

TUGAS AKHIR

**UJI KEMAMPUAN BAKTERI *LACTOBASILLUS SP.* DALAM
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI AIR *CITROBACTER SP.*
DAN *SHIGELLA SP.* SECARA IN-VITRO**



SASHA SABRINA SABIR

D121 16 501

DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN

FAKULTAS TEKNIK

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2021

TUGAS AKHIR

**UJI KEMAMPUAN BAKTERI *LACTOBASILLUS SP.* DALAM
MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI AIR *CITROBACTER SP.*
DAN *SHIGELLA SP.* SECARA IN-VITRO**



SASHA SABRINA SABIR

D121 16 501

DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN

FAKULTAS TEKNIK

UNIVERSITAS HASANUDDIN

2021



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN FAKULTAS TEKNIK
DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN

JL. POROS MALINO. KM.6 BONTOMARANNU KAB. GOWA

LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Teknik pada Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin Gowa.

Judul : Uji Kemampuan Bakteri *Lactobacillus* sp. Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Air
Citrobacter sp. Dan *Shigella* sp Secara *in-vitro*

Disusun Oleh :

Nama : Sasha Sabrina Sabir

NIM : D12116501

Telah diperiksa dan disetujui
Oleh Dosen Pembimbing

Gowa, 8 Juni 2021

Pembimbing I

Dr. Ir. Achmad Zubair, M.Sc.
NIP. 19590116 1987021001

Pembimbing II

Dr. Roslinda Ibrahim, S.P., M.T.
NIP. 197506232015042000

Menyetujui,
Ketua Departemen Teknik Lingkungan



Dr. Eng. Muralia Hustim, S.T., M.T.
NIP. 197204242000122000

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini, nama Sasha Sabrina Sabir dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Uji Kemampuan Bakteri *Lactobacillus Sp.* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen Air *Citrobacter Sp.* dan *Shigella Sp.* secara In-vitro”, adalah karya ilmiah penulis sendiri, dan belum pernah digunakan untuk mendapatkan gelar apapun dan dimanapun.

Karya ilmiah ini sepenuhnya milik penulis dan semua informasi yang ditulis dalam skripsi yang berasal dari penulis lain telah diberi penghargaan, yakni dengan mengutip sumber dan tahun penerbitannya. Oleh karena itu, semua tulisan dalam skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis. Apabila ada pihak manapun yang merasa ada kesamaan judul dan atau hasil temuan dalam skripsi ini, maka penulis siap untuk diklarifikasi dan mempertanggungjawabkan segala resiko.

Gowa, 09 Juni 2021

Yang membuat pernyataan,



Sasha Sabrina Sabir

D121 16 501

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim.

Hamdalah, kata yang tidak henti-hentinya penulis haturkan atas berkah dan karunia Allah SAW sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul **“Uji Kemampuan Bakteri *Lactobacillus sp.* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Air *Citrobacter sp.* dan *Shigella sp.* Secara In-Vitro”**. Tak lupa pula shalawat serta salam kepada panutan terbaik Rasulullah SAW idola terbaik sepanjang masa. Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu persyaratan kelulusan pada jenjang Strata I Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasnuddin.

Tugas akhir ini menjadi suatu kebanggaan tersendiri untuk penulis dan akhirnya dapat terselesaikan dan memberikan cerita tersendiri untuk selalu dikenang. Segala bantuan, nasihat, dan doa yang diberikan oleh semua pihak yang membantu menjadi salah satu faktor penting sehingga hambatan yang ada dapat terlewati dengan terasa lebih mudah dan membantu penulis menyelesaikan tugas akhir ini.

Terima kasih penulis sampaikan untuk kedua orang tua, Bapak M. Sabir Yasin dan Ibu Samsa Saad untuk segala lelah, doa, cinta, nasihat dan motivasi yang telah diupayakan sehingga setiap langkah penulis menjadi lebih terarah dan mudah. Terima kasih juga untuk adik-adik penulis, Shania Marsya Sabir dan Shahnaz Natasha Sabir yang selalu menjadi penyemangat, teman bersendagurau, dan salah satu alasan untuk selalu berupaya memberi yang terbaik. Serta terima kasih untuk Tante, Ibu Jumiati Saad yang telah memberikan kasih sayang, semangat, motivasi dan doa untuk penulis. Pada kesempatan ini pula, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Achmad zubair, M.Sc. selaku Kepala Laboratorium Kualitas Air dan pembimbing I yang telah mengarahkan dan membimbing dalam pengerjaan tugas akhir.
2. Ibu Dr. Roslinda Ibrahim, S.P., M.T. untuk kesempatan yang telah diberikan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian ini dan selaku

pembimbing II yang telah mengarahkan dan membimbing dalam pengerjaan tugas akhir.

3. Ibu Prof. Dr. Ir. Mary Selintung, M.Sc. selaku penguji I dan Ibu Nurjannah Oktorina, S.T., M.T. selaku penguji II untuk saran dan arahan yang diberikan dalam pengerjaan tugas akhir.
4. Ibu Dr. Eng. Muralia Hustim, S.T., M.T. selaku Ketua Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin.
5. Bapak/Ibu Dosen yang telah memberikan banyak ilmu kepada penulis selama berkuliah di Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin.
6. Ibu Sumi dan Pak Olan yang telah sangat membantu penulis perihal administrasi selama berkuliah di Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin.
7. Bapak/Ibu/Teman-teman dari Laboratorium Hama dan Penyakit Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian terkait tugas akhir ini.
8. *Partner* dalam tugas akhir, Hasmila yang merupakan rekan bertukar pikiran dan teman bercerita yang dengan hati baiknya selalu membantu penulis selama berkuliah di Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Hasanuddin.
9. Teman-teman Patron 2017 pada umumnya atas segala pengalaman yang telah dilalui bersama dan teman-teman Teknik Lingkungan 2016 pada khususnya yang luar biasa hebat.
10. Annisa Nurhidayah, Rizkya Aisya, St. Rahma Dzulalma, Muaemana, Hasmila, Dewi Yunita Sari, Sabda Sari, Nurhaliza, Nurul Physkiawati, Ernny Oktafiani, Fachmy Musfirah, Wini Ramli, dan Nadiah Aulia selaku zona nyaman dan informan atas banyaknya pertanyaan penulis selama masa perkuliahan.
11. Semua pihak yang belum sempat di tuliskan diatas yang selama masa perkuliahan penulis telah membantu serta memberi cerita dan warna.

Penulis berharap tugas akhir ini dapat memberikan manfaat dibalik kekurangan yang ada, sehingga saran dan kritik yang membangun akan sangat bermanfaat untuk melengkapi keterbatasan penulis dalam menyusun tugas akhir guna kemajuan ilmu pengetahuan. Akhir kata, semoga Allah SWT selalu memberi kebaikan dan kebahagiaan kepada kita semua.

Gowa, 08 Juni 2021

Penulis

ABSTRAK

SASHA SABRINA SABIR. *Uji Kemampuan Bakteri Lactobacillus Sp. dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen Air Citrobacter Sp. dan Shigella Sp. secara In-vitro* (dibimbing oleh Achmad Zubair dan Roslinda Ibrahim)

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang dapat menghasilkan senyawa bakteriosin yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat dimanfaatkan untuk mengurangi kandungan bakteri *coliform* yang terdapat pada air hujan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan kemampuan bakteri *Lactobacillus sp.* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Citrobacter sp.* dan *Shigella sp.* serta mengetahui pengaruh pH terhadap kemampuan daya hambat BAL. Tahap awal penelitian dilakukan untuk mengidentifikasi karakteristik bakteri pengujian yang diinginkan dengan melakukan uji morfologi dan uji biokimia. Tahapan selanjutnya yaitu mengetahui kemampuan daya hambat BAL dengan melakukan pengujian daya hambat secara in-vitro dengan kondisi media pengujian ber-pH 5, pH 7, dan pH 9. Berdasarkan pengujian daya hambat yang dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa BAL yang digunakan pada pengujian, yaitu bakteri *Lactobacillus sp.* dapat menghasilkan senyawa bakteriosin dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Citrobacter sp.* dan *Shigella sp.* dengan kondisi penghambatan terbaik pada media ber-pH 7.

Kata kunci : Bakteri asam laktat, bakteriosin, uji daya hambat secara in-vitro, pH

ABSTRACT

SASHA SABRINA SABIR. *The Ability Test of Lactobacillus Sp. in Inhibiting the Growth of Water Pathogenic Bacteria Citrobacter Sp. and Shigella Sp. In-vitro (supervised by Achmad Zubair and Roslinda Ibrahim)*

Lactic acid bacteria (LAB) are bacteria that can produce bacteriocin compounds which function to inhibit bacterial growth so that they can be used to reduce the content of coliform bacteria found in rainwater. This study aims to determine the characteristics and abilities of Lactobacillus sp. in inhibiting the growth of the bacteria Citrobacter sp. and Shigella sp. as well as knowing the effect of pH on the inhibitory ability of LAB. The initial stage of the research was carried out to identify the characteristics of the desired test bacteria by passing morphological tests and biochemical tests. The next step is to find out the inhibitory ability of LAB by testing the inhibitory power in-vitro with the conditions of the test media with pH 5, pH 7, and pH 9. Based on the inhibition power test carried out, it can be concluded that the LAB used in the test is Lactobacillus sp. can produce bacteriocin compounds and inhibit the growth of pathogenic bacteria Citrobacter sp. and Shigella sp. with the best inhibition conditions on media with a pH of 7.

Key words: Lactic acid bacteria, bacteriocin, in-vitro inhibition test, pH

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian	3
E. Batasan Masalah	3
F. Sistematika Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Bakteri Asam Laktat	5
B. Pertumbuhan Bakteri.....	7
C. Pertumbuhan Bakteri.....	7
1. Bakteri <i>Lactobacillus Sp</i>	12
2. Bakteri <i>Citrobacter Sp</i>	13
3. Bakteri <i>Shigella Sp</i>	14
D. Identifikasi Isolat Bakteri	
1. Isolasi Bakteri	15
2. Uji Morfologi	16
3. Uji Biokimia.....	17
E. Uji Penghambatan Secara In-vitro.....	19
F. Jurnal Penelitian Terdahulu	23

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian.....	29
B. Waktu dan Lokasi Penelitian	30
C. Alat dan Bahan	30
D. Populasi dan Sampel	31
E. Pelaksanaan Penelitian	
1. Sterilisasi Alat dan Bahan.....	31
2. Pembuatan Media.....	32
3. Isolasi Bakteri	34
4. Pemurnian dan Penyimpanan Kultur Bakteri.....	36
5. Pengamatan Uji Morfologi	37
6. Pengamatan Uji Biokimia	37
7. Uji Antagonis secara In-vitro.....	44
F. Teknik Analisis	46
G. Diagram Alir Penelitian	46

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Bakteri	
1. Karakteristik Bakteri <i>Lactobacillus Sp.</i> Bahan Pangan	48
2. Karakteristik Bakteri <i>Citrobacter Sp.</i> dan Bakteri <i>Shigella</i> dari Air Hujan	59
B. Uji Kemampuan Bakteri <i>Lactobacillus Sp.</i> dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri <i>Citrobacter Sp.</i> dan <i>Shigella Sp.</i> secara In-vitro	69
C. Pengaruh pH Media terhadap Kemampuan Daya Hambat Bakteri <i>Lactobacillus Sp.</i> dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri <i>Citrobacter Sp.</i> dan <i>Shigella Sp.</i>	71

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	75
B. Saran	76

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

No		Halaman
1	Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme dengan Fase Pertumbuhannya...	9
2	Bentuk-bentuk Koloni.....	17
3	Bentuk-bentuk Permukaan Koloni.....	17
4	Bentuk-bentuk Tepi Koloni	17
5	Diagram Alir Sterilisasi Alat dan Bahan.....	32
6	Diagram Alir Pembuatan Media	33
7	Diagram Alir Isolasi Bakteri Asam Laktat pada Tape Ubi.....	34
8	Diagram Alir Isolasi Bakteri Patogen pada Air Hujan	35
9	Bentuk-bentuk Koloni.....	37
10	Bentuk-bentuk Permukaan Koloni.....	37
11	Bentuk-bentuk Tepi Koloni	37
12	Diagram Alir Uji Gram	37
13	Diagram Alir Uji Katalase	38
14	Diagram Alir Uji Motilitas.....	39
15	Diagram Alir Uji Endospora	40
16	Diagram Alir Uji Anaerob	41
17	Diagram Alir Uji Produksi CO ₂	42
18	Diagram Alir Uji Pertumbuhan pada pH 9.6	43
19	Diagram Alir Uji Daya Hambat secara In-vitro.....	44
20	Tampak Atas Media Uji Daya Hambat Bakteri	45
21	Diagram Alir Penelitian	46
22	Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat	49
23	Pemurnian Bakteri Asam Laktat dengan Metode Gores.....	50
24	Hasil Uji Gram Bakteri Asam Laktat	52
25	Hasil Uji Katalase Bakteri Asam Laktat.....	53
26	Hasil Uji Motilitas Bakteri Asam Laktat	54
27	Hasil Uji Pertumbuhan pada pH 9.6 Bakteri Asam Laktat.....	56
28	Hasil Uji Endospora Bakteri Asam Laktat	57

29	Hasil Isolasi Bakteri Patogen	60
30	Pemurnian Bakteri Patogen dengan Metode Gores	62
31	Hasil Uji Gram Bakteri Patogen	63
32	Hasil Uji Katalase Bakteri Patogen.....	64
33	Hasil Uji Motilitas Bakteri Patogen	65
34	Hasil Uji Anaerob Bakteri Patogen.....	66
35	Uji Daya Hambat Isolat TU5 terhadap Isolat AH3	72
36	Uji Daya Hambat Isolat TU5 terhadap Isolat AH6	72
37	Uji Daya Hambat Isolat Y6 terhadap Isolat AH3	73
38	Grafik Hasil Uji Daya Hambat dengan Media Ber-pH	74

DAFTAR TABEL

No		Halaman
1	Jurnal Terdahulu yang Relevan dengan Penelitian.....	23
2	Variasi Variabel Bebas	29
3	Variasi Perlakuan Bakteri	29
4	Jumlah Koloni Hasil Isolasi Bakteri dari Tape Ubi dan <i>Yogurt</i>	49
5	Karakteristik Bakteri Hasil Isolasi dari Tape Ubi dan <i>Yogurt</i>	51
6	Hasil Uji Katalase Bakteri Asam Laktat.....	53
7	Hasil Uji Motilitas Bakteri Asam Laktat	54
8	Hasil Uji Pertumbuhan pada pH 9.6 Bakteri Asam Laktat.....	56
9	Rekapitulasi Hasil Uji Biokimia Bakteri Asam Laktat.....	58
10	Jumlah Koloni Hasil Isolasi Bakteri dari Air Hujan.....	61
11	Karakteristik Bakteri Hasil Isolasi dari Air Hujan.....	62
12	Hasil Uji Katalase Bakteri Patogen.....	64
13	Hasil Uji Motilitas Bakteri Patogen.....	65
14	Hasil Uji Anaerob Bakteri Patogen.....	67
15	Rekapitulasi Hasil Uji Biokimia Bakteri Patogen	67
16	Hasil Pengukuran Zona Hambat Bakteri <i>Citrobacter Sp.</i> (dalam mm). .	69
17	Hasil Pengukuran Zona Hambat Bakteri <i>Shigella Sp.</i> (dalam mm)	69
18	Hasil Pengukuran Zona Hambat Bakteri (dalam mm).....	73

DAFTAR LAMPIRAN

No		Halaman
1	Alat dan Bahan Penelitian.....	80
2	Isolat Bakteri.....	89
3	Isolat Bakteri Asam Laktat dari Bahan Pangan	92
4	Isolat Bakteri Patogen dari Air Hujan.....	94
5	Total Jumlah Koloni Hasil Isolat Bakteri	96
6	Uji Biokimia	98
7	Dokumentasi Kegiatan.....	104

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Air bersih merupakan komponen penting yang tidak dapat dipisahkan dari kehidupan sehari-hari, hal ini dikarenakan air bersih merupakan kebutuhan dasar dalam menunjang dan meningkatkan kualitas taraf hidup masyarakat. Sebagai suatu kebutuhan dasar, maka kebanyakan masyarakat secara mandiri memanfaatkan segala sumber air yang berada disekitar lingkungan mereka seperti air sungai, air tanah, dan air hujan untuk memenuhi kebutuhan air bersih tersebut.

Secara kuantitatif ketiga sumber air yang disebutkan diatas tentu tidak menjadi masalah jika mengingat kondisi geografis Indonesia, namun akan berbeda jika menyangkut kualitas sumber air itu sendiri. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi kualitas suatu sumber air, salah satunya yaitu jumlah kandungan *coliform* yang diperbolehkan.

Pada Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2017 tentang “Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan dan Persyaratan Kesehatan Air untuk Keperluan Higiene Sanitasi, Kolam Renang, *Solus Per Aqua*, dan Pemandian Umum”, dijelaskan bahwa total *coliform* paling banyak yang diperbolehkan pada air bersih yaitu 50 CFU/100 ml. *Coliform* ini seringkali ditemukan pada sumber air dan umumnya memiliki jumlah diatas standar yang diperbolehkan sehingga perlu untuk diolah terlebih dahulu.

Dalam mengurangi jumlah kadar coliform yang terdapat pada sumber air, guna untuk memenuhi standar dapat dilakukan dengan menghambat pertumbuhan *coliform* itu sendiri. Perkembangan ilmu pengetahuan saat ini, terutama dalam industri pangan menunjukkan bahwa pengawetan makanan dapat dilakukan dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan memanfaatkan bakteri asam laktat (BAL). Hal ini tentu bukan hal yang tidak mungkin jika diterapkan

dalam pengolahan sumber air untuk memenuhi standar *coliform* yang diperbolehkan.

Beberapa penelitian menjelaskan bahwa BAL dapat menghasilkan senyawa antimikroba seperti bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif penyebab penyakit. Kemampuan produksi asam dari BAL berperan penting dalam aktivitas antimikroba. Produk asam inilah yang menyebabkan pertumbuhan mikroba lain yang tidak diinginkan menjadi terhambat. BAL umumnya dapat ditemukan pada saluran pencernaan hewan dan manusia, makanan kalengan, produk susu, produk fermentasi, buah-buahan, dan sayur-sayuran tropis.

Dilatar belakangi kondisi tersebut, dirasa perlu untuk melakukan kajian lebih lanjut mengenai cara untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen air yaitu *Citrobacter sp.* dan *Shigella sp.* yang berasal dari air hujan, dengan memanfaatkan kemampuan bakteri asam laktat (BAL) yaitu *Lactobacillus sp.* yang berjudul **“Uji Kemampuan Bakteri *Lactobacillus sp.* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Air *Citrobacter sp.* dan *Shigella sp.* Secara In-Vitro”** guna memenuhi standar *coliform* yang diperbolehkan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana karakteristik bakteri asam laktat (*Lactobacillus sp.*) dan bakteri patogen air (*Citrobacter sp.* dan *Shigella sp.*)
2. Seberapa besar kemampuan bakteri asam laktat (*Lactobacillus sp.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen air (*Citrobacter sp.* dan *Shigella sp.*)
3. Bagaimana pengaruh pH media terhadap kemampuan penghambatan bakteri asam laktat (*Lactobacillus sp.*) terhadap pertumbuhan bakteri patogen air (*Citrobacter sp.* dan *Shigella sp.*)

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk menganalisis karakteristik bakteri asam laktat (*lactobacillus sp*) dan bakteri patogen air (*citrobacter sp.* dan *shigella sp.*)
2. Untuk menganalisis kemampuan bakteri asam laktat (*lactobacillus sp.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen air (*citrobacter sp.* dan *shigella sp.*
3. Untuk menganalisis pengaruh pH media terhadap kemampuan penghambatan bakteri asam laktat (*lactobacillus sp.*) terhadap pertumbuhan bakteri patogen air (*citrobacter sp.* dan *shigella sp.*)

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diperoleh dalam penelitian ini, yaitu :

1. Sebagai salah satu bentuk dalam pemanfaatan ilmu bioteknologi lingkungan.
2. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan dalam penyelesaian permasalahan lingkungan terutama pada pengolahan air bersih.

E. Batasan Masalah

Agar penelitian ini menjadi terarah dan terkendali, maka perlu dilakukan pembatasan terhadap variabel penelitian sebagai berikut, yaitu :

1. Bakteri asam laktat yang akan diuji berasal dari bakteri yang terfermentasi pada tape ubi dan/atau yogurt
2. Bakteri patogen yang akan diuji berasal dari bakteri yang terkandung pada air hujan.
3. Identifikasi bakteri dilakukan untuk menghasilkan bakteri asam laktat dan bakteri patogen yang diinginkan (bakteri *lactobacillus sp*, *citrobacter sp*, dan *shigella sp.*)

4. Pengujian akhir berupa uji antagonis antara bakteri asam laktat dan bakteri patogen air dengan media pH 5, pH 7, dan pH 9 secara in-vitro.

F. Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan tugas akhir ini adalah sebagai berikut :

BAB I. PENDAHULUAN

Bab ini berisikan penjelasan mengenai latar belakang masalah, rumusan masalah, tujuan penelitian, manfaat penelitian, batasan masalah dan sistematika penulisan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini berisi teori yang menjadi acuan dan landasan pada penelitian ini.

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini akan membahas mengenai prosedur pengumpulan data dan prosedur analisis data berupa jenis penelitian, waktu penelitian, lokasi penelitian, bahan dan alat, populasi dan sampel, variabel penelitian, teknik pengumpulan data, pengolahan dan analisis data, dan bagan alir penelitian.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini merupakan penjabaran dari hasil penelitian

BAB V PENUTUP

Bab ini memuat kesimpulan berdasarkan analisis data, hasil dan bukti yang disajikan sebelumnya, kemudian menjadi dasar untuk menyusun saran sebagai usulan yang berhubungan dengan penelitian yang telah dilakukan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk batang atau bulat, tidak membentuk spora, fermentasi fakultatif anaerob, tidak mempunyai sitokrom, tidak memiliki kemampuan untuk mereduksi nitrat dan memanfaatkan laktat, oksidasi negatif, katalase negatif, motilitas negatif dan kemampuan memfermentasi glukosa menjadi asam laktat. Menurut sejarah, Genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus* merupakan awal dan inti dari kelompok BAL. (Agus, N. A., 2016)

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri anaerob fakultatif yang mampu hidup pada habitat yang cukup luas, seperti saluran pencernaan hewan dan manusia, makanan kalengan, produk susu, produk fermentasi, buah-buahan, dan sayur-sayuran tropis. (Chotiah, S., 2018)

Pada perkembangan selanjutnya, terjadi revisi taksonomi dan muncul genus baru hingga saat ini terdapat sekitar 20 genus. Namun, genus-genus yang penting dalam sudut pandang teknologi pangan yaitu *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella*. Genus *Bifidobacterium* sering dianggap memiliki sifat tipikal yang sama dengan BAL asli padahal berbeda secara filogenetik dan keunikannya dalam memfermentasi gula (Axelsson, 2004 dalam Hurry, P.Z., 2010).

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang menghasilkan asam laktat dari glukosa, termasuk bakteri Gram-positif, kokus yang tidak berspora atau membentuk spora, kokobasil atau batang. *Lactobacillus* merupakan BAL yang berbentuk batang, sedangkan *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* dan *Streptococcus* berbentuk kokus (Todar. K, 2012 dalam Putri Y.W., 2018).

Kemampuan produksi asam dari BAL berperan penting dalam aktivitas antimikroba. Produksi asam laktat oleh BAL menyebabkan pH pada makanan hasil fermentasi rendah. Hal ini dapat menghambat mikroba patogen dan pembusuk untuk tumbuh sehingga memperpanjang umur simpan produk makanan tersebut. Umumnya mikroba patogen dan pembusuk dapat tumbuh antara pH 6,0–8,0 (Fardiaz, 1992; Buckle et al., 2007).

Sifat terpenting dari bakteri asam laktat adalah kemampuannya untuk merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang sederhana sehingga dihasilkan asam laktat. Sifat ini penting dalam pembuatan produk fermentasi termasuk silase. Produk asam menyebabkan pertumbuhan mikroba lain yang tidak diinginkan terhambat. Bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada suatu bahan akan dihambat pertumbuhannya jika dalam bahan terdapat bakteri asam laktat (Rahayu et al., 2004 dalam Agus, N.A., 2016).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroba yang berpotensi sebagai probiotik dapat dibedakan atas 2 kelompok berdasarkan hasil fermentasinya, yaitu:

1. Bakteri homofermentatif: glukosa difermentasi menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk. Bakteri dalam kelompok ini akan mengubah heksosa menjadi asam laktat dalam jalur Embden-Meyerhof (EM) dan tidak dapat memfermentasikan pentosa atau glukonat, asam laktat menjadi satu satunya produk. Contoh: *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan beberapa *Lactobacillus*.
2. Bakteri heterofermentatif: glukosa difermentasikan selain menghasilkan asam laktat juga memproduksi senyawa-senyawa lainnya yaitu etanol, asam asetat dan CO₂. Heksosa difermentasikan menjadi asam laktat, karbon dioksida, dan etanol (atau asam asetat sebagai akseptor elektron alternatif). Pentosa lalu diubah menjadi laktat dan asam asetat. Contoh: *Leuconostoc* dan beberapa spesie *Lactobacillus*.

Bakteri asam laktat dapat diklasifikasikan menjadi dua famili, yaitu *Streptococcaceae* dan *Lactobacillaceae*. Famili dari *Streptococcaceae* terdiri dari bentuk kokus atau bulat telur terdiri dari genus *Streptococcus*, *Leuconostoc* dan

Pediococcus, sedangkan famili *Lactobacillaceae* merupakan bentuk batang dan anggotanya satu genus yaitu *Lactobacillus*. Masing-masing genus tersebut mempunyai perbedaan kriteria yang didasarkan serta toleransi terhadap asam dan basa (Sudarmadji dkk,1989 dalam Agus, N.A., 2016).

B. Pertumbuhan Bakteri

Selang waktu yang dibutuhkan bakteri (sel) untuk membelah diri disebut waktu generasi. Tidak semua spesies bakteri memiliki waktu generasi yang sama untuk berkembangbiak. Waktu generasi ini juga tidak akan sama pada setiap kondisi lingkungan. Hal ini sangat bergantung pada cukup tidaknya nutrient serta sesuai tidaknya kondisi lingkungan bakteri.

Fase pertumbuhan mikroorganisme menurut Djide, (2016) dapat dibagi sebagai berikut :

a. Fase permulaan

Mikroorganisme pada fase ini melakukan penyesuaian diri dengan lingkungannya yang baru. Berbagai macam enzim dan zat-zat perantara yang dibentuk pada fase ini, sehingga akan mungkin terjadinya pertumbuhan yang lebih lanjut. Sel-sel pada fase ini mula membesar, tetapi belum terjadi pembelahan sel.

b. Fase pertumbuhan yang dipercepat

Mikroorganisme pada fase ini mulai melakukan pembelahan sel, namun waktu generasinya masih panjang. Pada fase ini bersama fase permulaan bisa disebut juga sebagai “*lag phase*” atau “*phase of adjustment*”.

c. Fase pertumbuhan logaritma

Mikroorganisme pada fase ini mengalami pertumbuhan paling cepat, waktu generasi pendek dan konstan. Selama fase ini metabolisme paling cepat dan pesat, sehingga sintesa bahan sel sangat cepat dan konstan. Keadaan tersebut berlangsung hingga salah satu atau beberapa nutrien habis atau telah terjadi penimbunan hasil-hasil metabolisme yang bersifat racun sehingga mengakibatkan pertumbuhan mikroorganisme terhambat. Panjang pendeknya waktu generasi mikroorganisme pada fase ini bergantung pada spesiesnya.

d. Fase pertumbuhan mulai terhambat

Pertumbuhan mikroorganisme pada fase ini mulai terhambat, ini disebabkan adanya pengurangan nutrisi dan mulai terjadi penimbunan hasil-hasil metabolisme yang bersifat racun, juga terjadi perubahan lingkungan. Jika dilakukan penambahan nutrisi atau penetralan racun-racun pada keadaan ini, maka fase logaritma dapat diperpanjang.

e. Fase stasioner atau fase konstan

Adanya pengurangan nutrisi dan adanya penimbunan hasil-hasil metabolisme yang bersifat racun, maka kecepatan pertumbuhan dan perbanyakan mikroorganisme akan terlambat. Selain itu mikroorganisme yang mati semakin meningkat, sehingga jumlahnya sama dengan mikroorganisme yang hidup. Panjang pendeknya fase ini sangat tergantung pada kepekaan mikroorganisme dalam menghadapi faktor-faktor pertumbuhan serta perubahan yang berlangsung dalam mediumnya. Semakin peka bakteri maka semakin pendek pula fase stasionernya.

Menurut Waluyo, (2004) dalam jangka waktu yang lama jarang populasi bakteri tumbuh secara eksponensial dengan kecepatan yang tinggi. Setelah 48 jam, pertumbuhan eksponensial bakteri dengan waktu pembelahan 20 menit dapat menghasilkan $2,2 \times 10^{31}$ bakteri. Pertumbuhan populasi mikroorganisme biasanya dibatasi oleh habisnya nutrisi yang tersedia, mengakibatkan kecepatan pertumbuhan menurun dan pertumbuhan akhirnya berhenti, fase ini dikatakan sebagai fase tetap (*stationary phase*). Komposisi sel-sel pada fase ini berbeda dengan fase pertumbuhan eksponensial dan umumnya lebih tahan terhadap perubahan panas, dingin maupun radiasi.

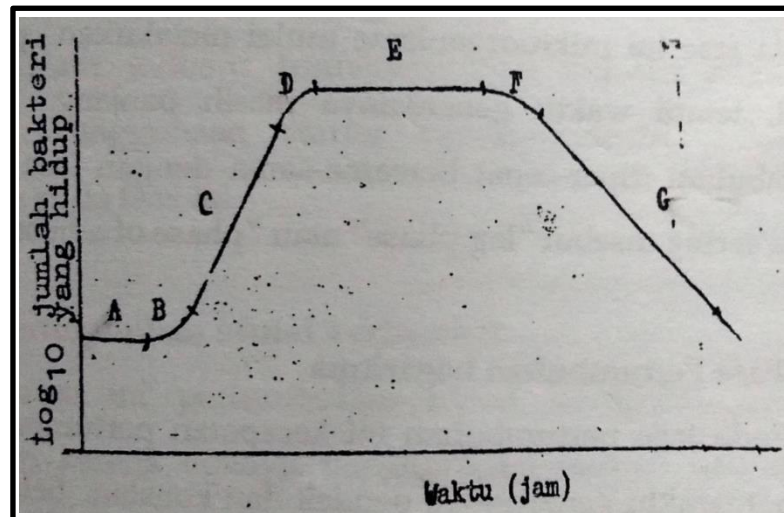
f. Fase kematian yang dipercepat

Mikroorganisme pada fase ini kematiannya semakin meningkat sedangkan kecepatan pembelahannya nol.

g. Fase kematian logaritma

Mikroorganisme pada fase ini mengalami kecepatan kematian yang maksimum. Jumlah selnya menurun menurut deret ukur, tetapi penurunan jumlah tersebut akan mencapai keadaan yang minimum. Secara teoritis keadaan ini dapat

bertahan untuk waktu yang sangat lama dalam media tersebut, tergantung spesiesnya.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan mikroorganisme dengan fase pertumbuhannya

Sumber : Djide, 2016

Pada pertumbuhan bakteri, terdapat beberapa faktor-faktor yang yang memengaruhi. Berikut faktor-faktor yang memengaruhi pertumbuhan bakteri :

a. Nutrisi

Semua makhluk hidup memerlukan bahan makanan untuk keperluan hidupnya. Bahan makanan ini diperlukan untuk mendapatkan energi. Demikian juga dengan mikroorganisme, untuk hidupnya membutuhkan energi dari lingkungannya. Bahan tersebut dinamakan nutrisi (zat gizi) (Waluyo, 2004).

Semua mikroorganisme memerlukan nutrisi sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur dasar tersebut adalah karbon, nitrogen, sulfur, zat besi dan sejumlah kecil logam-logam lainnya. Kekurangan sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian (Gaman, 1992 dalam Ramadhan, 2015).

Perkembangbiakan mikroorganisme membutuhkan media yang berisi zat hara serta lingkungan pertumbuhan yang sesuai bagi mikroorganisme. Media dapat dibagi berdasarkan (Lay, 1994 dalam Ramadhan, 2015):

1) Konsistensinya

- Media padat
- Media cair
- Media semi padat

2) Sumber bahan baku yang digunakan

- Media sintetik, bahan baku yang digunakan merupakan bahan kimia atau bahan yang bukan berasal dari alam. Pada media sintetik kandungan dan isi bahan yang ditambahkan diketahui secara terperinci.
- Media nonsintetik, menggunakan bahan yang terdapat di alam biasanya tidak diketahui kandungannya secara terperinci. Contoh : ekstrak daging, pepton, ekstrak ragi, dan kaldu daging.

3) Berdasarkan fungsinya

- Media selektif, yaitu media biakan yang mengandung paling sedikit satu bahan yang dapat menghambat perkembangbiakan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan membolehkan perkembangbiakan mikroorganisme tertentu yang ingin diisolasi.
- Media differensial, yaitu media untuk membedakan kelompok mikroorganisme tertentu yang tumbuh pada media biakan. Bila berbagai kelompok mikroorganisme tumbuh pada media differensial maka dapat dibedakan kelompok mikroorganisme berdasarkan perubahan pada media biakan atau penampilan koloninya.
- Media diperkaya, yaitu dengan menambahkan bahan-bahan khusus pada media untuk menumbuhkan mikroba yang khusus.

b. Temperatur

Bakteri sangat peka terhadap suhu atau temperatur dan daya tahannya tidak sama untuk semua spesies. Bakteri dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok berdasarkan suhu pertumbuhan yang diperlukan sebagai berikut:

- 1) Bakteri *psikofil*, yaitu mikroorganisme yang dapat hidup baik pada suhu 0-20°C dengan suhu optimumnya adalah 10-20°C. kebanyakan golongan ini tumbuh ditempat dingin.

- 2) Bakteri *mesofil*, yaitu mikroorganisme yang dapat hidup dengan baik pada suhu 5-60°C dan memiliki suhu pertumbuhan optimal antara 20-45 °C. umumnya mikroba ini tumbuh pada saluran pencernaan.
- 3) Bakteri *termofil*, yaitu mikroorganisme yang dapat hidup dengan baik pada suhu 45-80°C. suhu tumbuh optimumnya antara 50-60°C, mikroba ini utamanya ditemukan pada tempat dengan temperatur tinggi.

c. Oksigen

Empat kelompok mikroorganisme dibedakan berdasarkan kebutuhan gas oksigen (Waluyo, 2009), antara lain :

- 1) Aerob obligat yaitu bakteri yang hanya tumbuh bila ada oksigen.
- 2) Organisme Mikroaerofilik yaitu yang dapat tumbuh optimal dengan konsentrasi oksigen yang rendah.
- 3) Aerob fakultatif dan anaerob fakultatif yaitu bakteri yang dapat tumbuh bila ada atau tidak ada oksigen.
- 4) Anaerob obligat, yaitu hanya dapat tumbuh bila tanpa oksigen; oksigen bersifat toksik pada kelompok tersebut; hidrogen peroksida mengumpul akibat kekurangan sitokrom dan enzim katalase.

d. pH

Pertumbuhan bakteri juga memerlukan pH tertentu, namun umumnya bakteri memiliki jarak pH sekitar 6,5-7,5 atau netral (Waluyo, 2004). Untuk tiap mikroorganisme dikenal nilai pH minimum, optimum, dan maksimum.

Berdasarkan lingkungan pH bagi kehidupan mikroba, dibedakan menjadi tiga golongan besar (Suriawira, 2015) yaitu:

- 1) mikroba asidofilik, yaitu yang dapat tumbuh pada pH antara 2,0-5,0
- 2) mikroba netrofilik, yaitu yang dapat tumbuh pada pH antara 5,5-8,0
- 3) mikroba alkalifilik, yaitu yang dapat tumbuh pada pH antara 8,7-9,5

C. Bakteri Pengujian

1. Bakteri *Lactobacillus sp.*

Lactobacillus sp. merupakan bakteri antagonis yang dapat menekan beberapa penyakit pada tanaman. Bakteri *lactobacillus* memiliki karakteristik dengan bentuk batang, gram positif, dapat diperoleh dari tanah, air, udara, dan materi tumbuhan yang terdekomposisi (Graumann, 2007).

Bakteriosin asal *Lactobacillus plantarum* juga dilaporkan stabil pada rentang pH yang luas mulai pH 2-8 (Ogunbawo, 2003). Hal ini dikarenakan titik isoelektrik bakteriosin asal *Lactobacillus plantarum* berada pada 8,0 –9,0, dimana semakin tinggi nilai pH maka solubilitasnya semakin menurun. Hal ini yang menjadikan bakteriosin mampu stabil pada pH asam hingga pH 8 (De Vuyst dan Vandamme, 1994 dalam Sumayvia, N., 2017)

Lactobacillus sp. berukuran 0,3-22 x 1,27-7 μm , sebagian bersifat motil (mampu bergerak) mobilitasnya ini disebabkan oleh flagel, jika dipanaskan akan membentuk endospora, yaitu bentuk dorman sel vegetatif sebagai bentuk pertahanan diri yang muncul saat kondisi ekstrim. (Delia, N., 2018)

Lactobacillus plantarum dan *Lactobacillus casei* merupakan bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai biopresevatif karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan perusak. *Lactobacillus plantarum* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan daya hambat terbesar dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya. Senyawa antimikroba yang dihasilkan dari *Lactobacillus plantarum* yaitu *plantaricin* (Fardiaz, 1992 dalam Usman, N.A., 2018)..

Lactobacillus casei juga menghasilkan asam laktat yang diperoleh dari fermentasi glukosa dan pembentukan laktat yang bersifat homofermentatif dengan membentuk laktat murni hampir 85% Berikut klasifikasi bakteri *lactobacillus sp.*

Filum : *Firmicutes*
Kelas : *Bacilli*
Ordo : *Lactobacillales*
Famili : *Lactobacillaceae*

Genus : *Lactobacillus*

Spesies : *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*. (Farinde, *et. al.*, 2010 dalam Usman, N.A., 2018)

2. Bakteri *Citrobacter sp.*

Citrobacter memiliki karakteristik morfologi berbentuk basil, bersifat gram negatif, koloni berbentuk bulat dengan tepian rata, koloni berwarna putih dengan permukaan convex. Klasifikasi bakteri *Citrobacter sp.* berdasarkan buku identifikasi bakteri *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition* (Robert S. Breed *et al*, 1957 dalam Sayuti, I., 2016)

Bakteri genus *Citrobacter* merupakan kelompok bakteri yang dapat memfermentasi gula, menghasilkan enzim urease, menghasilkan enzim katalase, menghasilkan gas H₂S, sitrat positif, indol positif dan *methyl red-voges prokauer* positif (Puti Sri Komala, dkk 2012, dalam Sayuti, I., 2016)

Berikut klasifikasi bakteri *Citrobacter sp.* menurut buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition* (Holt *et al.*, 1994 dalam Bintara, 2015) :

Filum : *Proteobacteria*

Kelas : *Gammaproteobacteria*

Ordo : *Enterobacteriales*

Famili : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Citrobacter*

Spesies : *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter hoshinae*, *Citrobacter ictaluri*, *Citrobacter emalonaticus*.

Deteksi bakteri *Klebsiella* dan *Citrobacter* yaitu bakteri digoreskan secara zig-zag pada permukaan media *Mac Conkey Agar* (MCA), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24- 48 jam. Pengamatan terhadap koloni apabila berwarna merah muda dan kuning, maka koloni anggota genus bakteri yang tumbuh pada media MC seperti genus *Klebsiella* dan *Citrobacter*.

Bakteri anggota genus *Citrobacter* memiliki karakter berbentuk batang dengan diameter antara 2-6 μ m. Bakteri jenis ini juga merupakan bakteri gram negatif

yang bersifat motil, anaerob fakultatif dan dapat tumbuh pada suhu optimal 37⁰C dan dapat tumbuh pada pH 5-9 (Holt *et al.*, 1994). (Sari, D.P., 2019)

Bakteri *citrobacter sp.* dan *shigella sp* merupakan bakteri indikator pada air, makanan, dan lain sebagainya yang tergolong bakteri dengan sifat gram negatif. Sejak diketahui adanya penyebaran bakteri tersebut pada semua individu, analisa bakteriologi yang memiliki hasil positif pada bakteri *citroacter sp* dan *shigella sp* pada jumlah tertentu dapat digunakan sebagai indikator adanya bakteri patogen pada air (Suriawira, 2005 dalam Khakim, L., 2018).

3. Bakteri *Shigella sp.*

Shigella sp. merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, tunggal, tidak memiliki flagel, aerobik ataupun aerobik fakultatif dan tidak membentuk spora. (Almi, F., 2018)

Shigella sp. merupakan bakteri fakultatif anaerob, tetapi bisa tumbuh lebih baik pada keadaan aerob, bentuk koloni pada media berbentuk konveks, sirkular, warna transparan dengan pinggiran yang utuh dengan diameter mencapai 2 mm pada inkubasi 24 jam. Semua memfermentasi D-glukosa tanpa produksi gas, pada strain *Shigella sonnei* bisa memfermentasi sukrosa dan laktosa pada inkubasi yang lebih lama (Rivaldi, A., 2016).

Berikut klasifikasi bakteri *shigella sp.* menurut Kanneth (2012) :

Ordo : *Eubacteriales*

Famili : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Shigella*

Spesies : *Shigella disentria*, *Shigella boydii*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonney*

Morfologi dari *Shigella sp* adalah bakteri Gram negatif yang berbentuk batang, tidak berspora, tidak berkapsul, dan tidak motil, berukuran 0,5x1-3µm, tumbuh optimum pada suhu 37°C dan pH 7,4 (Sari, N., 2018).

D. Identifikasi Isolat Bakteri

1. Isolasi Bakteri

Isolasi suatu bakteri merupakan sebuah teknik untuk mendapatkan koloni tunggal. Isolasi bakteri bertujuan untuk memisahkan dan membiakkan bakteri yang terdapat di dalam campuran dengan menggunakan media kultur sehingga diperoleh isolat bakteri atau biakkan murni dari bakteri tersebut (Darwis dan Sukar, 1999 dalam Hidayat, H., 2015)

Isolat bakteri yang berhasil diisolasi menggunakan media selektif *MRS broth* berdasarkan sifat-sifat umumnya adalah Bakteri Asam Laktat (BAL). Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat pada media pertumbuhannya. Sifat-sifat umum dari BAL antara lain bentuknya basil (batang), kokus (bulat), sifat gram positif, katalase negatif, endospora negatif, motilitas negatif, dan mampu menghasilkan asam laktat (Hidayat, H., 2015)

Media selektif *MRS agar* yang bertujuan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan mendapatkan koloni BAL yang diinginkan dan menghambat pertumbuhan bakteri lain atau bakteri yang tidak diinginkan (Ibrahim, 2015).

Kandungan Media *MRS* menurut Liofilchem (2008) 1% *peptone*, 1% *beefextract*, 0,5% *yeast extract*, 2% glukosa, 0,5% sodium asetat, 0,2% Kalium fosfat, 0,2% ammonium sitrat, 0,02% magnesium sulfat, dan 0,005% mangan, yang menjadi sumber makanan bagi *Lactobacillus* dan BAL lainnya. (Putri, A.A., 2018)

Macconkey merupakan media selektif untuk isolasi bakteri enterik Gram negatif. Media ini mengandung garam empedu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (Sari, N., 2018)

Macconkey agar termasuk salah satu media isolasi primer. *Macconkey* merupakan medium selektif differensial yang mengandung zat warna khusus dan karbohidrat untuk membedakan koloni yang memfermentasikan laktosa (berwarna merah muda) dengan koloni bakteri yang tidak memfermentasikan laktosa (tidak

bewarna), ukuran dan bentuk koloni bervariasi tergantung spesies. (Gunarson *et al.*, 1998).

Macconkey adalah media selektif dan diferensial yang digunakan untuk mengisolasi bakteri Gram negatif. Media *Macconkey* mengandung laktosa dan garam empedu. Garam empedu dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. *Macconkey* disebut sebagai media diferensial karena laktosa yang berperan sebagai sumber karbon utama, menyebabkan koloni yang tumbuh merupakan bakteri yang dapat memfermentasikan laktosa. (Wahyuni, R.M., 2018)

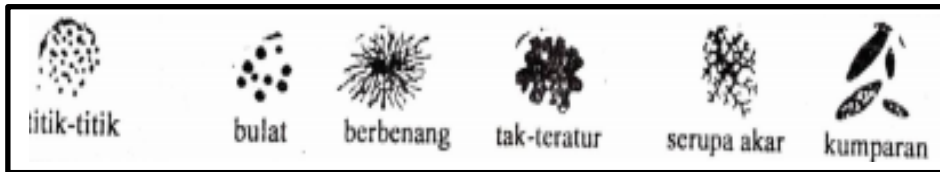
Koloni bakteri dihitung menggunakan metode hitungan cawan. Prinsip metode hitungan cawan adalah menumbuhkan sel bakteri pada cawan petri dengan media agar, maka bakteri mampu berkembang dan membentuk koloni. Jumlah koloni mikroba yang tumbuh pada media agar dan dapat dihitung berkisar antara kurang dari 300 koloni. Jika jumlah koloni lebih dari 300 koloni maka dapat dicatat dengan terlalu padat untuk dihitung (*too numerous to count*, TNTC). Syarat perhitungan dengan metode cawan menggunakan *standart plate count* (SPC) sebagai berikut:

- a. Cawan yang dipilih dan dihitung memiliki jumlah koloni 30-300.
- b. Koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni besar dimana jumlah koloni diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
- c. Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai satu garis tebal dihitung sebagai satu koloni. (Harti, 2015).

2. Uji Morfologi

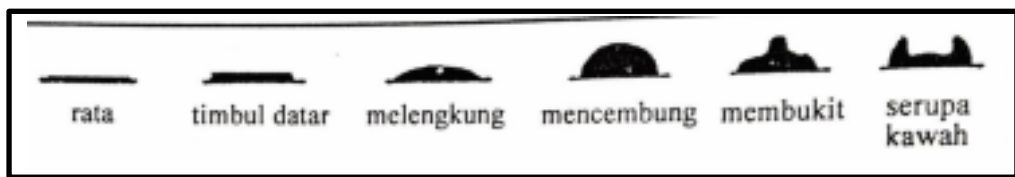
Isolat bakteri yang telah tumbuh ditentukan karakteristiknya melalui uji morfologi. Penentuan bentuk, elevasi, tepian, dan warna koloni didasarkan pada gambar dibawah ini : (Irianto, K., 2006)

- a. Bentuk koloni bakteri dilihat dari atas



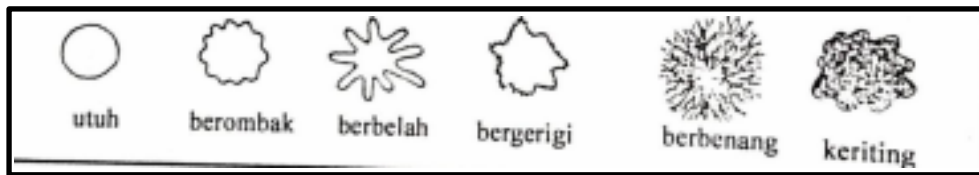
Gambar 2. Bentuk-bentuk koloni
Sumber: buku mikrobiologi

- b. Permukaan/elevasi koloni bakteri dilihat dari samping



Gambar 3. Bentuk-bentuk permukaan koloni
Sumber: buku mikrobiologi

- c. Tepi koloni bakteri dilihat dari atas



Gambar 4. Bentuk tepi koloni
Sumber: buku mikrobiologi

3. Uji Biokimia

Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara yang dilakukan untuk mengidentifikasi suatu biakan bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya

- a. Uji Gram

Uji gram dilakukan untuk mengelompokkan bakteri berdasarkan reaksi kimia yang terbagi menjadi dua yaitu Gram positif dan Gram negatif. (Hidayat, H., 2015)

- b. Uji Katalase

Pada uji katalase dua tetes isolat bakteri *Enterococcus durans* ditambahkan dua tetes H₂O₂ 10%. Apabila terdapat gelembung gas maka hasil uji katalase

menunjukkan bakteri positif katalase. sebaliknya, bila tidak terbentuk gelembung gas pada reaksi uji katalase, maka hasil uji menunjukkan bakteri negative katalase.

Uji katalase digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya katalase pada isolat bakteri. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Enzim katalase diduga penting untuk pertumbuhan aerobik karena H_2O_2 yang dibentuk dengan pertolongan berbagai enzim respirasi bersifat racun terhadap sel mikroba (Lay, 1994 dalam Putri, A.A., 2018)

c. Uji Motilitas

Kemampuan suatu organisme untuk bergerak sendiri disebut motilitas. Hampir semua sel bakteri spiral dan sebagian dari sel bakteri basil bersifat motil, sedangkan bakteri yang berbentuk kokus bersifat immotil. Sifat ini diakibatkan oleh adanya alat motor cambuk yang disebut flagella sehingga sel bakteri dapat berenang di dalam lingkungan air. Motilitas sebagian besar jenis bakteri motil pada suhu relatif rendah 15-25°C dan mungkin tidak motil pada suhu 37°C. Beberapa bakteri dapat melakukan gerakan meluncur yang sangat mulus yang hanya terjadi kalau persentuhan dengan benda padat. Kebanyakan bakteri yang motil dapat mendekati atau menjauhi berbagai senyawa kimia yang disebut kemosintesis (Volk, 1988 dalam Mahmudah, R., 2016)

Motilitas bakteri dapat disebabkan karena bakteri memiliki flagel (gerak aktif) atau pun karena factor dari luar (Gerak Brown). Gerak Brown merupakan gerakan secara acak yang disebabkan karena adanya benturan dari molekul-molekul dalam medium (Ulfa, A., 2016)

Hasil uji motilitas bakteri positif dapat dilihat dengan adanya pertumbuhan bakteri pada permukaan media atau tidak hanya bekas pada tusukan, sedangkan bakteri non motil tumbuh sepanjang tusukan (Harley, 2005 dalam Amaliyah, Z.Z.N., 2018)

d. Uji Produksi Gas CO_2

Bakteri asam laktat terbagi menjadi 2 jenis yaitu bakteri homofermentatif dan bakteri heterofermentatif. Bakteri homofermentatif adalah fermentasi bakteri asam laktat yang hanya menghasilkan asam laktat sebagai produknya. Bakteri

homofermentatif sering digunakan dalam pengawetan makanan, karena produksi asam laktat dalam jumlah tinggi di dalam makanan dapat menghambat pertumbuhan bakteri lainnya yang dapat menyebabkan pembusukan makanan.

Bakteri heterofermentatif adalah fermentasi bakteri asam laktat yang tidak hanya menghasilkan asam laktat sebagai produknya, akan tetapi juga menghasilkan produk samping seperti etanol dan asam asetat (Buckle, 1987 dalam Novirisandi, R., 2012)

e. Uji Endospora

Bakteri termasuk dalam kelompok Gram positif, apabila sel bakteri tetap berwarna ungu karena dinding selnya lebih kuat mengikat kristal violet dan warna dari safranin terhapus akibat pencucian, sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah karena Kristal violet lebih mudah larut saat pencucian. Selain itu, dengan dilakukannya pewarnaan Gram dapat digunakan untuk melihat bentuk sel bakteri seperti bulat, basil dan spiral. Pewarnaan endospora menggunakan dua reagen warna yaitu *Melachite green* dan safranin. *Melachite green* adalah zat warna utama yang akan memberi warna hijau pada endospora, Sedangkan safranin, yang akan memberikan warna merah pada bagian sel bakteri selain endospora (Tortora, Funke, & Case, 2010).

E. Uji Penghambatan Secara In-vitro

In-vitro secara harfiah “dalam gelas”. Berkenaan dengan percobaan biologis yang dilakukan dalam tabung raksi atau wadah-wadah laboratorium lainnya. (Irianto, Koes, 2013)

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo, 1971).

Pengujian aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa isolat yang teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* mampu menghambat pertumbuhan

bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus*. Daerah hambatan yang dapat diamati melalui zona jernih dapat dipastikan bukan berasal dari asam-asam organik karena supernatan antibakteri telah dinetralkan dengan larutan NaOH.

Bakteriosin diproduksi oleh beberapa strain bakteri termasuk bakteri asam laktat (BAL). Senyawa uini disintetis oleh bakteri asam laktat. Bakteriosin bersifat mudah dicerna, berpengaruh baik terhadap kesehatan serta aktif pada konsentrasi rendah (Cleveland, *et al*, 2001 dalam Sumayvia, Nadya, 2017). Bakteriosin yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme tidak akan memiliki efek penghambatan bagi organisme itu sendiri. (Ogunbawo, 2003 dalam Sumayvia, N., 2017)

Biosintetis bakteriosin dimulai dengan pembentukan peptide penginduksi (*induction factor/ IF*) dan prepeptida bakteriosin. Prepeptida dan IF ini kemudian diurasi dan dikeluarkan melalui ABC transporter. Pada batas konsentrasi tertentu dari peptide penginduksi yang telah dikeluarkan, histidin protein kinase (HPK) menjadi aktif dan menyebabkan terjadinya autofosforilasi. Detail molecular mengenai bagaimana peptide penginduksi mengaktifkan HPK belum banyak diketahui. HPK yang telah aktif kemudian berinteraksi dengan protein respon regulator (RR) melalui proses transfosforilasi dimana grup fosfat yang berada pada residu histidin pada HPK yang aktif berpindah ke RR. Reaksi fosforilasi ini mengaktifkan fungsi RR sebagai activator transkripsi yang mengikat promotor gas spesifik bakteriosin dan merangsang transkripsi. RR juga mengaktifkan gen yang mengodekan 3 komponen sistem regulator dan dimulailah *feedback* positif (Drige, 2006 dalam Sumayvia, N., 2017)

Terhambatnya pertumbuhan bakteri patogen oleh bakteriosin disebabkan karena adanya interaksi elektrostatik bakteriosin yang bermuatan positif dengan lipid membran sitoplasma yang bermuatan negatif. Bagian hidrofobik bakteriosin akan masuk ke dalam membran sitoplasma dengan membentuk pori. Pembentukan pori ini akan menyebabkan kegagalan proton motive force (PMF). PMF merupakan proton yang membentuk energi untuk digunakan dalam berbagai aktifitas sel termasuk metabolisme sel bakteri. Oleh karena itu, kegagalan PMF

akan menyebabkan kematian sel melalui penghentian semua reaksi yang membutuhkan energi (Chen et al., 2003 dalam Sari, 2016).

Target Kerja Bakteriosin dari bakteri asam laktat adalah menerobos membrane sitoplasma sel bakteri yang sensitif. Target utama bakteriosin adalah membrane sitoplasma sel bakteri karena reaksi awal bakteriosin adalah merusak permeabilitas membrane sehingga menghambat produksi energy dan biosintesis protein atau asam nukleat (Jenie dan Rini, 1995 dalam Novirisandi, R., 2012)

Mekanisme aktivitas bakterisidal bakteriosin adalah sebagai berikut. Molekul bakteriosin kontak langsung dengan membrane sel. Proses kontak ini mampu mengganggu poteensial membrane berupa “destabilitas” membrane sitoplasma sehingga sel menjadi tidak kuat. Rusaknya membrane sitoplasma ditunjukkan oleh adanya aktivitas keluar-masuknya molekul seluler (Jenie dan Rini, 1995 dalam Novirisandi, R., 2012)

Rusaknya membran sitoplasma ini berdampak pada penurunan gradient pH seluler. Pengaruh rusaknya membrane sitoplasma merupakan dampak adanya bakteriosin yang menyebabkan terjadinya perubahan gradient potensial membrane dan pelepasan molekul intraseluler maupun masuknya substansi ekstraseluler (lingkungan). Efeknya menyebabkan pertumbuhan sel terhambat dan menghasilkan proses kematian pada sel yang sensitive terhadap bakteriosin (Rostini, 2017 dalam Novirisandi, R., 2012)

Isolat bakteri asam laktat (BAL) yang memiliki aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Semakin besar zona bening yang terbentuk maka semakin besar aktivitas penghambatan isolat bakteri asam laktat (BAL) terhadap bakteri patogen.

Berdasarkan perhitungan luas zona hambat yang diamati pada media, zona hambat dapat dikategorikan sebagai berikut:

- Diameter >20 mm dikategorikan sangat kuat
- Diameter 11-20 mm dikategorikan kuat
- Diameter 6-10 mm dikategorikan sedang
- Diameter <5 mm dikategorikan lemah

(Susanto, Sudrajat dan Ruga, 2012 dalam Surjowordoyo, 2016)

Pada penelitian pengujian efektifitas ekstrak etanol daun kamboja secara *in vitro*, Uji *in vitro* merupakan suatu metode uji pada media buatan yang sesuai dengan lingkungan optimal yang diperlukan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembangbiak. Uji tersebut dilakukan untuk melihat daya kerja antimikrobia ekstrak daun kamboja. Metode yang digunakan pada pengujian *in vitro* adalah metode difusi atau metode cakram kertas antibiogram *Kirby- Bauer* (Lay, 1994) dan menggunakan metode dilusi. Pada metode difusi parameter yang diamati adalah zona hambat yang terbentuk, yaitu dengan mengukur diameter zona jernih di sekitar sumur dengan penggaris (Rahman, 2008 dalam Ikrom, 2014).

Daya antimikrobia diukur secara *in vitro* agar dapat ditentukan kemampuan suatu zat antimikrobia (Jawetz , 2001). Adanya fenomena ketahanan tumbuhan secara alami terhadap mikrobia menyebabkan pengembangan sejumlah senyawa yang berasal dari tanaman yang mempunyai kandungan antibakteri dan antifungi (Griffin, 1981).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Hermawan, 2007).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. (Kusmayati dan Agustini, 2007).

F. Jurnal Penelitian Terdahulu

Tabel 1. Jurnal terdahulu yang relevan dengan penelitian

NO	NAMA PENELITI	JUDUL PENELITIAN	TAHUN	HASIL PENELITIAN	SUMBER LITERATUR
1	Amelia Andika Putri Erina Fakhrurrazi	Isolasi BAKteri Asam Laktat Genus <i>Lactobacillus</i> dari Feses Rusa Sambar (<i>Cervus unicolor</i>)	2018	Bakteri asam laktat genus <i>Lactobacillus</i> dapat diisolasi dari sampel feses rusa sambar di Taman Rusa Sibreh, Aceh Besar.	Jurnal Prodi Pend. Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala
2	Z.Z Nur Amaliah Saiful Bahri Puteri Amelia	Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai	2018	Dalam penelitian ini diperoleh delapan isolat yang berhasil diisolasi dari limbah cair rendaman kacang kedelai, tujuh diantaranya teridentifikasi sebagai Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diduga sebagai anggota genus <i>Lactobacillus</i> .	Jurnal Farmasi
3	Rafika Sari Lia Deslianri Pratiwi Apridamayanti	Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari Minuman <i>Ce Hun Tiau</i>	2016	Pada minuman <i>Ce hun tiau</i> teridentifikasi mengandung bakteri asam laktat (BAL) yang merupakan kelompok <i>Lactobacillus plantarum</i> dan memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen, seperti <i>Escherichia coli</i> sebesar 8,07 mm, <i>Staphylococcus aureus</i> sebesar 11,43 mm dan <i>Salmonella typhi</i> sebesar 9,0 mm yang merupakan aktivitas dari bakteriosin.	Jurnal Program Studi farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak

NO	NAMA PENELITI	JUDUL PENELITIAN	TAHUN	HASIL PENELITIAN	SUMBER LITERATUR
4	Siti Chotiah Rini Damayanti	Karakteristik Bakteri Asam laktat Kandidat Probiotik untuk Mengatasi Salmonellosis pada Ayam Pedaging	2018	Kandidat probiotik tersebut bersifat tidak patogen, memiliki aktivitas antimikroba (<i>in vitro</i>) terhadap Salmonella enterica serotipe Typhimurium BCC B0046 dan serotype Enteritidis BCC B2893, tahan berkolonisasi dalam usus ayam pedaging selama 40 hari dengan konsentrasi >1010 CFU/gram, dan masa simpan sampai 1 tahun dalam bentuk liofilisasi menggunakan protektan inositol serum 5% atau susu skim 7,5% pada suhu simpan 5qC dengan konsentrasi >log 10 CFU/ml.	Jurnal Balai Besar Penelitian Veteriner
5	Atiqa Ulfa Endang Suarsini Mimien Henie Irawati	Isolasi dan Uji Sensitivitas pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat : Penelitian Pendahuluan	2016	Diperoleh empat isolat bakteri (K1, K2, K3, dan K4) yang tahan terhadap logam berat merkuri dengan konsentrasi 30 ppm. Berdasarkan uji sensitivitas dengan metode sumuran, K1 dan K3 tergolong intermediet sedangkan K2 dan K4 tergolong resisten.	Jurnal Universitas Negeri Malang
6	Nelma Sari Erina Mahdi Abrar Elia Wardan Fakhrurazi Razali Daud	Isolasi dan Identifikasi <i>Salmonella sp.</i> dan <i>Shigella sp.</i> pada Feses Bendi di Bukittinggi Sumatera Barat	2018	Dari hasil pengamatan uji biokimia terdapat satu sampel yang positif <i>Salmonella sp</i> yaitu sampel A dan C, sedangkan untuk bakteri <i>Shigella sp</i> hasilnya negatif (tidak terdapat bakteri <i>Shigella sp</i>).	Jurnal Prodi Pend. Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

NO	NAMA PENELITI	JUDUL PENELITIAN	TAHUN	HASIL PENELITIAN	SUMBER LITERATUR
7	Dian Purnamasari Rahmawati Elvi Rusmiyanto P.W	Deteksi dan Identifikasi Genera Bakteri <i>Coliform</i> Hasil Isolasi dari Minuman Lidah Buaya	2019	Bakteri anggota genus <i>Citrobacter</i> biasanya tersebar luas di lingkungan, sehingga bakteri ini dapat dijumpai di dalam air, tanah dan makanan. Begitu pula bakteri anggota genus <i>Klebsiella</i> yang hidup sebagai saprofit pada lingkungan hidup, pada air, tanah, makanan, sayur-sayuran dan tumbuhan.	Jurnal LAbora Medika Vol. 3 No. 1
8	Sukriani Kursia, Imrawati Ismail Aliansyah Halim Nurunnisa Ramadhani Fadhillah Ramadhani Fanni Priska Fildzah Hanifah	Identifikasi Biokimia dan Aktivitas antibakteri Isolat Bakteri Asam Latat Limbah Sayur Bayam	2020	Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat merupakan substansi protein yang memiliki berat molekul yang kecil dan dapat berperan sebagai bakteriosida. Bakteriosin pada bakteri asam laktat banyak digunakan dalam produk fermentasi karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen	Media Farmasi Poltekkes Makassar
9	Hamimatul Khoiriyah Puji Ardiningsih	Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Terhadap Aktivitas Bakteriosin <i>Lactobacillus sp. RED₄</i>	2014	Aktivitas bakteriosin dari <i>Lactobacillus sp. RED₄</i> terdeteksi pada fase eksponensial yaitu jam ke-4 dan mencapai optimal pada awal fase stasioner yaitu jam ke-16.	Jurnal Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura
10	N. A. Usman K. Suradi J. gumilar	Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat <i>Lactobacillus Plantarum</i> dan <i>Lactobacillus Casei</i> terhadap Mutu Mikrobiologi dan Kimia Mayones Probiotik	2018	Penambahan konsentrasi bakteri asam laktat memberikan pengaruh berbeda terhadap sifat mikrobiologi (jumlah bakteri asam laktat dan jumlah bakteri total) dan sifat kimia (pH dan kadar asam laktat) mayones probiotik	Jurnal Ilmu Ternak

NO	NAMA PENELITI	JUDUL PENELITIAN	TAHUN	HASIL PENELITIAN	SUMBER LITERATUR
11	Ikrom Denok Asih T.R Reni Wira A Bintang Perkasa Rafika Tiara N. Wasito	Studi In Vitro Ekstrak etanol Daun Kamboja (<i>Plumeria alba</i>) sebagai Anti <i>Aeromonas hydrophila</i>	2014	Hasil penelitian ini membuktikan, bahwa pada konsentrasi tertentu ekstrak etanol daun kamboja dapat menghambat pertumbuhan <i>A. hydrophila</i> , meskipun hal tersebut masih perlu diteliti <i>in vivo</i> . Penelitian lanjutan <i>in vivo</i> perlu dilakukan mengingat arti penting aplikasi ekstrak etanol daun kamboja dalam pengobatan penyakit bakterial pada ikan di kolam-kolam ikan di lapangan.	Jurnal Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
12	Raifah Mahmudah Maswati Baharuddin Sappewali	Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng	2016	Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri termofilik berasal dari genus <i>Pseudomonas</i> sp. dengan karakteristik bakteri gramnegatif, sel berbentuk batang, positif terhadap uji oksidase dan positif terhadap uji <i>metyl red</i>	Jurnal Jurusan Kimia Fakultas Sains dan teknologi UIN Alauddin Makassar
13	Rochma Novirisandi	Kajian Viabilitas dan Pola Pertumbuhan <i>Lactobacillus Plantarum</i> pada Variasi Konsentrasi Molase dan Waktu Inkubasi	2012	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pola pertumbuhan bakteri <i>Lactobacillus Plantarum</i> pada konsentrasi molase 1%, 2%, dan 3% memiliki persamaan fase pertumbuhan yaitu fase log, stasioner, dan perlambatan 2. Kombinasi antara konsentrasi molase dan waktu inkubasi berpengaruh terhadap pertumbuhan <i>Lactobacillus Plantarum</i>. 3. Viabilitas bakteri <i>Lactobacillus Plantarum</i> pada variasi konsentrasi molase 1%, 2%, dan 3% di akhir masa inkubasi masih baik 	Skripsi Program Studi Biologi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

NO	NAMA PENELITI	JUDUL PENELITIAN	TAHUN	HASIL PENELITIAN	SUMBER LITERATUR
14	Habibi Hidayat	Identifikasi Morfologi dan Uji Aktifitas Antimikroba terhadap Bakteri <i>Escheria Coli</i> dari Fermentasi Buah Markisa (<i>Passiflora Sp.</i>)	2015	<ol style="list-style-type: none"> 1. Isolat yang diperoleh dari ferementasi buah markisa adalah uji gra positif yang berbentuk hasil basil dan basil kokus 2. Uji aktivitas antimikroba untuk masing-masing isolat diperoleh nilai yang bervariasi selama tiga hari. 	Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Islam Indonesia
15	Nanda Delia Heru Adi Djatmiko Nur Prihatiningsih	Eksplorasi, Identifikasi, dan Uji Bakteri Antagonis <i>Bacillus sp.</i> dari Rizosfer Jagung Terhadap bakteri Layu Stewart	2018	<p><i>Bacillus</i> sp. ditemukan pada rizosfer jagung ditunjukkan dengan ciri-ciri koloni bakteri bulat dan bulat kecil, variasi margin dari halus dan berombak, berwarna putih kusam, tidak berlendir, bakteri gram positif, mempunyai endospora, berflagel dan sebagian bersifat motil. Identifikasi patogen layu Stewart memiliki koloni berwarna kuning pada medium NA, kuning cerah pada medium Kings'B, memiliki keadaan koloni berlendir, non motil, koloni berkilau, gram negatif, anaerob fakultatif, non-motil, katalase positif, oksidase negatif, hidrosis pati positif, uji pertumbuhan suhu 40°C negatif, dan uji patogenisitas positif. <i>Bacillus</i> sp. yang paling efektif dalam menghambat bakteri patogen layu Stewart adalah <i>Bacillus</i> Bn1 dengan luas zona hambatan sebesar 3,29 mm².</p>	Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto

NO	NAMA PENELITI	JUDUL PENELITIAN	TAHUN	HASIL PENELITIAN	SUMBER LITERATUR
16	Renji Mailisa Wahyuni Arman Sayuti Mahdi Abrar Erina M. Hasan Zainuddin	Isolasi dan Identifikasi Bakteri Enterik Patogen pada Badak Sumatera (Dicerorhinus Sumatrensis) di Suaka Rhino Sumatera (SRS), Taman Nasional Way Kambas (TNWK), Lampung	2018	Tujuh sampel feses badak sumatera (Dicerorhinus Sumatrensis) di Suaka Rhino Sumatera (SRS) yang telah dilakukan terdapat bakteri enterik patogen pada badak sumatera di Suaka Rhino Sumatera (SRS), Taman Nasional Way Kambas (TNWK), Provinsi Lampung. Bakteri enteric patogen yang ditemukan pada feses yaitu <i>Escherichia Coli</i> , <i>Enterobacter sp</i> , <i>Salmonella sp.</i> , dan <i>Alcaligenes sp</i> .	JIMVET E-ISSN
17	Nadya Sumayvia	Produksi Bakteriosin asal <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 0020 sebagai Antimikroba dan Stabilitasnya pada Variasi Suhu Pemanasan, Suhu Penyimpanan, dan pH	2017	Bakteriosin yang dihasilkan <i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 0020 stabil pada pH 4 hingga pH 7 dengan nilai penghambatan terhadap bakteri patogen sebesar 4.01-5.24 mm	Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang