al.* 2017).

2. *Pediococcus*

Pediococcus pentosaceus adalah salah satu probiotik umum yang dilaporkan berperan sebagai antibakteri pada inang (Yin *et al.* 2020; Cui *et al.* 2021). Menurut Jiang *et al* (2021), *P. pentosaceus* telah diaplikasikan dalam industri pangan dan digunakan sebagai pemacu pertumbuhan dalam nutrisi hewan. *P. pentosaceus* dapat menghasilkan bakteriosin untuk secara langsung menghambat proliferasi patogen, dan juga dapat mengatur bakteri usus untuk melindungi inang dari patogen. Dalam penelitian baru-baru ini, *P. pentosaceus* SL001 dilaporkan dapat mengubah komposisi mikrobiota usus dan meningkatkan tingkat ekspresi gen terkait kekebalan untuk melindungi ikan mas terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila* (Gong *et al*, 2019; Shan *et al.* 2021).

3. *Leuconostoc*

Schifano *et al* (2021), mengidentifikasi tiga galur *Leuconostoc mesenteroides* melalui uji in vitro dan uji in vivo untuk menyelidiki potensi probiotik dari isolat yang berbeda. *L. mesenteroides* C2 dan *L. mesenteroides* C7

untuk menunjukkan presentase kelangsungan hidup yang tinggi dibawah simulasi kondisi gastrointestinal in vitro dan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* L. *mesenteroides* C2 menunjukkan kemampuan yang lebih tinggi untuk bertahan hidup dalam kondisi pH rendah, mirip dengan strain LGG probiotik.

4. *Enterococcus*

Enterococcus adalah bakteri gram positif dalam asam laktat keluarga bakteri. Beberapa strain *Enterococcus* menimbulkan disbiosis yang diinduksi antibiotik dan bertindak sebagai agen antitumor atau antikanker dan memodulasi sistem kekebalan. Telah ditemukan bahwa kultur strain *E. faecium* dari epitel usus manusia meningkatkan efek bakterisida terhadap *Escherichia coli* enteroagregatif, kerusakan membran, dan lisis sel (Azad *et al.* 2018).

5. *Bifidobacterium*

Bifidobacterium penting dalam studi mikrobiota usus dan telah lama digunakan sebagai probiotik untuk meringankan berbagai penyakit dengan mengubah komposisi mikrobiota usus. Seperti *Lactobacillus* lainnya, *Bifidobacterium* juga dapat menghambat bakteri berbahaya, meningkatkan fungsi penghalang gastrointestinal, dan menekan sitokin pro-inflamasi (Xue *et al.* 2017). Studi terbaru menunjukkan bahwa *Bifidobacterium* mengubah fungsi sel dendritik untuk mengatur homeostasis imun usus terhadap antigen dan bakteri yang tidak berbahaya atau memulai tindakan perlindungan terhadap patogen. Ini juga memiliki potensi untuk mengendalikan berbagai penyakit usus, seperti IBD, kanker, dan alergi (Azad *et al.* 2018).

II.1.3 Habitat Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) ditemukan di habitat yang beragam termasuk makanan dan pakan, air, tanah, dan limbah, serta saluran mulut, pernapasan,

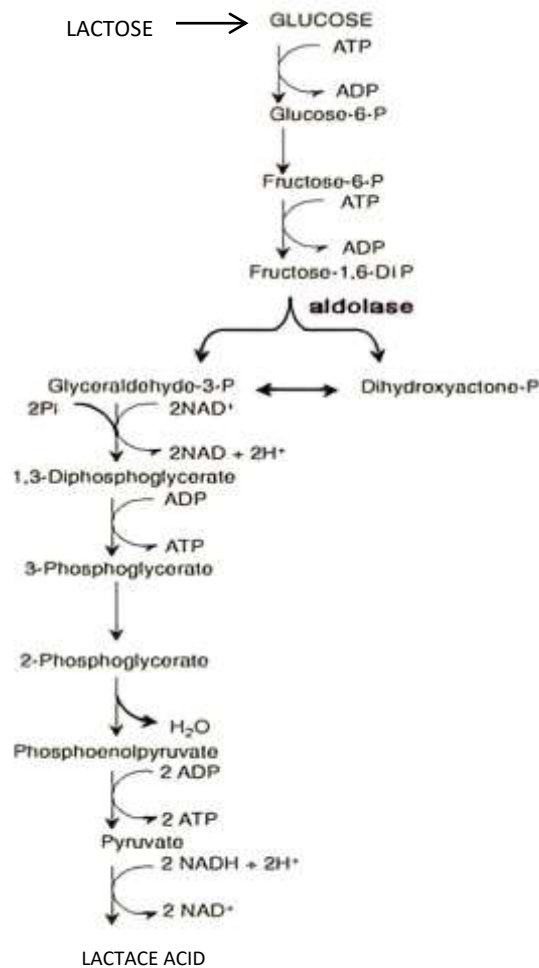
gastrointestinal, dan genital manusia dan hewan, dan di mana pun substrat karbohidrat tersedia (Mokoena *et al.* 2021). Salah satu sumber probiotik yang dapat diisolasi berasal dari hewan yaitu pada saluran pencernaan ayam buras *Gallus domesticus* (Yulianto dan Lokapirnasari, 2018; Husain *et al.* 2020). Sumber bakteri asam laktat yang potensial dapat berasal dari ayam peliharaan yang dipelihara diluar ruangan karena habitatnya di alam bebas memungkinkan tingginya keanekaragaman hayati bakteri di saluran pencernaannya (Husain *et al.* 2020).

Deng *et al* (2021), menyatakan bahwa Probiotik dikenal karena sifatnya yang meningkatkan kesehatan, mempromosikan pemeliharaan integritas epitel usus dan homeostasis sistem kekebalan inang. Saluran gastrointestinal adalah sebuah wadah yang menampung berbagai spesies bakteri, yang biasanya disebut mikroflora gastro-intestinal. Peran signifikan mikroflora gastrointestinal dalam pencernaan, penyerapan, dan fungsi fisiologis lainnya telah diketahui dengan baik. Mikroflora pada usus dapat melindungi inangnya dari patogen dan penyakit radang usus untuk meningkatkan kesehatan usus (Oakley, 2014; Barbosa *et al.* 2016).

II.1.4 Mekanisme Pembentukan Asam Laktat

Proses pembentukan laktosa menjadi asam laktat terjadi mekanisme biokimiawi melalui proses glikolisis/jalur *Embden-Mayerhoff Parnass* (EMP). Berikut adalah skema pembentukan laktosa menjadi asam laktat melalui jalur EMP. Mekanisme biokimiawi pembentukan laktosa menjadi asam laktat dapat diuraikan sebagai berikut: tahapan pertama yaitu terjadi proses fosforilasi D-glukosa oleh ATP sehingga terbentuk molekul glukosa-6-phosfat. Reaksi ini dibantu oleh enzim glukokinase (hati) dengan kofaktor Mg^{2+} dan Mn^{2+} .

Selanjutnya molekul tersebut akan mengalami perubahan gugus fungsi oleh enzim *phosfoglukoisomerase* dan kofaktor Mg^{2+} menjadi fruktosa-6-phosfat. Tahap selanjutnya adalah proses pengaktifan kedua perubahan fruktosa-6-phosfat menjadi fruktosa-1,6-diphosfat yang dikatalis oleh enzim *phosfofruktokinase* dan kofaktor Mg^{2+} (Hendarto *et al.* 2019).



Gambar 1. Proses Pembentukan Laktosa Menjadi Asam Laktat Melalui Jalur EMP (Hendarto *et al.* 2019).

Proses berikutnya yaitu molekul fruktosa-1,6-diphosfat akan diubah menjadi 2 molekul triosa phosfat oleh enzim *aldolase* dalam bentuk 1 molekul dihidroksi aseton phosfat dan 1 molekul Gliseraldehid-3-phosfat. Dihidroksi aseton yang terbentuk kembali akan mengalami perubahan gugus fungsi menjadi Gliseraldehid-3-phosfat, dengan demikian akhirnya akan terbentuk 2 molekul

Gliseraldehid-3-fosfat. Setiap molekul Gliseraldehid-3-fosfat akan mengalami dehidrogenase oleh enzim *gliseraldehid-3-fosfatdehidrogenase*, NADH^+ , dan ion fosfat sehingga terbentuk molekul 1,3-fosfoglisarat dan NADH_2 . Tahap berikutnya yaitu tahap penyimpanan energy pertama dalam bentuk ATP (Adenosin Triphosfat) hasil dari perubahan 1,3-fosfoglisarat menjadi 3-fosfoglisarat oleh bantuan enzim *fosfoglisaratkinase* dan kofaktor Mg^{2+} . Molekul ini akan mengalami mutasi ion menjadi 2-fosfoglisarat dengan bantuan enzim *fosfoglisaromutase*. Enzim *enolase* akan mengubah 2-fosfoglisarat menjadi fosfoenolpiruvat. Selanjutnya fosfoenolpiruvat akan diubah menjadi asam piruvat dengan bantuan enzim *piruvatkinase*. Pada tahap akhir asam piruvat akan diubah menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat dengan bantuan enzim laktat *dehidrogenase*. Seluruh proses biokimiawi terbentuknya asam laktat tersebut terjadi dalam keadaan anaerob (Hendarto *et al.* 2019).

II.2 Probiotik

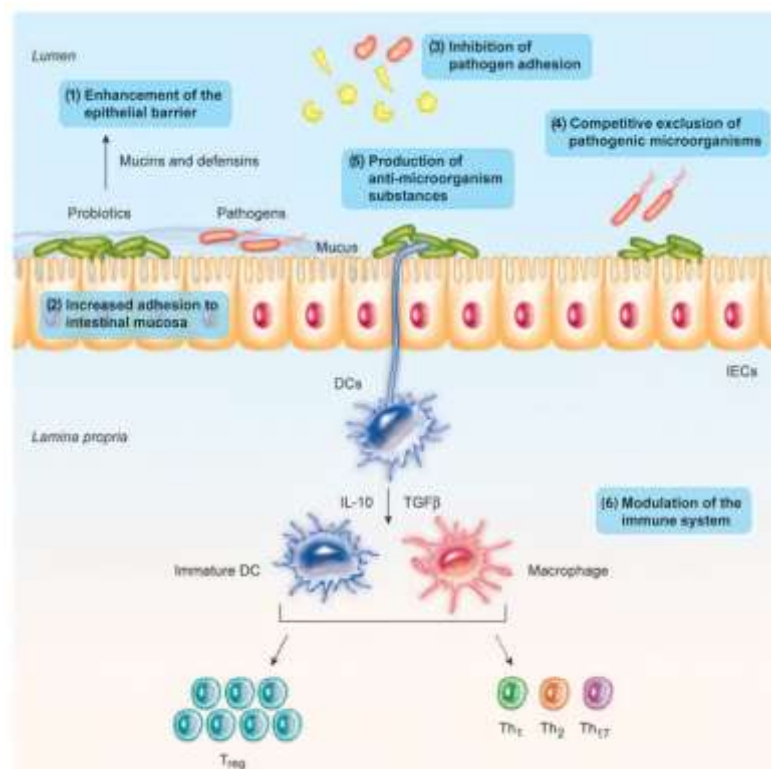
Pada akhir abad ke-19, ahli mikrobiologi mengidentifikasi mikroflora di saluran pencernaan orang yang sehat berbeda dari yang ditemukan pada orang yang sakit. Mikroflora yang bermanfaat yang ditemukan di saluran gastro intestinal ini disebut probiotik. Probiotik secara harfiah berarti “untuk kehidupan” adalah mikroorganisme yang terbukti memberikan pengaruh untuk meningkatkan kesehatan pada manusia dan hewan (Marteau *et al.* 1995). Definisi probiotik memiliki evolusi sejarah yang panjang. Probiotik pertama kali digunakan oleh Lilley dan Stillwell (1965), yang menggambarkan zat yang disekresikan oleh satu mikroorganisme yang merangsang pertumbuhan kemudian digunakan untuk merangsang pertumbuhan mikroba dan sebagai suplemen pakan ternak dengan berkontribusi pada keseimbangan flora pada saluran pencernaan hewan (Nazir *et al.* 2018).

Probiotik biasanya mengacu pada mikroorganisme hidup yang berasal dari usus yang bermanfaat bagi kesehatan. Secara etimologis, istilah probiotik tampaknya merupakan gabungan dari kata depan Latin “pro” (untuk atau mendukung) dan kata sifat Yunani “bios” (kehidupan atau mendukung kehidupan) (Nazir *et al.* 2018). Probiotik juga didefinisikan sebagai suplemen makanan mikroba hidup yang memiliki efek lebih menguntungkan bagi kesehatan konsumen dengan mempertahankan atau meningkatkan keseimbangan mikroba usus mereka (Fuller, 1989; FAO/WHO, 2001).

Penggunaan bakteri probiotik merangsang pertumbuhan mikroorganisme yang baik, menyingkirkan bakteri yang berpotensi berbahaya, dan memperkuat mekanisme pertahanan alami tubuh (Salmien *et al.* 1998; Alam, 2015). Sebagian besar probiotik termasuk dalam kelompok organisme yang disebut sebagai bakteri penghasil asam laktat. Sejumlah efek menguntungkan dari konsumsi bakteri asam laktat antara lain: (1) meningkatkan sistem kekebalan tubuh, (2) meningkatkan kesehatan saluran usus, (3) meningkatkan ketersediaan hayati nutrisi, (4) mengurangi risiko kanker tertentu, dan (5) mengurangi gejala intoleransi laktosa dan mengurangi prevalensi alergi pada orang yang rentan (Shahani and Ayebo, 1980). Hal ini sesuai dengan Nasr (2018), probiotik adalah biota mikro yang berpotensi dalam memainkan peranan penting untuk meningkatkan kesehatan pencernaan, kesehatan usus, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, serta menghambat bakteri patogen di saluran pencernaan.

Probiotik didefinisikan oleh Organisasi Pangan dan Pertanian (FAO) dan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2001 sebagai mikroorganisme hidup yang bila diberikan dalam jumlah yang memadai memberikan manfaat kesehatan pada tuan rumah, serta memberikan banyak manfaat seperti

peningkatan fungsi penghalang usus dari mukosa usus dengan menurunkan regulasi aktivasi kekebalan mukosa tingkat rendah, meningkatkan lapisan lendir, dan produksi protein sambungan ketat, efek anti-inflamasi melalui penekanan sitokin proinflamasi, peningkatan kekebalan usus dengan merangsang produksi IgA sekretori dan peningkatan komunikasi usus-otak (Vieira *et al.* 2013; Simon *et al.* 2021).



Gambar 2. Mekanisme Utama Probiotik (Pique *et al.* 2019).

Bakteri probiotik yang paling banyak dipelajari dan digunakan secara luas adalah *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Kato *et al.* 2017; Kim *et al.* 2017). Spesies dari dua genera ini (termasuk *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* atau *Lactobacillus rhamnosus*) secara alami menghuni saluran pencernaan manusia, dan dianggap memainkan peran penting dalam menjaga kesehatan manusia (Kato *et al.* Pique *et al.* 2019). Oleh karena itu, pemberian probiotik

secara oral dianggap memperkuat fungsi fisiologis mikrobiota usus di tingkat usus. Probiotik mampu melawan patogen dengan memproduksi senyawa antimikroba dan menurunkan pH (dengan produksi asam laktat), dan bersaing dengan patogen untuk adhesi dan kolonisasi, dan untuk nutrisi dan faktor pertumbuhan lainnya di usus dan menekan pertumbuhan patogen. Bakteri dengan langsung mengikat bakteri Gram-negatif. Selain itu, banyak bukti menunjukkan bahwa bakteri probiotik memiliki sifat imunomodulasi, mengatur peradangan dalam beberapa cara, dan meningkatkan fungsi penghalang epitel untuk mencegah peradangan kronis di usus (Kim *et al.* 2017; Pique *et al.* 2019) (**Gambar 2**).

II.2.1 Manfaat dan Peran Probiotik

Pentingnya mikroba usus hewan diakui secara luas karena peran vitalnya dalam menjaga kesehatan hewan. Terdapat komunitas mikroba kompleks, yang menjajah saluran pencernaan. Mikroba usus bersifat konduktif terhadap kesehatan hewan dan perkembangan sistem imun inang. Probiotik umumnya digunakan sebagai aditif makanan dimana mereka menyediakan banyak fungsi yang bermanfaat, seperti memodulasi homeostasis usus dan meningkatkan kesehatan usus. Efek menguntungkan dari probiotik ini dapat diperoleh dari penghambatan pertumbuhan bakteri patogen dan mendorong pertumbuhan flora menguntungkan di saluran pencernaan (Hu *et al.* 2017).

Probiotik mengandung mikroorganisme, yang sebagian besar adalah bakteri yang mirip dengan bakteri menguntungkan yang terjadi secara alami di usus manusia dan hewan. Spesies yang paling banyak dipelajari termasuk *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, dan lainnya. Probiotik memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan imunologi di saluran cerna melalui interaksi langsung dengan sel imun (Wilkins dan Sequoia, 2017).

Infeksi bakteri patogen merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan kerugian yang luas pada peternakan unggas. Bakteri yang menginfeksi ayam peliharaan (*Gallus domesticus*) termasuk *Escherichia coli*. *E. coli* dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan, penurunan produksi, dan mengurangi kualitas daging dan telur yang sering mengakibatkan penyakit dan kerugian ekonomi yang tinggi. Bakteri lain seperti *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab infeksi akut pada ayam ternak. Infeksi *S. aureus* pada ceker ayam dapat menyebabkan *bumble foot* dan juga dapat menyebabkan enterotoksin terakumulasi ke tingkat berbahaya pada daging ayam (Husain *et al.* 2019).

Penggunaan antibiotik merupakan salah satu upaya untuk mengatasi dan mencegah infeksi bakteri patogen pada peternakan ayam. Namun penggunaan antibiotik dapat menyebabkan defisiensi dan gangguan pada mekanisme pertahanan alami mikroflora saluran cerna, serta resistensi terhadap bakteri patogen. Manusia konsumen ayam juga dapat terpapar dan menderita efek merusak dari penggunaan antibiotik melalui residu yang tertinggal pada produk daging dan telur. Pengurangan penggunaan antibiotik pada ternak hanya dapat dicapai jika antimikroba alternatif tersedia. Salah satu alternatif produk antibiotik untuk ternak adalah *feed additives* yang dikenal dengan probiotik. Salah satu jenis bakteri probiotik yang umum adalah bakteri asam laktat. Sumber bakteri asam laktat yang potensial dapat berasal dari ayam buras karena habitatnya di alam liar memungkinkan tingginya keanekaragaman hayati bakteri disaluran pencernaannya (Husain *et al.* 2019).

II.3 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Kromatografi gas (GC) merupakan jenis kromatografi yang digunakan dalam kimia organik untuk pemisahan dan analisis. Kromatografi gas dapat digunakan untuk menguji kemurnian bahan tertentu. Selain itu kromatografi gas

dapat digunakan untuk memisahkan berbagai komponen dari campuran. Dalam beberapa kasus, kromatografi gas dapat digunakan untuk menemukan senyawa yang kompleks. Sedangkan spektroskopi massa/*mass spectrometry* (MS) berupa spektrum massa yang diperoleh dengan mengubah senyawa suatu sampel menjadi ion-ion yang bergerak cepat yang dipisahkan berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan. Spektroskopi massa mampu menghasilkan berkas ion dari suatu zat uji, memilah ion tersebut menjadi spektrum yang sesuai dengan perbandingan massa terhadap muatan dan merekam kelimpahan relatif tiap jenis ion yang ada. Kombinasi antara kromatografi gas dan spektrometri massa akan menghasilkan sebuah metode analisis yang sangat bagus yang disebut GC-MS (Wahyudiono *et al.* 2018).

GC-MS adalah teknik kimia analisis yang merupakan penggabungan dari pemisahan fisik menggunakan kromatografi gas dan deteksi massa molekul dengan spektrometri massa. Keunggulan dari teknik ini adalah spesifisitas dan sensitivitas pengukuran yang dihasilkan sangat tinggi dibandingkan teknik kimia analisis lainnya. Penggunaan kromatografi gas yang dipadukan dengan spektroskopi massa salah satu kegunaannya adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa dari suatu sampel (Chadijah *et al.* 2019).

II.4 *In Silico*

Kemajuan teknologi informasi dan teknik pemrosesan terkait telah menciptakan dasar yang subur untuk kemajuan di banyak bidang seperti bidang ilmiah dan industri. Di bidang penemuan dan pengembangan obat, teknik pembelajaran mesin telah digunakan untuk pengembangan kandidat obat baru. Metode untuk merancang target obat dan penemuan obat baru sekarang secara rutin menggabungkan pembelajaran mesin dan algoritma pembelajaran mendalam untuk meningkatkan efisiensi, kemanjuran, dan kualitas keluaran yang

dikembangkan. Pembuatan dan penggabungan data besar, melalui teknologi seperti penyaringan keluaran tinggi dan analisis komputasi keluaran tinggi dari database yang digunakan untuk penemuan prospek dan target, telah meningkatkan keandalan pembelajaran mesin dan teknik yang tergabung dalam pembelajaran mendalam. Penggunaan penyaringan virtual ini dan mencakup informasi online juga telah disorot dalam mengembangkan jalur sintesis timbal (Patel *et al.* 2020).

In silico merupakan suatu metode yang menggunakan database dan *software* untuk melakukan penelitian. Menurut Setiawan dan Istyastono (2015), uji *in silico* dapat digunakan untuk mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target. Salah satu teknik *in silico* adalah *docking* molekuler. *Docking* molekuler menggunakan metode komputasi untuk memprediksi potensi aktifitas dari suatu senyawa sebelum diuji. Dalam proses pengembangan obat, tentunya sangat penting untuk mengevaluasi potensi risiko toksikologis dari kandidat obat sedini mungkin untuk mengurangi biaya dan waktu yang digunakan. Metode *in silico* digunakan karena memiliki keuntungan yaitu dapat membuat prediksi cepat untuk serangkaian besar senyawa, prediksi dibuat berdasarkan pada struktur suatu senyawa bahkan sebelum disintesis (Amberg, 2013; Fernando *et al.* 2018).

Metode *in silico* berdasarkan pemodelan hubungan aktivitas struktur menawarkan pendekatan alternatif untuk menghasilkan perkiraan toksisitas kimia tanpa adanya data eksperimen. Ketersediaan database properti/efek kimia berkualitas tinggi, algoritme penambangan data yang kuat, dan kekuatan komputasi yang berkembang selama beberapa dekade terakhir telah menghasilkan alat dan sistem komputasi yang lebih fleksibel dan andal untuk menilai toksisitas kimia (Benfehati *et al.* 2019). Metode *in silico* memiliki banyak keuntungan terutama terkait dengan tidak menggunakan hewan, biaya yang rendah, dan pengurangan waktu eksekusi (Benfenati *et al.* 2010).