

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PROBIOTIK ASAL USUS  
ITIK BETINA *Anas domesticus* DARI PESISIR DESA TAMASAJU  
KECAMATAN GALESONG UTARA KABUPATEN TAKALAR**



**RISKA**

**H041201020**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2024**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PROBIOTIK ASAL USUS  
ITIK BETINA *Anas domesticus* DARI PESISIR DESA TAMASAJU  
KECAMATAN GALESONG UTARA KABUPATEN TAKALAR**

**RISKA  
H041 20 1020**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PROBIOTIK ASAL USUS  
ITIK BETINA *Anas domesticus* DARI PESISIR DESA TAMASAJU  
KECAMATAN GALESONG UTARA KABUPATEN TAKALAR**

RISKA  
H041 20 1020

Skripsi

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana*

Program Studi Biologi

pada

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PROBIOTIK ASAL USUS  
ITIK BETINA *Anas domesticus* DARI PESISIR DESA TAMASAJU  
KECAMATAN GALESONG UTARA KABUPATEN TAKALAR

RISKA  
H041 20 1020

Skripsi,

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sarjana Biologi pada 18 Juli 2024 dan  
dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Biologi  
Departemen Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,

Prof. Dr. Dirayah R Husain, DEA.  
NIP. 196005251986012001

Pembimbing Pertama,

Dr. Eddyman W Ferial, M.Si  
NIP. 197001101997021001

Mengetahui:  
Ketua Program Studi

Dr. Magdalena Litaay, M. Sc.  
NIP. 196409291989032002

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Asal Usus Itik Betina *Anas domesticus* dari Pesisir Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Prof. Dr. Dirayah R Husain, DEA. sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Eddyman W. Ferial, M.Si sebagai Pembimbing Pertama). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 18 Juni 2024



Riska  
H041 20 1020

## UCAPAN TERIMA KASIH

*Bismillahirrahmanirrahim*

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah *Subhanahu wa Ta'ala* karena berkat rahmat-Nya dan hidayah-Nya sehingga penelitian ini dan skripsi ini dapat penulis rampungkan. Shalawat serta salam semoga dilimpahkan kepada baginda Rasulullah *shallallahu alaihi wasallam* beserta keluarga beliau dan sahabat hingga akhir zaman. Penulisan skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Asal Usus Itik Betina *Anas domesticus* dari Pesisir Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar”** merupakan upaya penulis memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan dan memperoleh gelar Sarjana Sains di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Selain itu, skripsi ini juga diharapkan dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan peneliti lain untuk menambah wawasan dalam bidang biologi khususnya mikrobiologi.

Proses penyelesaian skripsi ini merupakan suatu rangkaian perjuangan yang cukup panjang bagi penulis. Selama proses penelitian maupun penyusunan skripsi ini, tidak sedikit hambatan maupun kendala yang penulis hadapi. Do'a dan dukungan dari berbagai pihak merupakan hal yang berarti, sehingga penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan oleh penulis. Oleh karena itu, dengan tulus dan ikhlas, penulis mengucapkan terima kasih sebanyak-banyaknya. Teristimewa untuk orang tuaku tercinta Ibunda Jibo Dg Ngai dan dukungan Keluarga yang senantiasa memberikan dukungan kepada penulis baik moral maupun materil, lantunan do'a, nasehat dan motivasi yang diberikan oleh penulis selama menempuh Pendidikan dari tingkat dasar hingga pada tingkat perguruan tinggi.

Penulis menyampaikan penghargaan setinggi-tingginya dan banyak terima kasih kepada Ibu Prof. Dr. Dirayah Rauf Husain, DEA. selaku pembimbing utama dan Bapak Dr. Eddyman W. Ferial, M.Si. selaku pembimbing pertama atas kesediannya yang telah meluangkan banyak waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan bimbingan dan motivasi kepada Penulis, mulai dari awal penyusunan sampai penyelesaian skripsi ini. Pada kesempatan ini pula, dengan segala kerendahan hati Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya 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 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Penulis mengucapkan terima kasih atas ilmu, masukan, saran dan dukungannya.
4. Drs. H. Muhtadin Asnady S., M.Si selaku Penasehat Akademik (PA) yang senantiasa memberikan arahan, dukungan dan bimbingan dari awal masa studi hingga penyusunan skripsi ini dan Bapak Drs. Muh. Ruslan. Umar, M. Si selaku

dosen penguji, terima kasih atas segala arahan dan saran yang 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 pada saat penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
6. Fuad Gani S.Si. selaku Laboran Mikrobiologi, terima kasih atas bimbingan, saran dan ilmunya selama proses perkuliahan, penelitian, hingga penyusunan skripsi ini
7. Ainun Amini, Hayatul Azizah, Yosheline, dan Dhea Sagita, selaku partner penelitian yang selalu menemani dan memotivasi mulai dari awal masa studi hingga sekarang.
8. Teman-teman seperjuangan Biologi Angkatan 2020, terima kasih atas doa, dukungan, bantuan, dan kebersamaannya selama perkuliahan, terkhusus kepada Sarwan, Doni, Ahmad Nurfakhry Salim, Muhammad Rizal Udin, dan Dzulfaida Rajasa yang telah banyak membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi.
9. Seluruh pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan yang tidak dapat Penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga segala kebaikan yang diberikan dari berbagai pihak kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini dapat bernilai ibadah di sisi Allah *Subhanahu wa Ta'ala*. Akhir kata, penulis memohon maaf atas kesalahan yang disengaja maupun tidak disengaja dalam rangkaian penyusunan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Makassar, 18 Juni 2024



Riska  
H041 20 1020

## ABSTRAK

**RISKA. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Asal Usus Itik Betina *Anas domesticus* dari Pesisir Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar** (dibimbing oleh Prof. Dr. Dirayah Rauf Husain, DEA dan Dr. Eddyman W. Ferial, M.Si).

**Latar belakang.** Probiotik sebagai *biosupplement* yang aman bagi ternak dapat meningkatkan performa produksi ternak dan mampu menggantikan Antibiotic Growth Promotor. Probiotik merupakan mikroorganisme yang termasuk kategori bakteri asam laktat (BAL) khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. **Tujuan.** memperoleh isolat dan mengidentifikasi karakterisasi bakteri probiotik dari usus itik Betina *Anas domesticus* di pesisir Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar. **Metode.** Isolasi bakteri probiotik menggunakan medium MRSA yang ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  1%. Kemampuan sebagai bakteri probiotik diperoleh dengan melakukan uji ketahanan terhadap pH rendah, garam empedu dan temperatur 15 °C, 37 °C dan 45 °C. Karakteristik bakteri dilakukan melalui uji makroskopik dengan mengamati bentuk koloni, patogen dengan menggunakan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. **Hasil.** Diperoleh 6 isolat bakteri probiotik, bersifat gram positif, berbentuk coccus, mampu tumbuh pada medium dengan pH 2,5-3.0 dan medium yang mengandung garam empedu sintetik 1 % dan 5 %, temperatur 15 °C, 37 °C dan 45 °C, serta optimum pada temperatur 37 °C dan 45 °C. Keenam isolat bersifat non motil, 5 isolat positif terhadap uji MR dan 1 negatif terhadap uji MR dan negatif terhadap uji VP, 5 katalase negatif dan 1 katalase positif, mampu memfermentasi karbohidrat pada medium TSIA. Hasil uji daya hambat isolat PRIB 4, PRIB 5 dan PRIB 3 mampu menghasilkan zona hambat sebesar 8-9 mm dan 10-14 mm uji mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan Gram. Dilakukan uji-uji biokimia seperti uji motilitas, uji MR-VP, uji katalase dan uji TSIA, serta uji daya hambat terhadap bakteri. **Kesimpulan.** Diperoleh 6 isolat yang menunjukkan karakteristik bakteri probiotik dan dari hasil uji daya hambat didapatkan isolat PRIB 4 memiliki kemampuan menghasilkan antimikroba yang bersifat bakteriostatik sedangkan isolat PRIB 3 dan PRIB 5 memiliki kemampuan menghasilkan antimikroba yang bersifat bakterisida terhadap pertumbuhan *E.coli* dan *S.aureus*.

**Kata kunci:** Probiotik, BAL, itik Betina *Anas domesticus*, Usus Itik Betina *Anas domestikus*, Kabupaten Takalar

## ABSTRAK

**RISKA. Isolation and Characterization of Probiotic Bacteria from the Intestines of Female Duck *Anas domestica* from the Coast of Tamasaju Village, North Galesong District, Takalar Regency** (Supervised by Prof. Dr. Dirayah Rauf Husain, DEA dan Dr. Eddyman W. Ferial, M.Si).

**Background.** Probiotics as a biosupplement that is safe for livestock can improve livestock production performance that and replace Antibiotic Growth Promoters. Probiotics are microorganisms that belong to the category of lactic acid bacteria (LAB), especially the genus *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. **Aim.** To obtain isolates and identify the characterisation of probiotic bacteria from the intestines of female *Anas domestica* ducks on the coast of Tamasaju Village, North Galesong District, Takalar **Method.** Isolation of probiotic bacteria using MRSA medium added with 1% CaCO<sub>3</sub>. The ability as probiotic bacteria was obtained by conducting resistance tests to low pH, bile salts and temperatures of 15 °C, 37 °C and 45 °C. Bacterial characteristics were carried out through macroscopic tests by observing the shape of colonies, microscopic tests were carried out by Gram staining. Biochemical tests were carried out such as motility test, MR-VP test, catalase test and TSIA test, as well as inhibition test against pathogenic bacteria using *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Results.** There were 6 isolates of probiotic bacteria, gram positive, coccus shaped, able to grow on medium with pH 2.5-3.0 and medium containing 1% and 5% synthetic bile salts, temperature 15 °C, 37 °C and 45 °C, and optimum at 37 °C and 45 °C. The six isolates are non-motile, 5 isolates are positive to MR test and isolate 6 is negative to MR test and six isolates negative to VP test, 5 catalase negative and 1 catalase positive, able to ferment carbohydrates on TSIA medium. From the results of the inhibition test, isolates PRIB 4, PRIB 5 and PRIB 3 were able to produce inhibition zones of 8-9 mm and 10-14mm. **Conclusion.** Obtained 6 isolates that show the characteristics of probiotic bacteria and from the results of the inhibition test obtained isolate PRIB 4 has the ability to produce antimicrobials that are bacteriostatic while isolates PRIB 3 and PRIB 5 have the ability to produce antimicrobials that are bactericidal against the growth of *E.coli* and *S.aureus*.

**Kata kunci:** Probiotics, LAB, female *Anas domestica* ducks, intestine of female *Anas domestica* ducks, Takalar Regency.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Dasar Teori .....	3
1.2.1 Itik Lokal <i>Anas domesticus</i> .....	3
1.2.2 Bakteri Probiotik .....	4
1.2.3 Bakteri Asam Laktat.....	6
1.2.4 Jenis Jenis Bakteri Probiotik .....	7
1.2.5 Mekanisme Kerja Probiotik .....	8
1.2.6 Kriteria Bakteri Probiotik .....	10
1.2.7 Manfaat Bakteri Probiotik Probiotik .....	11
1.2.8 Sumber Isolat Bakteri Probiotik .....	15
1.2.9 Bakteri Patogen .....	16
1.3 Tujuan .....	16
1.4 Manfaat .....	16
BAB II METODE PENELITIAN .....	17
2.1 Tempat dan Waktu.....	17
2.2 Alat dan Bahan .....	17
2.2.1 Alat .....	17
2.2.1 Bahan .....	17
2.3 Prosedur Kerja .....	17
2.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	17

2.3.2 Pembuatan Medium .....	18
2.3.3 Pengambilan Sampel Itik betina <i>Anas domestica</i> .....	19
2.3.4 Isolasi Bakteri Probiotik .....	19
2.3.5 Pemurnian Bakteri Probiotik.....	19
2.3.6 Pembuatan Stok Isolat Bakteri Probiotik.....	20
2.3.7 Pengamatan Morfologi Bakteri Probiotik.....	20
2.3.7.1 Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri .....	20
2.3.7.2 Pengamatan Morfologi Sel Bakteri (Pengecatan Gram).....	20
2.3.8 Uji Fisiologis Bakteri Probiotik .....	20
2.3.8.1 Uji Ketahanan Terhadap Keasaman Lambung (pH) .....	20
2.3.8.2 Uji Ketahanan Terhadap Garam Empedu .....	21
2.3.8.3 Uji Ketahanan Temperatur (Suhu) .....	21
2.3.9 Uji Karakteristik Biokimia .....	21
2.3.9.1 Uji MR (Methyl-Red) .....	21
2.3.9.2 Uji VP (Voges Proskauer) .....	21
2.3.9.3 Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar) .....	21
2.3.9.4 Uji Motilitas .....	22
2.3.9.5 Uji Katalase .....	22
2.3.10 Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri Patogen .....	22
2.3.10.1 Penyiapan Bakteri Uji .....	22
2.3.10.2 Penyiapan Kultur Bakteri Probiotik .....	22
2.3.10.3 Uji Antibakteri .....	22
2.4 Analisis Data .....	22
<b>BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
3.1 Pengambilan Sampel .....	23
3.2 Isolasi Bakteri Asam Laktat .....	24
3.3 Pemurnian Bakteri Asam Laktat .....	26
3.4 Pembuatan Stok Bakteri .....	27
3.5 Pengamatan Morfologi Bakteri Asam Laktat (BAL).....	27
3.6 Pengamatan Morfologi Sel Bakteri Asam Laktat (Pengecatan Gram).....	28
3.7 Uji Potensi Isolat BAL Sebagai Probiotik .....	30
3.7.1 Uji Ketahanan Terhadap Asam Lambung (pH) .....	31
3.7.2 Uji Ketahanan Garam Empedu .....	33
3.7.3 Uji Ketahanan Terhadap Suhu .....	36
3.8 Uji Biokimia .....	38

3.8.1 Uji MR ( <i>Methyl-Red</i> ) .....	38
3.8.2 Uji VP ( <i>Voges Prokauer</i> ).....	39
3.8.3 Uji Motilitas .....	40
3.8.4 Uji TSIA ( <i>Triple Sugar Iron Agar</i> ).....	41
3.8.5 Uji Katalase .....	42
3.9 Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri Patogen .....	43
BAB IV PENUTUP .....	50
4.1 Kesimpulan .....	50
4.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51

**DAFTAR TABEL**

<b>Nomor Urut</b>	<b>Halaman</b>
1. Kode Isolat Bakteri Probiotik Itik Betina Anas Domestikus pada Pengenceran 10 <sup>2</sup> dan 10 <sup>3</sup> .....	27
2. Hasil Pengamatan Morfologi BAL .....	28
3. Hasil Pengamatan morfologi sel Isolat BAL .....	29
4. Hasil pengamatan Uji Ketahanan terhadap Asam Lambung (pH) .....	32
5. Hasil Pengamatan Uji terhadap Garam Empedu .....	35
6. Hasil Uji Ketahanan Isolat BAL terhadap Suhu .....	36
7. Zona Bening yang Terbentuk pada Uji Daya Hambat 24 jam dan 48 jam .....	45

## DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1. Itik lokal <i>Anas domesticus</i> .....	3
2. Mekanisme kerja Bakteri Probiotik .....	8
3. Kemampuan Probiotik Mereduksi Mikrobial Patogen .....	9
4. Atribut kesehatan dari probiotik.....	13
5. Lokasi Pengambilan Sampel.....	23
6. Pakan itik Betina <i>Anas domesticus</i> .....	24
7. Sampel itik Betina <i>Anas domesticus</i> .....	24
8. Hasil Isolasi Bakteri Probiotik pada pengenceran $10^{-2}$ .....	25
9. Hasil Pemurnian isolasi BAL .....	26
10. Hasil Pengamatan morfologi koloni BAL.....	27
11. Pewarnaan Gram .....	30
12. Hasil pengamatan ketahanan bakteri terhadap asam lambung (pH) .....	32
13. Hasil pengamatan uji Ketahanan terhadap garam empedu 1 % dan 5%.....	34
14. Uji ketahanan BAL pada suhu 15 °C.....	37
15. Uji ketahanan BAL pada suhu 37 °C.....	37
16. Uji ketahanan BAL pada suhu 45 °C.....	37
17. Hasil uji <i>Methyl Red</i> (MR).....	38
18. Hasil uji <i>Voges Proskauer</i> (VP).....	39
19. Hasil uji motilitas.....	40
20. Hasil uji <i>Triple Sugar Iron Agar</i> (TSIA).....	41
21. Hasil uji katalase.....	42
22. Hasil uji daya hambat isolat bakteri probiotik terhadap patogen 24 jam .....	44

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Alur Penelitian .....	66
2. Alur Kerja Isolasi Bakteri Probiotik Itik Betina <i>Anas domesticus</i> .....	67
3. Lokasi Pengambilan Sampel.....	68
4. Isolasi Bakteri Probiotik.....	69
5. Hasil Pemurnaian BAL dari Kab. Takalar.....	70
6. Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri .....	71
7. Morfologi Sel Bakteri .....	72
8. Uji Daya Hambat .....	73

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Permasalahan industri perunggasan Indonesia adalah meningkatkan produksi ternak menggunakan *antibiotik growth promotor* (AGP), hal ini dikarenakan banyak peternak percaya bahwa produksi ternak hampir tidak mungkin berhasil tanpa penggunaan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan serta meningkatkan efisiensi penggunaan pakan. Penggunaan obat-obatan, antibiotik, *feed additive* atau hormon pemacu pertumbuhan hewan jika tidak sesuai anjuran dan dosis dapat menyebabkan residu pada produk ternak, sehingga untuk mengatasi permasalahan tersebut diperlukan *biosupplement* yang aman bagi ternak yaitu probiotik. Penggunaan probiotik sebagai *feed additive* dapat meningkatkan performa produksi ternak serta mampu menggantikan *Antibiotic Growth Promotor* (Chandra et al., 2022).

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dapat memberikan keuntungan kepada inang ketika diberikan dengan benar. Bakteri probiotik mampu meningkatkan kesehatan usus, sistem imun dan melindungi inang dari infeksi pathogen (Qin et al., 2018). Probiotik umumnya tergolong kedalam bakteri asam laktat, khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* yang merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan (Sujaya et al., 2008). Berdasarkan penelitian Verschuere et al., (2000) bahwa probiotik mampu memberikan keuntungan bagi inang dengan memodifikasi komunitas mikroba atau berasosiasi dengan inang, memperbaiki nilai nutrisi dan pemanfaatan pakan, meningkatkan respon inang terhadap penyakit, dan memperbaiki kualitas lingkungan. Probiotik tidak hanya berfungsi sebagai agen biokontrol untuk mengurangi serangan penyakit atau bioremediasi untuk memperbaiki kualitas lingkungan, melainkan dapat pula meningkatkan nilai nutrisi pakan dan laju penyerapan nutrient (Irma et al., 2022). Dwyana dan Gobel (2011), banyak memperoleh isolat probiotik yang berpotensi sebagai imunostimulan dan penghasil antimikroba. Hal ini diperkuat oleh penelitian Anastiawan (2014), bahwa isolat probiotik dari usus itik pedaging *Anas domesticus* menunjukkan karakteristik bakteri probiotik yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa yang mampu untuk membunuh bakteri patogen.

Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah kelompok bakteri probiotik yang memiliki kemampuan untuk memfermentasikan gula menjadi asam organik yakni asam laktat dan asetat. Mikroba penghasil asam laktat tersebut memiliki potensi untuk dikembangkan dimasa mendatang sebagai probiotik alami dan keperluan industri. Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL mengakibatkan terjadinya penurunan pH sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri pembusuk atau patogen (Sutrisna et al., 2017). BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan beberapa cara, antara lain dengan menghasilkan senyawa antibakteri (asam organik, hidrogen peroksida, reuterin, reuterisiklin, bakteriosin) serta membentuk kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan. Bakteri asam laktat adalah bakteri gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, katalase negatif, tahan terhadap asam dan bersifat fakultatif anaerob (Lahtinen et al., 2012).

Salah satu hewan ternak yang memiliki bakteri asam laktat (BAL) pada ususnya adalah itik *Anas domestica* sehingga tingkat kesehatan usus itik tergolong baik. Itik *Anas domestica* merupakan salah satu komoditas unggas yang banyak diminati dalam usaha peternakan karena memiliki sifat yang mudah dalam pemeliharaan, kuat dalam serangan penyakit dan daya adaptasi tinggi terhadap lingkungan (Yuwono, 2012). Itik mampu bertahan hidup lebih lama dibandingkan ayam, tingkat kematiannya kecil, tahan terhadap penyakit dan pada penggunaan kualitas pakan yang rendah itik masih dapat berproduksi (Irma et al., 2022). Itik juga mempunyai kemampuan mengkonsumsi ransum cukup tinggi dibandingkan ayam, hal ini dipengaruhi oleh gaya dan pola perilaku makan itik yang cenderung memakan makanannya dengan cara mencelupkan paruhnya ke dalam tanah berair dan lembab sehingga memperoleh makanan lebih banyak dibandingkan dengan ayam mematuk makanannya dari tanah. Konsumsi ransum yang tinggi dan pola perilaku makan itik di tempat lembab akan mempengaruhi tingkat keanekaragaman dan populasi mikroflora yang terkandung dalam usus pencernaan itik (Anahamu et al., 2018).

Lokasi sampel penelitian yang diambil adalah Desa Tamasaju. Desa ini merupakan salah satu desa dari 10 desa yang ada di Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar. Posisi Desa Tamasaju bersentuhan langsung dengan selat makassar sehingga menjadikan Desa Tamasaju sebagai salah satu daerah pesisir yang sebagian besar penduduknya berprofesi sebagai nelayan. Wilayah dengan dataran rendah berupa daerah pesisir memiliki sumber makanan dengan tingkat keanekaragaman mikroorganisme yang tinggi yang berbeda dengan dataran tinggi. Bentuk aktivitas lain dari masyarakat di Desa Tamasaju adalah berternak itik, hal ini dikarenakan itik memiliki daya adaptasi yang tinggi sehingga memudahkannya untuk hidup bebas dan memperoleh makanannya sendiri walaupun berada di daerah dengan suhu ekstrim (panas) (Istiqamah et al., 2022).

Sumber makanan yang diperoleh pada daerah pesisir memiliki perbedaan dari dataran tinggi sehingga akan mempengaruhi proses pengolahan makanan pada saluran pencernaan itik. Pola pemberian makanan pada itik secara bebas dan hidup liar mencari makanan, menyebabkan ikut masuknya partikel-partikel seperti pasir dan tanah ke dalam saluran pencernaan. Pasir dan tanah pada daerah pesisir mengandung kadar garam sehingga mempengaruhi mekanisme kerja dan pertahanan mikroflora pada usus itik. Mikroflora pada usus akan resisten terhadap makanan yang mengandung kadar garam.

Husain et al., (2020) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa sumber bakteri asam laktat yang potensial dapat berasal dari unggas yang dipelihara di luar ruangan karena habitatnya yang hidup bebas liar memungkinkan tingginya keanekaragaman hayati bakteri pada saluran pencernaan. Variasi konsumsi pakan dan lingkungan akan mempengaruhi mikroflora yang tumbuh di usus itik.

Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian terkait isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik asal usus itik betina *Anas domestica* dari pesisir Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar.

## 1.2 Dasar Teori

### 1.2.1. Itik *Anas Domesticus*

Adapun klasifikasi Itik *Anas domesticus* adalah sebagai berikut: (Muliani, 2014)

Kingdom : Animalia  
 Subkingdom : Bilateria  
 Filum : Chordata  
 Subfilum : Vertebrata  
 Kelas : Aves  
 Ordo : Anseriformis  
 Family : Anatidae  
 Genus : *Anas*  
 Spesies : *Anas domesticus*



**Gambar 1.** Itik *Anas domesticus*  
 Muliani (2014)

Itik merupakan hewan unggas air (waterfowls) yang dikenal akrab dengan nama bebek dalam bahasa Indonesia, nama ini diperoleh dari proses domestikasi yang terus menerus oleh manusia, maka jadilah itik yang dipelihara sekarang dengan nama ilmiah *Anas domesticus*. Itik lokal Indonesia merupakan plasma nutfah yang perlu dilestarikan dan ditingkatkan mutu genetiknya untuk meningkatkan pendapatan peternak. Tujuan utama pemeliharaan ternak itik dibagi menjadi 3 golongan, yaitu tipe pedaging, petelur dan hias. Penggolongan tersebut didasarkan atas produk dihasilkan oleh itik tersebut untuk kepentingan manusia (Srigandono, 1997).

Ciri-ciri fisik itik lokal memiliki kepala kecil, leher langsing, panjang dan bulat, sayap menempel erat pada badan dan ujung bulunya menutup di atas ekor (Prasetyo, 2019). Dalam hal makanan itik bersifat omnivorus (pemakan segala), mulai dari biji-bijian, rumput-rumputan, umbi-umbian, dan makanan yang berasal dari hewan atau binatang kecil. Itik memiliki morfologi yang berbeda dari unggas lain. Itik mempunyai kaki yang relatif pendek serta jarinya terdapat selaput yang membuatnya mampu bergerak didalam air serta mempunyai struktur daging yang seperti ayam namun berwarna lebih gelap. Itik mempunyai kelebihan dibanding dengan ternak unggas lain, diantaranya adalah memiliki daya tahan yang cukup baik terhadap penyakit, kuat dalam serangan penyakit dan daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan (Yuwono, 2012). Itik juga mempunyai kemampuan untuk mengkonsumsi ransum yang cukup tinggi dibandingkan ayam, hal ini dipengaruhi dari gaya makan itik yang cenderung mencelupkan paruhnya kedalam lumpur lembab yang berisi makanan, sementara ayam lebih suka mengambil makanannya langsung dari permukaan tanah. Hal ini menyebabkan itik lebih banyak memperoleh makanan dibandingkan dengan ayam. Konsumsi ransum yang tinggi dan pola perilaku makan tersebut akan mempengaruhi makanan dan mikroflora yang terkandung dalam usus pencernaan itik.

Variasi mikroflorapada usus unggas berperan penting dalam kualitas produksi kesehatan secara keseluruhan dan ketahanan terhadap infeksi mikroba. Selain itu, variasi komposisi mikroflora usus juga dapat dipengaruhi oleh karakteristik inang dan faktor lingkungan yang berbeda. Karakteristik inang juga salah satunya yaitu terkait

seks (jenis kelamin). Pada unggas, perbedaan jenis kelamin merupakan bagian dari sistem produksi yang berbeda, karena kelompok unggas petelur sebagian besar terdiri dari betina, sedangkan pada kelompok pedaging, jantan dan betina sering dipelihara bersama. Alasan yang mendasari perbedaan ini yaitu mencakup perbedaan dalam daya cerna nutrisi, populasi mikrobiota usus, serta ekspresi gen pengangkut nutrisi. Perbedaan-perbedaan ini berkontribusi pada peningkatan variasi hasil yang diperoleh. Komunitas bakteri usus pada unggas terbentuk secara acak dan cukup heterogen karena paparan bakteri dari berbagai faktor lingkungan, bukan kolonisasi oleh bakteri yang diturunkan dari induknya (Stanley et al., 2013).

Berdasarkan faktor lingkungan mencangkup pola pemeliharaan unggas dan sumber pakan yang diberikan. Sejalan dengan penelitian Gong et al., (2008) and Xu et al., (2016) bahwa akses lingkungan yang luas secara nyata memperkaya BAL pada saluran pencernaan unggas. Kemudian unggas yang dipelihara dalam sistem peternakan bebas, diamati adanya kelimpahan bakteri yang lebih tinggi. Berdasarkan hal tersebut, akses terhadap wilayah jelajah memiliki pengaruh terhadap komposisi mikrobiota (Gong et al., 2008).

Pengaruh pemberian pakan mempengaruhi mikroflora yang terkandung pada usus itik, Rahayu et al., (2019) mengatakan bahwa pola pemeliharaan semi intensif pada itik identik dengan kurang konsisten dalam pemberian pakan baik jenis maupun kandungan nutrisi pakan yang diberikan, pola pemeliharaan tersebut akan mempengaruhi produktivitas itik, karena rendahnya pengawasan atau kontrol dalam hal kesehatan ternak dan pemberian pakan yang berkaitan dengan pertumbuhan itik tersebut. Konsistensi perbedaan dalam pemberian pakan pada pemeliharaan semi intensif dan intensif dari kualitas kandungan nutrisi maupun jenis pakan yang dikonsumsi dapat mempengaruhi mikroflora usus. Hal ini didukung oleh pernyataan Prasetyo (2019) yang menyatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi mikroflora usus adalah pakan dan pemberiannya. Rahayu et al., (2019) dalam penelitiannya mengatakan bahwa pola pemeliharaan semi intensif memiliki ciri khas yaitu pakan yang diumbar kepada ternak akan timbul variasi konsumsi pakan dan nutrient intake yang diperoleh oleh itik oleh karena itu itik diberikan kesempatan untuk bebas mencari pakan.

Keanekaragaman pakan yang dikonsumsi dan dicerna oleh itik dapat mengandung nutrisi, non-nutrisi sehingga akan mempengaruhi jenis organisme menguntungkan dan bakteri patogen yang tumbuh pada usus pencernaan itik. Komponen apa pun yang tertelan bersamaan dengan pakan dapat mempengaruhi perkembangan dan kesehatan saluran usus (Yadav and Jha, 2019). Tao et al., (2019) juga menyatakan bahwa dalam usus itik memiliki keanekaragaman mikroflora usus yang mempengaruhi produktivitas itik. Kondisi mikroflora usus yang seimbang membantu pertumbuhan vili-vili usus sehingga meningkatkan fungsi barrier usus sebagai pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri patogen.

### **1.2.2 Bakteri Probiotik**

Probiotik berasal dari dua sub kata, yaitu "Pro berarti mendukung dan "Biotik" berarti hidup, sehingga apabila digabungkan maka probiotik sendiri adalah pendukung

kehidupan. Probiotik diambil dari bahasa Yunani yang berarti "untuk hidup", dimana istilah probiotik pertama kali digunakan oleh Liley dan Stillwell pada tahun 1965 yang memiliki arti yaitu sebagai suatu substansi yang dihasilkan oleh mikroba yang dapat merangsang pertumbuhan mikroba lain. Kemudian pada tahun 1974 Parker menjelaskan substansi yang memiliki kontribusi dimaksud yaitu mikroba hidup pada intestin (Astuti et al., 2020). Gibson et al., (2003) dalam penelitiannya mengatakan bahwa probiotik adalah suatu substrat yang secara selektif dimanfaatkan oleh mikroorganisme pada inang yang dapat menimbulkan efek peningkatan kesehatan dimana definisi ini merupakan revisi akhir dari pengertian probiotik yang disahkan pada pertemuan para ahli dan peneliti pada bulan Desember 2016 yang diselenggarakan oleh *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (Abdurahman dan Yanti, 2018).

Probiotik yang digunakan dapat berupa bakteri, jamur atau ragi, tetapi dalam hal ini yang paling bersifat probiotik adalah bakteri. Kemudian pada tahun 1989 Fuller memperbaiki definisi dari probiotik, dimana probiotik merupakan suplemen makanan yang menguntungkan bagi inang (Sunaryanto et al., 2014). Probiotik berasal dari dua subkata yaitu "pro" mendukung dan "biotik" kehidupan, sehingga jika digabungkan menjadi pendukung kehidupan (Astuti et al., 2020). Probiotik sebagai suplemen pakan berisi mikroba hidup (*direct feed microbials*) baik bakteri, jamur kapang atau khamir yang dapat memberikan keuntungan bagi inangnya karena dapat mampu memberikan keseimbangan mikrobiota dalam saluran pencernaan inangnya (Sumarsih et al., 2012). Probiotik juga dapat diartikan sebagai pakan tambahan berupa mikroorganisme hidup dalam bentuk bakteri atau jamur yang menguntungkan baik dengan cara di konsumsi langsung maupun di campur dengan pakan ternak lainnya (Irawan et al., 2020).

Probiotik tergolongkan kedalam bakteri asam laktat (BAL) adalah organisme yang menguntungkan karena mampu memfermentasi molekul karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Bakteri asam yang tergolong probiotik memiliki karakteristik, yakni akan bereaksi terhadap pewarnaan gram dan negatif bereaksi terhadap katalase (Aulya et al., 2020). BAL juga bersifat antimikroba serta mampu memproduksi enzim BSH (*Bile Salt Hydrolase*) yang berfungsi mendegradasi lemak jenuh menjadi lemak tak jenuh, sehingga produk ternak yang dihasilkan akan bebas kolesterol. Bakteri probiotik yang mempunyai kemampuan dalam menghasilkan senyawa antimikroba dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri probiotik dapat memberikan efek antimikroba terhadap bakteri patogen melalui produksi metabolit seperti asam lemak rantai pendek seperti asam laktat, asam asetat, propionat, asam butirat, hidrogen peroksida, diasetil, dan bakteriosin (Hawaz et al., 2014). Bakteri probiotik menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun seperti vitamin B, vitamin K, dan biotin. Bakteri probiotik yang dapat memproduksi biotin dilakukan oleh probiotik tertentu, antara lain *B. adolescentis* M101-4, *B. bifidum* A234-4, *B. breve* 1-53-8, *B. infantis* I-10-5, dan *B. longum* M101-2.

### 1.2.3. Bakteri Asam Laktat

Bakteri Asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif, berkatalase negatif dan dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi

karbohidrat. Bakteri ini memiliki sel yang berbentuk kokus, tersusun berpasangan atau berbentuk rantai, tidak berflagel, tidak berspora, anaerob fakultatif, bersifat non motil dan mesofil. BAL mempunyai peran utama dalam fermentasi untuk menghasilkan asam pada pangan fermentasi (Putri dan Kusdiyantini, 2018). Asam yang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen dan bakteri pembusuk makanan (Smid and Gorris, 2020). BAL termasuk kedalam kelompok bakteri baik dan umumnya memenuhi status GRAS (*Generally Recognized as safe*) yaitu aman bagi manusia, sehingga dapat diaplikasikan sebagai agen probiotik. Probiotik adalah mikroba menguntungkan dan bermanfaat untuk memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan dan memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya (Afriyanto et al., 2015).

Bakteri asam laktat adalah bakteri gram positif yang memiliki bentuk coccus atau basil, tidak membentuk spora, non motil, dan katalase negatif. BAL bersifat aerob toleran anaerob, yaitu tumbuh dengan baik di bawah kondisi anaerob dan juga dapat tumbuh pada kondisi aerob karena memiliki peroksidase sehingga terlindung dari produk sampingan oksigen seperti  $H_2O_2$  (hidrogen peroksida). Pertumbuhan optimal pada pH 5,5-5,8 dan memiliki kebutuhan nutrisi yang kompleks berupa asam amino, peptida, vitamin, mineral, asam lemak, dan karbohidrat (Khalid, 2011). Kebutuhan nutrisi bakteri asam laktat pada dasarnya bergantung pada *strain* dan hasil yang diperoleh terkadang berbeda bergantung dari medium pertumbuhan sintesis yang digunakan (Holzapfel dan Wood, 2014). Bakteri asam laktat mampu memfermentasi glukosa menjadi asam laktat sebagai produk akhir utamanya. Bakteri asam laktat dibedakan menjadi dua kelompok berdasarkan jalur metabolisme yang digunakan untuk memfermentasi glukosa, yaitu homolaktik dan heterolaktik. BAL homolaktik menggunakan jalur glikolisis, dimana pada jalur ini glukosa dikonversi menjadi asam laktat (2 molekul asam laktat permolekul glukosa yang dikonsumsi). Fruktosa-1,6-difosfatase adalah enzim kunci dalam jalur ini. Dua molekul ATP dihasilkan dari satu molekul glukosa melalui fosforilasi tingkat substrat. BAL heterolaktik menggunakan jalur phosphoketolase (6-phosphoketolase), dimana pada jalur ini glukosa dikonversi menghasilkan 1 molekul masing-masing asam laktat,  $CO_2$ , dan etanol dari 1 molekul glukosa yang dikonsumsi (Holzapfel dan Wood, 2014).

Holzapfel dan Wood (2014) mengklarifikasi kan masing-masing genera dari bakteri asam laktat yakni antara lain:

### **1. Genera *Lactobacillus***

Genera *Lactobacillus* ini merupakan bakteri gram positif dengan selnya berbentuk batang (basil)  $0,5-1,2 \times 1-10$  um, formasi sel adalah tunggal atau berantai, bersifat homofermentatif, katalase negatif, dan non-motil dengan suhu pertumbuhan optimal antara  $30-40^\circ C$  dengan kisaran pH untuk pertumbuhan adalah antara 3-8.

### **2. Genera *Enterococcus***

Genera *Enterococcus* merupakan bakteri gram positif dengan sel berbentuk bulat atau bulat telur (*cocci ovoid*), diameter sel berukuran  $0,6-2,5$  um, formasi sel biasanya tunggal atau membentuk rantai, tidak memiliki endospora, non motil kecuali *Enterococcus gallinarum*, katalase negatif, homofermentatif, dan tidak memproduksi gas dengan suhu pertumbuhan optimal adalah  $37^\circ C$  tetapi banyak spesiesnya dapat

tumbuh pada suhu mulai dari 10°C hingga 45°C, mampu tumbuh dalam medium yang mengandung NaCl 6,5 %, dan resistensi terhadap 40 % empedu.

### 3. Genera *Streptococcus*

Genera *Streptococcus* adalah bakteri gram positif dengan sel berbentuk bulat (*cocci*), diameter sel 0,5-2,0 um, formasi sel adalah berpasangan (*pair*) atau membentuk rantai (*chain*), katalase negatif, non-motil, tidak memiliki endospora, dan homofermentatif, beberapa spesies dapat tumbuh pada kadar NaCl 6,5 %.

### 4. Genera *Pediococcus*

Genera *Pediococcus* adalah bakteri gram positif, sel berbentuk bulat (*cocci*), diameter sel 0,5-2,0 um, tidak memiliki endospora, formasi sel adalah tetrad atau berpasangan (*pair*). katalase negatif, non-motil, homofermentatif, dan aerob fakultatif. Suhu pertumbuhan optimal adalah 25-35°C dan tumbuh pada media 4-5% NaCl. *Pediococcus acidilactici* dan *Pediococcus pentosaceus* mampu tumbuh dalam media 10% NaCl.

### 5. Genera *Lactococcus*

Genera *Lactococcus* sendiri merupakan bakteri gram positif dengan sel berbentuk bulat (*cocci*) dengan diameter 0,5-1,5 um, formasi sel adalah tunggal, berpasangan (*pair*) atau membentuk rantai pendek, tidak memiliki endospora, non motil, katalase negatif, dan anaerobik fakultatif. biasanya tumbuh dalam media nacl 4% pada 20-30°C selama 10-20 jam, tumbuh baik pada nilai pH mendekati netral dalam media buffer, tetapi berhenti tumbuh pada pH sekitar 4,5.

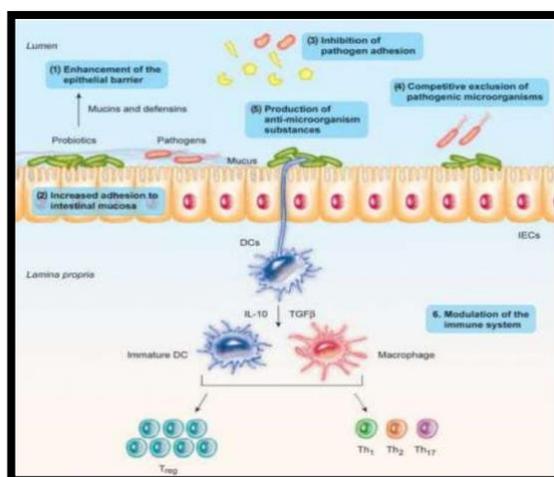
## 1.2.4 Jenis-Jenis Bakteri Probiotik

Probiotik umumnya tergolong ke dalam bakteri asam laktat, khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* dan merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan (Sujaya et al., 2008). Beberapa macam probiotik yang telah digunakan untuk meningkatkan performance pertumbuhan antara lain probiotik *Bifidobacterium spp*, *L. Acidophilus* dan *L. casei*, *L. casei* WB 315 (Lokapirnasari et al., 2019, Lokapirnasari et al., 2020). Penggunaan probiotik bakteri asam laktat mampu meningkatkan persentase itik lokal. Terbukti pada pemberian bakteri probiotik yakni *L. Salivarius* pada itik lokal untuk starter menunjukkan hasil performance yang baik (Sumarsih dan Sulistiyanto, 2016). Bakteri asam laktat yang banyak digunakan sebagai bakteri probiotik adalah *Lactobacilli* dan *bifidobacterium*, dan genera lain seperti *lactococcus*, *enterococcus*, dan *streptococcus* juga telah digunakan sebagai bakteri probiotik. Banyak mikroorganisme probiotik namun *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan mikroflora normal usus yang paling utama dan bakteri yang paling banyak berperan dalam menjaga kesehatan fungsi saluran cerna sehingga banyak digunakan dalam pengembangan produk probiotik. Bakteri *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan probiotik yang tahan terhadap asam lambung, cairan empedu, mampu menempel pada dinding saluran cerna sehingga melindungi mukosa saluran cerna, dan mampu menghasilkan zat yang berpotensi sebagai antimikroba. Kedua genera ini termasuk dalam golongan bakteri asam laktat karena mampu melakukan proses fermentasi membentuk asam laktat pada

usus besar. Beberapa jenis BAL yang terdapat disaluran pencernaan, diantaranya *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus ruminis*, *Lactobacillus johnsonii*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium adolescentis* *salivarius*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus vitulinus*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus reuteri*, *L. acidophilus*, dan *L. gasseri* (Chandra et al., 2022). Spesies bakteri yang paling umum digunakan sebagai probiotik dari golongan bakteri asam laktat (BAL) meliputi berbagai spesies dari genera *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* seperti: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus GG*. Ada pula satu spesies ragi yang digunakan sebagai probiotik: *Saccharomyces boulardii*. Beberapa bakteri yang umum dipakai dalam produk tapi tanpa efek probiotik (bakteri yoghurt): *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, Beberapa bakteri lain disebutkan dalam 12 produk probiotik: *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus caucasicus*.

### 1.2.5 Mekanisme Kerja Probiotik

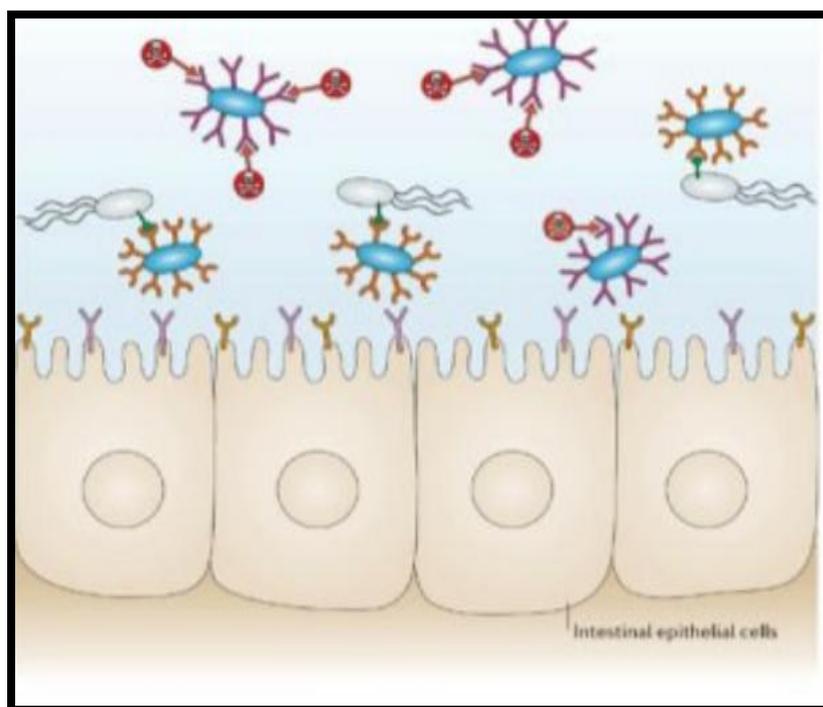
Secara umum mekanisme kerja probiotik menurut Catalán et al., (2018) adalah menjaga keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan melalui kompetisi nutrisi serta kompetisi reseptor untuk penempelan bakteri menguntungkan pada sel epitel usus. Bakteri asam laktat dapat menempel dan membentuk koloni di usus sehingga menekan bakteri patogen dalam usus pencernaan. Selanjutnya, bakteri asam laktat menghasilkan suatu enzim protease sehingga nutrisi dari pakan inang akan lebih mudah dicerna dan diabsorpsi sehingga menghasilkan peningkatan pertumbuhan (Dawood et al., 2019). Selain itu, juga menghasilkan efek menguntungkan bagi inang melalui produksi beberapa substrat energi pada sel-sel intestinal sehingga meningkatkan pencernaan dan penyerapan nutrisi bagi inang (Jullianty et al., 2020). Berdasarkan penelitian Mapenzi et al., (2021) bahwa pemberian kombinasi bakteri asam laktat yakni bakteri *Lactobacillus plantarum* dan yeast *Saccharomyces cerevisiae* mampu meningkatkan pertumbuhan dan kesehatan pada inangnya.



**Gambar 2.** Mekanisme kerja probiotik (Bermudez et al., 2012).

Secara umum mekanisme kerja dari probiotik yaitu: (Sumarsih et al., 2012);

1. Bakteri probiotik akan melekat atau menempel dan berkolonisasi dalam saluran pencernaan. Bakteri probiotik untuk bertahan hidup dalam saluran pencernaan akan menempel pada sel-sel usus yang merupakan sesuatu yang diinginkan. Selanjutnya bakteri probiotik untuk berkolonisasi, dapat dimodifikasi untuk sistem imunisasi/ kekebalan hewan inang. Kemampuan bakteri untuk menempel dengan kuat pada sel-sel usus akan menyebabkan bakteri probiotik tumbuh dan berkembang baik sehingga menyebabkan bakteri patogen akan tereduksi dari sel-sel usus hewan inang. Perkembangan organisme-organisme patogen yang menyebabkan penyakit seperti *Eschericia coli*, *Salmonella thyphimurium* dalam saluran pencernaan akan mengalami hambatan. Bakteri probiotik yang telah memperlihatkan kemampuan menempel dengan kuat pada sel-sel usus pencernaan: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* dan sejumlah besar *Bifidobacteria*. McNaught dan MacFie, (2000) memperlihatkan bagaimana kemampuan bakteri probiotik mereduksi mikroba patogen dalam saluran pencernaan melalui gambar di bawah ini.



**Gambar 3.** Kemampuan Probiotik Mereduksi Mikroba Patogen (McNaught dan MacFie, 2000).

2. Bakteri probiotik akan berkompetisi untuk mendapatkan makanan dan memproduksi zat anti mikroba. Bakteri Probiotik akan menghambat organisme patogenik dengan berkompetisi untuk mendapatkan sejumlah terbatas Substrat bahan makanan untuk difermentasi. Substrat bahan makanan tersebut diperlukan

oleh mikroba probiotik untuk dapat berkembang dengan baik. Selanjutnya Nutrisi bahan makanan akan mendukung perkembangan mikroba probiotik dalam saluran pencernaan disebut "prebiotik". Prebiotik ini terdiri dari bahan-bahan makanan yang pada umumnya banyak mengandung serat. Sejumlah prebiotik menghasilkan senyawa/zat-zat yang diperlukan untuk membantu proses pencernaan dan diperlukan untuk bakteri probiotik.

3. Bakteri probiotik selanjutnya akan menstimulasi mukosa dan meningkatkan sistem kekebalan inang. Bakteri probiotik mampu mengatur beberapa aspek dari sistem kekebalan inang dimana mikroba probiotik akan mengeluarkan toksin yang mereduksi/menghambat perkembangan mikroba-mikroba patogen dalam saluran pencernaan, kondisi ini dapat meningkatkan kekebalan inangnya. Toksin-toksin yang dihasilkan tersebut merupakan antibiotika bagi mikroba-mikroba patogen, sehingga penyakit yang ditimbulkan oleh mikroba patogen tersebut akan bekurang, hilang atau sembuh dengan sendirinya. Hal ini akan memberikan keuntungan terhadap kesehatan hewan inang dan membuat tahan terhadap serangan penyakit.

### 1.2.6 Kriteria Bakteri Probiotik

Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) (2001), mensyaratkan ideal strain probiotik tidak hanya mampu bertahan melewati saluran pencernaan tetapi juga memiliki kemampuan untuk berkembang biak, tahan terhadap asam lambung dan garam empedu dalam jalur makanan yang memungkinkan untuk bertahan hidup harus melintasi saluran pencernaan dan terkena paparan empedu. Selain itu bakteri probiotik juga harus mampu menempel pada sel epitel usus, mampu membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan, mampu menghasilkan zat antimikroba, dan memberikan pengaruh yang menguntungkan kesehatan bagi inangnya. Syarat lainnya adalah bakteri probiotik tidak bersifat patogen dan aman jika dikonsumsi. Strain probiotik juga harus tahan dan tetap hidup selama proses pengolahan makanan dan penyimpanan, mudah diaplikasikan pada produk makanan, dan tahan terhadap proses psikokimia (Prado et al., 2008).

Pada saat memilih mikroorganisme untuk dijadikan sebagai probiotik harus memiliki kriteria yakni (Supriatna et al., 2016);

1. Tidak bersifat patogen atau merugikan bagi inang,
2. tidak bersifat patogen bagi manusia dan hewan lainnya,
3. Tidak mengganggu keseimbangan ekosistem lainnya,
4. Mikroba harus mudah dipelihara dan diperbanyak,
5. Dapat hidup dengan baik dan berkembang biak di dalam usus,
6. Dapat dipelihara dalam media yang memungkinkan untuk diintroduksi ke dalam usus dan
7. Dapat tahan dengan suasana asam

Secara umum bakteri probiotik akan menghambat pertumbuhan bakteri patogen di dalam saluran pencernaan, khususnya bakteri asam laktat yang menghasilkan asam organik dan dapat menurunkan pH saluran pencernaan serta dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri probiotik terus melakukan metabolisme yang digunakan sebagai pertumbuhan dan menekan

pertumbuhan bakteri patogen sehingga bakteri probiotik akan mendominasi saluran pencernaan (Irawan et al., 2020). Syarat utama strain probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestin dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa. Syarat lain yang perlu dimiliki yakni kemampuannya menghasilkan substansi antimikrobia sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen enteric (Sunartyanto et al., 2014). Syarat mikroorganisme menjadi probiotik juga harus memiliki viabilitas yang tinggi untuk melalui saluran pencernaan dimana bakteri dapat bertahan hidup pada medium yang sesuai atau medium yang memiliki komposisi nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Bakteri probiotik tetap bertahan hidup jika dalam pertumbuhannya memerlukan sumber nitrogen berupa asam amino, sumber karbon atau energi berupa karbohidrat, sumber vitamin seperti vitamin B dan sumber mineral berupa Mg, Mn, dan S.

## **1.2.7 Manfaat Bakteri Probiotik**

### **1.2.7.1 Manfaat Bakteri Probiotik bagi Inang**

FAO/WHO (2001), FAO/WHO, (2002), ISAPP, (2009) menyatakan bahwa probiotik adalah mikroorganisme hidup yang mampu memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan hostnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup sehingga dapat memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal saat masuk di saluran pencernaan (Shitandi et al., 2007). Probiotik masuk ke dalam golongan bakteri asam laktat (BAL), khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* dan merupakan flora normal pada saluran pencernaan. Bakteri probiotik dapat memberikan efek yang menguntungkan seperti menstimulasi sistem kekebalan (*immune*) dan menurunkan kadar kolesterol tubuh (Isolauri et al., 2001 and Lu et al., 2003).

Probiotik adalah suplemen diet yang mengandung bakteri asam laktat yang mampu mengubah gula (termasuk laktosa) dan karbohidrat lain menjadi asam laktat. Kondisi ini tidak hanya menyediakan rasa asam yang unik dari dairy food fermentasi seperti susu fermentasi, tapi juga berperan sebagai media bakteri, dengan cara mengurangi pH dan membuat kesempatan organisme merugikan untuk tumbuh lebih sedikit (Yuniastuti, 2014). Bakteri probiotik yang beredar dipasaran adalah bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* yang merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan manusia (Aini et al., 2022). Produk probiotik yang beredar adalah produk susu fermentasi seperti yogurt, yakult, susu asidofilus, dan lain-lain. Selain mempunyai nilai nutrisi yang baik, produk tersebut dianggap memberi manfaat kesehatan dan terapeutik. Manfaat ini diperoleh akibat terbawanya bakteri-bakteri hidup ke dalam saluran pencernaan yang mampu memperbaiki komposisi mikroflora usus sehingga mengarah pada dominansi bakteri-bakteri yang menguntungkan kesehatan (Yuniastuti, 2014).

Probiotik dapat memproduksi bakteriosin dari hasil metabolit sekunder nya dimana digunakan untuk melawan patogen yang bersifat selektif dan hanya terhadap beberapa strain patogen. Probiotik juga memproduksi asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa antimikrobia lainnya. Probiotik juga menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme host, seperti vitamin B (asam pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat,

kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K (Adams, 2009). Manfaat probiotik bagi inangnya dapat melalui mekanisme fungsi yaitu fungsi protektif, yaitu kemampuannya untuk menghambat patogen dalam saluran pencernaan. Terbentuknya kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan, mengakibatkan kompetisi nutrisi dan lokasi adhesi (penempelan) antara probiotik dan bakteri lain, khususnya patogen. Pertumbuhan probiotik juga akan menghasilkan berbagai komponen anti bakteri (asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan patogen) (Collado et al., 2009).

#### **1.2.7.2 Peran Bakteri Probiotik dalam Peternakan**

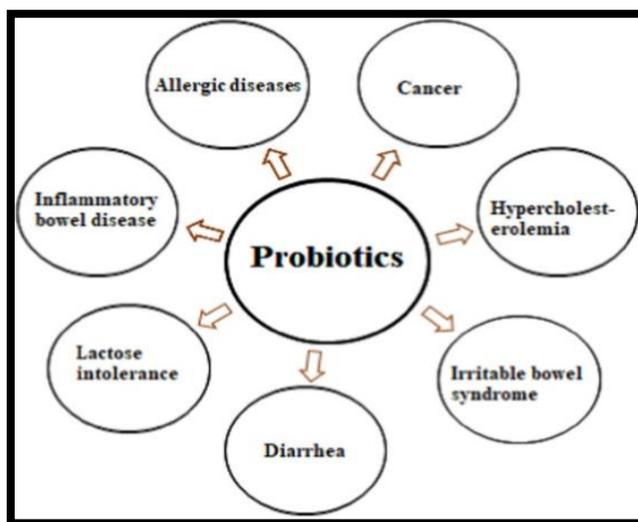
Probiotik tergolong dalam makanan fungsional dimana bahan makanan ini mengandung komponen-komponen yang dapat meningkatkan kesehatan ternak dengan cara memanipulasi komposisi bakteri, jamur dan mikroorganisme lainnya yang ada didalam saluran pencernaan. Probiotik juga dapat meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan ternak tanpa mengakibatkan ikut terserapnya komponen dari probiotik sehingga tidak menimbulkan residu dan tidak terjadi mutasi pada ternak (Djaya dan Hidayat, 2013).

Penambahan probiotik pada pakan ternak dapat berfungsi sebagai zat pemacu tumbuh, meningkatkan konversi pakan, pencegah terhadap mikroba penghasil patogen terutama pada ternak muda yang gampang terserang penyakit serta sebagai pengurai faktor anti nutrisi seperti anti tripsin (Febriyossa et al., 2013). Fungsi lain dari penambahan probiotik pada pakan ternak yaitu dapat mengurangi kemampuan mikroorganisme patogen dalam menghasilkan senyawa toksin, mengurangi efek hambatan pertumbuhan karena nutrisi dari pakan ternak yang tidak seimbang, merangsang produksi enzim pencernaan, serta dihasilkannya vitamin dan substansi mikrobial yang dapat memberi kesehatan pada pencernaan ternak (Huda et al., 2019). Contoh vitamin yang di produksi oleh mikroba probiotik yaitu vitamin B. (Djaya dan Hidayat, 2013).

Salah satu upaya peternak yaitu dengan penggunaan *Antibiotic Growth-promotor* (AGP) untuk meningkatkan produksi (Lokapinasari et al., 2019). Namun penggunaan *Antibiotic Growth Promotor* menimbulkan efek merugikan disebabkan ikut terserap dengan nutrisi dan tertimbun pada daging ternak unggas sehingga secara tidak langsung konsumen juga mendapatkan antibiotik (Sulistiani et al., 2020). Penggunaan AGP sebagai imbuhan pakan telah dilarang oleh pemerintah sejak 1 Januari 2018 yang diatur dalam Permentan Nomor 14 Tahun 2017 tentang Klasifikasi Obat Hewan Peraturan tersebut ditetapkan agar kedepannya masyarakat tidak resisten terhadap antibiotik akibat mengkonsumsi produk unggas (Irawan et al., 2020). Oleh karena itu penggunaan antibiotik digantikan dengan probiotik dimana salah satu alasannya adalah penggunaan probiotik yang apabila dikonsumsi tidak menimbulkan penumpukan residu dan senyawa pada probiotik tidak ikut terserap oleh tubuh sehingga aman untuk dikonsumsi masyarakat dan masyarakat tidak resisten terhadap bakteri penyebab patogen (Djaya dan Hidayat, 2013).

### 1.2.7.3 Peran Bakteri Probiotik dalam Kesehatan

Senyawa-senyawa yang dihasilkan pada metabolisme bakteri probiotik seperti asam laktat, hidrogen peroksida, bakteriosin yang bersifat antimikroba dan antibiotik mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen (Yulvizar, 2017). Senyawa yang dikandung oleh probiotik dapat digunakan oleh penderita laktosa intolerans (tidak mampu mencerna laktosa) jika digunakan strain bakteri yang mampu menghasilkan senyawa  $\beta$  galactosidase dalam fermentasi susu probiotik juga dapat digunakan sebagai zat anti karsinogen atau zat anti kanker yang sudah di buktikan oleh penelitian Danliuk pada tahun 2012 bahwa *Lactobacillus acidophilus* dari usus manusia resisten terhadap garam empedu dan mampu menurunkan 3 enzim yang berperan penting dalam pembentukan senyawa karsinogen (Sunaryanto et al., 2014).



**Gambar 4.** Atribut kesehatan dari probiotik. Probiotik membantu dalam pencegahan dan pengelolaan penyakit alergi, kanker, hiperkolesterolemia, sindrom usus iritabel, diare, intoleransi laktosa, penyakit radang usus (Goa and Grom 2022).

Probiotik telah banyak dimanfaatkan untuk penanggulangan penyakit infeksi seperti kanker kolon, diare ada anak, infeksi *Helicobacter pylori*, vaginosis, kelainan sistem imun, dan atopi. Jenis bakteri yang dimanfaatkan sebagai probiotik adalah *Lactobacillus acidophilus* di kombinasi dengan *Lactobacillus bulgaricus*, *L. Rhamnosus*GG, *Enterococcus faecium*SF68i dan *Bifidobacterium longum*, *Saccharomyces boulardi*, yang digunakan untuk mencegah diare. Bakteri *L. Rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei strain Shirota*, *Enterococcus faecium*SF68 dan *Sacc. Boulardi*, untuk menanggulangi gastroenteritis akut. Bakteri *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus acidophilus* dikombinasikan dengan *Lactobacillus bulgaricus*, *L. fermentum strain KLD*, *L. Rhamnosus* GG, dan *Sacc. Boulardi* (Aini et al., 2021).

Probiotik khususnya genus *Lactobacillus* merupakan flora normal, yang berperan sebagai agen probiotik dan berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri patogen serta berfungsi sebagai imunitas (kekebalan tubuh). Rusli et al., (2018)

menjelaskan bahwa beberapa bakteri probiotik berperan dalam tubuh yakni; 1. *Lactobacillus* membantu pembentukan antibodi berkaitan hubungannya dengan IgA sehingga mencegah bakteri patogen tumbuh, 2. Bakteri probiotik kemudian dapat memulihkan kondisi keseimbangan usus setelah diberikan antibiotik, 3. Kemoterapi, 4. dapat mencegah infeksi saluran kemih serta 5. Pembentukan gas akibat proses enzimatik (pembusukan). Beberapa jenis BAL yang terdapat disaluran pencernaan yang membantu kesehatan usus inannya diantaranya; *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus ruminis*, *Lactobacillus johnsonii*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus Bifidobacterium adolescentis*, *salivarius*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus vitulinus*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus reuteri*, *L. acidophilus*, dan *L. gasseri*.

*Lactobacillus* adalah bakteri yang bermanfaat pada bidang kesehatan dan makanan serta banyak diaplikasikan sebagai pengawet minuman maupun makanan. Genus bakteri probiotik ini dapat membantu produksi vitamin, berperan dalam penyerapan makanan, menjaga kesehatan usus, mencegah pertumbuhan bakteri patogen, dan membantu metabolisme lipid/kolesterol, menghambat proses penuaan dan berperan mencegah karsinogenesis. *Lactobacillus* sebagai strain probiotik memiliki keunggulan dibandingkan bakteri asam laktat yang lain yakni tidak mudah mengalami perubahan jumlah. Produk makanan fermentasi seperti, susu, buah-buahan, daging, dan olahan ikan banyak mengandung bakteri *Lactobacillus*. Ada banyak jenis *Lactobacillus* seperti *L. bulgaricus* dan *L. plantarum* yang diaplikasikan pada pembuatan minuman probiotik menggunakan metode fermentasi seperti minuman sari buah pepaya atau sayuran dan jenis buah-buahan lainnya. *Lactobacillus* sebagai bakteri BAL juga mampu memproduksi asam laktat dan senyawa bakteriosin yang berfungsi mencegah atau membunuh bakteri patogen dalam usus contohnya adalah *L. casei*. Jannah et al., (2014) menyatakan *Lactobacillus acidophilus* mampu menurunkan keasaman proses fermentasi dengan cepat. Genus *Lactobacillus* bersifat homofermentatif seperti *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Homofermentatif yaitu mampu memproduksi asam laktat dan asam asetat sekaligus dari proses metabolisme karbohidrat melalui jalur Embden–Meyarhof (*heksosa difosfat*, *HDP*). Adapun heterofermentatif, asam laktat akan dihasilkan melalui jalur Heksosa Monofosfat (HMP) atau pentosa fosfat atau fosfoketolase kemudian asam laktat yang diproduksi dikonversi ke asam asetat, asam propionat dan butirrat melalui jalur asetil-KoA.

Beberapa jenis BAL menghasilkan bakteriosin seperti peptide yaitu jenis protein, yang bersifat bakterisidal dan bakteriostatik. Bakteriosin biasa dihasilkan oleh bakteri gram positif, dimana sifat bakterisidal maupun bakteriostatik mencegah pertumbuhan bakteri sejenis lainnya dan berfungsi sebagai alat pelekatan spesifik bagi patogen. sehingga membedakan dengan senyawa antimikroba lainnya. Senyawa antimikroba yang dihasilkan *Lactobacillus* dapat bersifat antibakteri. Pada proses fermentasi oleh BAL dapat menghasilkan produk bermanfaat untuk mencegah pertumbuhan mikroba patogen yang merugikan bagi tubuh, memecah laktosa susu menjadi senyawa yang lebih sederhana, meningkatkan nilai gizi yang lebih tinggi dibandingkan dengan bahan asalnya sehingga dapat dengan mudah dicerna oleh tubuh, penggunaan bakteri asam laktat juga dapat menambah beberapa vitamin seperti vitamin B12, provitamin A dan riboflavin (Andriani et al., 2020).

### 1.2.8 Sumber Isolat Bakteri Probiotik

Fungsi utama dari saluran pencernaan adalah mengubah makanan Menjadi komponen yang dapat dimanfaatkan oleh inang. Saluran pencernaan itik terdiri dari tembolok (*crop*), proventrikulus, empela (*gizzard*), usus halus (*small intestine*), sekum (*caeca*), usus besar (*large intestine*) dan kloaka. Usus dari setiap hewan membentuk habitat untuk komunitas mikroba yang kompleks dan bervariasi mikrobiota usus memainkan peran penting dalam Kesehatan hewan inang, hal ini dapat secara positif mempengaruhi resistensi non-spesifik terhadap infeksi, imunologi, fisiologi, biokimia, dan pengembangan usus (Duggett, 2015).

Efek karakteristik inang dan faktor lingkungan memengaruhi mikrobiota usus pada unggas. Faktor genetik inang, umur, kelamin (*sex*), daerah git (*gastrointestinal tract*) telah diakui sebagai faktor yang mempengaruhi komposisi mikrobiota usus pada unggas. Daerah git yang terdiri dari tembolok, proventrikulus, empela, duodenum, jejunum, ileum, sekum, usus besar, dan kloaka memiliki fungsi yang berbeda yang juga mempengaruhi dinamika mikroba. Bagian yang berbeda dari git memiliki fungsi spesifik mereka sendiri dalam pencernaan pakan menunjukkan bahwa ada perbedaan dalam persyaratan untuk jenis mikrobiota yang perlu ada di setiap bagian tersebut. Faktor lingkungan yang mempengaruhi mikrobiota usus pada unggas, antara lain makanan, iklim, dan lokasi geografis. Mikroflora yang terdapat dalam usus merupakan suatu ekosistem kompleks terdiri atas sejumlah besar bakteri, dimana saluran pencernaan unggas mengandung lebih dari 640 spesies bakteri (Kers et al., 2018).

Sumber probiotik dapat berasal dari mikroba yang disolasi dari usus unggas dengan tujuan bahwa mikroba tersebut merupakan mikroba indigenous sehingga ketika dicobakan pada ternak broiler, isolat probiotik berpeluang tumbuh dan berkembang dalam usus unggas (Syafitri et al., 2016). Mikrobiota pada tembolok (*crop*) terutama terdiri dari bakteri anaerob Fakultatif, terutama spesies *Lactobacillus*, spesies *Lactobacillus* yang terdeteksi dalam tembolok meliputi *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. crispatus*, *L. salivarius*, *L. fermentum*, *L. amylovorus*, *L. aviarius*, *L. johnsonii* dan *L. gallinarum*. *Lactobacillus* membentuk lapisan, 2-3 sel tebal pada lapisan epitel superfisial tembolok. Kolonisasi *Lactobacillus* pada tembolok terjadi beberapa jam setelah ternak unggas menetas dan tetap hidup selama kehidupan unggas. Takson bakteri lainnya yang diisolasi dari tembolok ternak unggas khususnya ayam termasuk *Bifidobacterium*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus lentus*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *E. coli*.

### 1.2.9 Bakteri Patogen

Bakteri patogen merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit bagi inangnya dengan adanya perubahan jaringan melalui perubahan genetik (Ihsan et al., 2021). Bakteri patogen menyebabkan penyakit pada makhluk hidup (manusia, tumbuhan dan hewan), dimana dapat menyerang organisme hidup terutama manusia dengan sistem imun yang lemah. Salah satu ciri dari bakteri patogen yaitu bersifat saprofit (Korry, 2023). Selain menyebabkan penyakit bakteri patogen juga dapat menurunkan dan mempengaruhi aspek kualitas serta kemunduran mutu produk

(Ihsan, et, al, 2021). Salah satu bakteri patogen yang umum terdapat pada manusia dan hewan adalah *E.coli* dan *S.aureus*.

*Escherichia coli* merupakan bakteri patogen usus yang berperan menyebabkan infeksi besar di seluruh dunia seperti diare (Rojas et al., 2018). Anggota family *Enterobacteriaceae* memiliki bentuk batang dengan sifat gram negatif (Jang, et al., 2017). *Escherichia coli* merupakan mikroflora normal ditemukan sebagai bakteri penyebab infeksi saluran kemih infeksi saluran pencernaan (Wulansari et al., 2022).

*Staphylococcus aureus* merupakan jenis bakteri gram positif yang sering ditemukan pada kulit dan membran mukosa manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi, mulai dari infeksi kulit seperti bisul dan impetigo hingga infeksi yang lebih serius seperti pneumonia, osteomyelitis, dan sepsis. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , berkelompok tidak teratur seperti buah anggur, tidak membentuk spora, fakultatif anaerob, dan tidak bergerak. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 37°C, namun pada suhu kamar (20°C - 25°C) akan membentuk pigmen. Warna pigmen yang terbentuk mulai dari abu-abu hingga kuning keemasan dengan koloni berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90 % isolat klinik menunjukkan morfologi *S. aureus* dengan kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Florenzia and Galvan, 2023).

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk memperoleh isolat bakteri probiotik dari usus itik betina *Anas domesticus* yang berasal dari Pesisir Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar.
2. Untuk mendeskripsikan karakteristik bakteri probiotik dari usus itik betina *Anas domesticus* yang berasal dari Pesisir Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah mengenai karakteristik bakteri yang berpotensi sebagai probiotik dari usus itik betina *Anas domesticus* dari daerah Pesisir Di Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar Sulawesi Selatan.

## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2023 hingga Mei 2024 dengan pengambilan sampel itik betina *Anas domestica* pada pesisir Desa Tamasaju, Kecamatan Galesong Utara, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan yang digunakan sebagai sumber bakteri probiotik yang akan dilakukan isolasi dan karakterisasi di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biologi Terpadu, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

### 2.2 Alat dan Bahan

#### 2.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini terdapat tiga jenis alat diantaranya alat glass (gelas kimia, gelas ukur, tabung erlenmeyer, cawan petri, objek glass, tabung reaksi, batang pengaduk, preparat, corong, chamber), alat non glass (labu semprot, pipet tetes, wadah plastik, ose lurus, ose bulat, gegep, skapel, bunsen, spatula, rak abung reaksi, jangka sorong, sentrifuse tube) dan alat instrumental (oven, enkas, inkubator, hot plate, timbangan digital, mikroskop, autoklaf, lemari pendingin, *Laminar Air Flow* (LAF), gelas objek, rotatory shaker, vortex).

#### 2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu isolat bakteri probiotik dari usus itik betina *Anas domestica* yang diambil dari Pesisir Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar, alkohol 70%, air suling, medium NA (*Nutrien Agar*) (MERCK), medium selektif MRSA (*Mann Rogosa Sharpe Agar*) (OXOID), medium selektif MRSB (*Man Ragosa Sharpe Broth*) (OXOID), medium TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), medium SIM (*Sulfid Indol Motility*), medium MR-VP (Methyl Red-Voges Proskauer), KOH 40%, alfanaftol, metil-red, pewarnaan gram (Kristal Violet, Lugol, Alkohol-Aseton, dan Safranin), NaCl fisiologis, HCl 0,1 N, garam empedu sintetik (*ox bile*), minyak emersi, kapas, paper, pencadang, CaCO<sub>3</sub>; aluminium foil cling wrap, plastik steril dan label.

### 2.3 Prosedur Kerja

#### 2.3.1 Sterilisasi Alat

a. Sterilisasi dengan metode panas kering dengan suhu 130°C–180°C selama 30 menit. Metode sterilisasi ini digunakan misalnya pada alat-alat gelas, seperti tabung reaksi, beaker glass dan cawan petri. Sterilisasi panas kering memiliki prinsip dasar yaitu melalui mekanisme konduksi, panas akan diabsorpsi oleh permukaan luar dari peralatan yang akan disterilkan, lalu merambat ke bagian lebih dalam dari peralatan. Instrumen yang digunakan pada proses sterilisasi ini yaitu oven (Mansur et al., 2019).

- b. Sterilisasi panas membara yaitu dengan cara jarum ose disterilkan diatas nyala api Bunsen hingga merah membara (Mansur et al., 2019).
- c. Sterilisasi panas basah yaitu dengan menggunakan alat non-instrumen berupa autoklaf pada suhu 121°C dan dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Alat yang menggunakan proses sterilisasi ini yaitu media pertumbuhan bakteri dan alat non-glass (Mansur et al., 2019).

### **2.3.2 Pembuatan Medium**

#### **2.3.2.1 Media MRSA (*de Mann Rogosa Sharpe Agar*)**

Sebanyak 6,2 g media MRSA dan CaCO<sub>3</sub> 1% dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan alumunium foil pada bagian mulut erlenmeyer. Dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

#### **2.3.2.2 Media MRSB (*de Mann Ragosa Sharpe Broth*)**

Sebanyak 5,2 g media MRSB dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan alumunium foil pada bagian mulut erlenmeyer. Dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

#### **2.3.2.3 Media NA (*Nutrient Agar*)**

Sebanyak 2 g media NA dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan alumunium foil pada bagian mulut erlenmeyer. Dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

#### **2.3.2.4 Media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)**

Sebanyak 6,5 g media TSIA dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, media dimasukkan ke dalam beberapa tabung reaksi yang masing-masing sebanyak 7 mL. Kemudian, dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

#### **2.3.2.5 Media SIM (*Sulfid Indol Motility*)**

Sebanyak 3 g media SIM dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, media dimasukkan ke dalam beberapa tabung reaksi yang masing-masing sebanyak 7 mL. Kemudian,

dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

### **2.3.2.6 Media MR-VP (*Methyl Red-Voges Proskauer*)**

Sebanyak 1,7g media MR-VP dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, media dimasukkan ke dalam beberapa tabung reaksi yang masing-masing sebanyak 5 mL. Kemudian, dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

### **2.3.3 Pengambilan Sampel Itik Betina *Anas domesticus***

Pengambilan sampel itik betina *Anas domesticus* diambil di daerah pesisir tepatnya di Desa Tamasaju Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar yang hidup liar dan mencari makan di sekitar rumah warga. Itik yang diambil adalah itik yang sehat dan tidak terkena penyakit. Kemudian sampel itik betina dibawa ke laboratorium untuk dilakukan tindakan lebih lanjut.

### **2.3.4 Isolasi Bakteri Probiotik**

Sampel itik betina *Anas domesticus* kemudian di bersihkan dan dibelah perutnya untuk diambil bagian ususnya, selanjutnya kotoran bagian dalam usus itik di buang kemudian dibersihkan menggunakan aquades steril. Setelah itu, usus dipotong membujur sehingga menjadi dua bagian. Kemudian usus itik dikerok bagian dindingnya menggunakan skapel steril lalu dimasukkan kedalam larutan NaCl fisiologis steril dan dilakukan pengenceran bertingkat ( $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ , dan  $10^7$ ). Selanjutnya, diinokulasikan pada media MRSA yang ditambahkan  $\text{CaCO}_3$ ; 1% untuk setiap 1 mL dari semua tingkat pengenceran ke dalam cawan petri dengan menggunakan metode sebar (*spread plate*). Dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama 2x24 jam. Pertumbuhan bakteri asam laktat ditandai dengan zona bening yang terbentuk pada media.

### **2.3 5. Pemurnian Bakteri Probiotik**

Pemurnian dimulai dengan memilih koloni-koloni yang disekitarnya terbentuk zona bening. Koloni bakteri tersebut kemudian diinokulasikan pada media MRSA yang mengandung  $\text{CaCO}_3$ ; 1% dengan metode quadrant streak untuk mendapatkan koloni murni. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 x 24 jam. Tahap pemurnian ini dapat dilakukan beberapa kali hingga diperoleh koloni bakteri yang benar-benar murni.

### **2.3.6. Pembuatan Stok Isolat Bakteri Probiotik**

Setelah tahap pemurnian, setiap koloni murni yang tumbuh pada media MRSA yang mengandung  $\text{CaCO}_3$  1% kemudian dilakukan inokulasi pada media MRSA miring sebagai stok isolat untuk uji-uji selanjutnya.

### **2.3.7. Pengamatan Morfologi Bakteri Probiotik**

#### **2.3.7.1 Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri**

Setelah dilakukan pemurnian, setiap koloni bakteri yang tumbuh diamati morfologinya. Adapun hal-hal yang diamati meliputi bentuk koloni (*shape*), bentuk tepi (*margin*), warna (*colour*), permukaan koloni (*elevation*), dan bau (*odor*). Pengamatan morfologi koloni yang tumbuh dilakukan dengan mengamati secara langsung dibawah mikroskop stereo dengan perbesaran 1000.

#### **2.3.7.2 Pengamatan Morfologi Sel Bakteri (Pengecatan Gram)**

Pengamatan untuk morfologi sel bakteri dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan Gram. Pertama-tama ulasan bakteri dibuat pada permukaan kaca preparat dan selanjutnya dilakukan proses fiksasi. Kemudian, sebanyak 2-3 tetes Gram A (*kristal violet*) ditetaskan pada ulasan bakteri yang berada pada permukaan kaca preparat dan didiamkan selama 60 detik. Kaca preparat kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Setelah itu, sebanyak 2-3 tetes Gram B (larutan lugol/JKJ) ditetaskan pada ulasan bakteri, didiamkan terlebih dahulu selama 60 detik yang kemudian kaca preparat dicuci dengan menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Ulasan bakteri pada permukaan kaca preparat selanjutnya ditambahkan 2-3 tetes larutan alkohol-aseton dan didiamkan selama 60 detik. Preparat dicuci Kembali menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Lalu ditambahkan lagi 2-3 tetes larutan safranin pada preparat, didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Diamati di bawah mikroskop yang terlebih dulu telah ditambahkan 2-3 tetes minyak imersi. Hasil pewarnaan bakteri Gram positif ditandai koloni berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif koloni bakteri berwarna merah.

### **2.3.8. Uji Fisiologis Bakteri Probiotik**

#### **2.3.8.1 Uji Ketahanan Terhadap Keasaman Lambung (pH)**

Uji ketahanan terhadap asam lambung (pH) dilakukan dengan menggunakan media MRSB yang dengan penambahan HCl 0,1 N untuk mendapatkan pH 2,5-3 (sesuai dengan pH lambung). Sebanyak 1 ose pada masing-masing isolat dari stok kultur diinokulasikan pada media MRSB + HCl 0,1 N. Kemudian dilakukan proses inkubasi pada suhu 37 °C selama 2 x 24 jam (Husain et al., 2017). Hasil positif pertumbuhan bakteri ditandai dengan endapan yang terbentuk pada tabung reaksi dan warna media yang menjadi keruh pada media MRSB yang telah ditambahkan HCl 0,1 N.

#### **2.3.8.2 Uji Ketahanan Terhadap Garam Empedu**

Media MRSB ditambahkan dengan garam sintetik (*ox bile*) dengan konsentrasi 1% dan 5%. kemudian sebanyak 1 ose bakteri isolat yang diambil dari stok kultur diinokulasikan pada media MRSB + garam empedu 1% dan 5%. Dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama 2 x 24 jam (Husain et al., 2017). Hasil positif ditandai dengan

terbentuknya endapan pada tabung reaksi dan warna media yang berubah menjadi keruh yang dapat diamati pada media MRSB + garam empedu 1% dan 5%.

### **2.3.8.3 Uji Ketahanan Temperatur (Suhu)**

Masing-masing isolat bakteri dari stok kultur diambil sebanyak 1 ose dan dilakukan inokulasi pada media MRSB dalam tabung reaksi. Kemudian diinkubasi pada suhu 15 °C, 37 °C dan 45 °C selama 2x24 jam. Hasil positif apabila terjadi pertumbuhan bakteri pada media dan hasil negatif apabila tidak terjadi pertumbuhan bakteri pada media. Adanya pertumbuhan ditandai dengan media yang menjadi keruh.

### **2.3.9 Uji Karakterisasi Biokimia**

#### **2.3.9.1 Uji MR (*Methyl-Red*)**

Diinokulasikan pada media MR-VP isolat yang diambil dari stok kultur sebanyak 1 ose, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 x 24 jam. setelah itu, media kemudian ditambahkan 5 tetes methyl red pada media. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya kompleks warna merah muda sampai merah yang dapat teramati pada media yang menjadi penanda bahwa mikroba tersebut dapat menghasilkan senyawa berupa asam campuran.

#### **2.3.9.2 VP (*Voges Proskauer*)**

Diinokulasikan pada media MR-VP isolat yang diambil dari stok kultur sebanyak 1 ose, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 x 24 jam. setelah itu, media kemudian ditambahkan 0,2 mL KOH 40% dan 0,6 mL alfa naftol dan dihomogenkan selama 30 detik. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya kompleks warna lembayung pada media.

#### **2.3.9.3 Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)**

Diinokulasikan sebanyak 1 ose isolat bakteri yang diambil dari stok kultur pada media TSIA dengan metode tusuk pada bagian butt dan metode gores pada bagian slant. Kemudian, diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Adapun perubahan yang dapat teramati setelah dilakukan inkubasi yaitu warna media yang menjadi kuning menandakan asam, sedangkan warna merah pada media yang menandakan media menjadi suasa lebih basa dan warna yang menjadi hitam menandakan terbentuknya H<sub>2</sub>S, selain itu yang menandakan jika positif memproduksi gas dapat teramati ketika media terangkat.

#### **2.3.9.4 Uji Motilitas**

Diinokulasikan sebanyak 1 ose setiap isolat bakteri yang diambil dari stok kultur ke dalam media SIM (*Sulfide Indole Motility*) dengan metode di tusuk tegak. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya pola pertumbuhan yang menyebar pada area sekitar tusukan Ketika proses inokulasi

yang menyerupai akar pohon. Hal tersebut menandakan bahwa mikroba pada isolat bakteri melakukan pergerakan (motil). Adapun untuk hasil negatif ditandai tidak adanya pola pertumbuhan yang dapat teramati setelah proses inkubasi pada area sekitar bekas tusukan pada media, sehingga hal tersebut menandakan bahwa mikroba tidak melakukan pergerakan (non motil).

### **2.3.9.5 Uji Katalase**

Diinokulasikan sebanyak 1 ose setiap isolat bakteri yang diambil dari stok kultur pada kaca preparat, lalu ditetesi dengan reagen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Hidrogen peroksida). Hasil positif pada uji katalase ditandai dengan adanya gelembung gas yang terbentuk, sedangkan hasil negatif ketika tidak terbentuk gelembung gas.

### **2.3.10. Uji Daya Hambat Terhambat Bakteri Patogen**

#### **2.3.10.1 Penyiapan Bakteri Uji**

Digunakan bakteri uji yaitu *S. aureus* sebagai golongan bakteri gram positif dan *E. coli* sebagai bakteri gram negatif. Bakteri uji tersebut diremajakan terlebih dahulu pada media NA miring menggunakan teknik gores yang selanjutnya diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37 °C. Setelah itu, dibuat suspensi bakteri uji dengan mengambil isolat bakteri uji yang telah diremajakan untuk diinokulasikan pada lautan NaCl fisiologis steril dan dihomegenkan menggunakan vortex.

#### **2.3.10.2 Penyiapan Kultur Bakteri Probiotik**

Isolat bakteri probiotik dari stok kultur diinokulasikan pada media MRSB 50 mL dan dishaker pada kecepatan 120 rpm selama 1x24 jam.

#### **2.3.10.3 Uji Antibakteri**

Pengujian ini menggunakan kultur bakteri probiotik yang di shaker selama 1x24 jam. Kultur bakteri dilakukan sentrifugasi, hingga diperoleh supernatan dan natan. Sebanyak 1 mL isolat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan kekeruhan 25% T diinokulasi pada media NA dengan metode tuang (*pour plate*) dan ditunggu hingga memadat. Sementara itu *blank disk* steril direndam kedalam masing-masing supernatan bakteri probiotik isolat dari usus itik betina *Anas domesticus* dan ciprofloxacin sebagai kontrol positif selama 10 menit. Kemudian setelah memadat, diletakkan *blank disk* di permukaan medium, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter hambatan yang terbentuk (mm) dengan menggunakan jangka sorong.

### **2.4 Analisis Data**

Data yang telah diperoleh kemudian diolah secara deskriptif dan hasil analisis data disajikan dalam bentuk gambar maupun tabel. Analisis deskriptif antara lain dengan melihat hasil dari isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat yang potensial sebagai bakteri probiotik. Adapun analisis datanya yaitu data yang diambil dari diameter uji daya hambat terhadap bakteri patogen *S.aureus* dan *E. coli*.