

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Populasi dunia diproyeksikan mencapai 9,7 miliar orang pada tahun 2050. Salah satu dampak langsung dari pertumbuhan populasi adalah meningkatnya permintaan pangan. Menurut laporan dari FAO (*Food and Agriculture Organization*), produksi pangan global harus meningkat setidaknya 70% untuk memenuhi kebutuhan populasi yang diproyeksikan pada tahun 2050 (Amin et al., 2024). Peningkatan tersebut juga berdampak pada permintaan produk hewani di Indonesia (Ermansyah et al., 2020). Sektor industri perunggasan, seperti peternakan ayam dan bebek menjadi penyumbang utama produk hewani di Indonesia yang mudah diperoleh dan relatif terjangkau. Komoditas pangan hewani yang memiliki tingkat pertumbuhan konsumsi tertinggi berasal dari itik. Kontribusi besar sektor perunggasan dalam penyediaan protein hewani perlu diimbangi dengan sistem produksi yang berkelanjutan. Namun, permasalahan di industri peternakan adalah penggunaan *Antibiotic Growth Promotor* (AGP) untuk meningkatkan efektivitas pakan ternak (Ermansyah et al., 2020; Sihombing & Fajri, 2024).

AGP adalah antibiotik yang ditambahkan ke dalam pakan ternak dalam dosis subterapeutik (di bawah dosis pengobatan) dengan tujuan utama untuk meningkatkan laju pertumbuhan dan efisiensi penggunaan pakan (Miyakawa et al., 2024). AGP digunakan untuk memacu pertumbuhan dan performa ternak, seperti penambahan berat badan, efisiensi penggunaan pakan, dan mengurangi angka mortalitas. Namun, AGP dapat berpengaruh negatif bagi kesehatan manusia karena dapat terserap dan menumpuk pada daging, telur, dan susu. Hasil kajian juga menunjukkan bahwa penggunaan antibiotik dapat menimbulkan efek samping berupa penumpukan residu pada karkas ayam dan munculnya bakteri yang resisten (Shaffitri et al., 2020). Larangan penggunaan AGP tertuang dalam Permentan No. 14 Tahun 2017 tentang Klasifikasi Obat Hewan, khususnya pada Pasal 16 yang menyatakan bahwa pemerintah melarang penggunaan obat hewan sebagai *feed additive* (imbuhan pakan) (Shaffitri et al., 2020). Adapun alternatif yang dapat menggantikan penambahan antibiotik yaitu dengan menggunakan probiotik (Suswoyo & Tugiyanti, 2022).

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang berdampak positif bagi kesehatan organisme dan dapat menyeimbangkan bakteri di saluran pencernaan dengan menekan pertumbuhan bakteri patogen, serta mampu meningkatkan fungsi usus (Husain et al., 2023; Mamphogoro et al., 2024). Salah satu sumber probiotik yang potensial berasal dari unggas domestik, seperti itik (Husain et al., 2017; Husain et al., 2020). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Irma et al (2022) yang menyatakan bahwa isolat probiotik dari usus itik menunjukkan kemampuan untuk menghasilkan senyawa yang mampu membunuh bakteri patogen. Di samping itu, itik memiliki daya tahan yang lebih baik dibanding unggas lainnya (Brata et al., 2020). Sehingga dapat dijadikan sebagai sumber strain probiotik yang potensial. Secara umum, itik yang memperoleh kebebasan mencari pakan di lingkungan sekitar (pemeliharaan semi-intensif) cenderung memiliki komposisi mikroflora saluran pencernaan yang berbeda dibandingkan dengan itik yang dipelihara secara intensif melalui pemberian pakan teratur. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Husain et al (2020), sumber bakteri asam laktat yang potensial dapat

berasal dari unggas yang dipelihara di luar ruangan karena habitatnya di alam liar memungkinkan tingginya keanekaragaman hayati bakteri dalam saluran pencernaan. Nugraha et al (2021) menyatakan bahwa pola pemeliharaan semi-intensif memiliki ciri khas yaitu itik biasanya diumbar lalu pakan tetap diberikan kepada ternak, biasanya 1 kali sehari. Ketika pemeliharaan diumbar maka akan timbul variasi konsumsi pakan dan nutrisi yang diperoleh oleh itik, karena itik diberikan kesempatan untuk bebas mencari pakan (Nugraha et al., 2021).

Probiotik yang umum digunakan merupakan golongan Bakteri Asam Laktat (BAL) meliputi; *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium spp.*, dan jamur probiotik seperti *Saccharomyces* (Priastoto et al., 2016; Paris et al., 2024). Probiotik menghasilkan bakteriosin untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen di dalam saluran pencernaan. Mikroorganisme tersebut menghasilkan asam organik yang dapat menurunkan pH di dalam saluran pencernaan. Penurunan pH menjadi asam berpengaruh pada pertumbuhan bakteri patogen di dalam saluran pencernaan sehingga bakteri patogen tidak akan tumbuh dengan baik. Hal ini menyebabkan bakteri baik bisa mendominasi dan berkompetisi dengan baik di saluran pencernaan (Utomo et al., 2022).

Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik asal usus itik betina *Anas domestica* dari pesisir Desa Sawakung Beba, Kecamatan Galesong Utara, Kabupaten Takalar.

1.2 Teori

1.2.1 Itik *Anas domestica*

Itik *Anas domestica* merupakan salah satu komoditas unggas yang banyak diminati di bidang peternakan. Peternakan itik terus berkembang karena itik memiliki sifat yang mudah dalam pemeliharaan, kuat dalam serangan penyakit dan mudah dalam beradaptasi. Salah satu keunggulan itik dibandingkan dengan unggas lainnya adalah daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan (Aji et al., 2022). Itik digolongkan menjadi 3 jenis, yakni: itik petelur, itik ornamental, dan itik pedaging. Itik petelur dipelihara untuk diperoleh telurnya, itik ornamental dipelihara sebagai itik hias, dan itik pedaging untuk diambil dagingnya. Itik lokal Indonesia hampir seluruhnya merupakan keturunan bangsa itik *Indian Runner*, yaitu bangsa itik yang dikenal sebagai itik penghasil telur dan sudah beradaptasi baik dengan lingkungan Indonesia (Muliani 2014).



Gambar 1. Itik *Anas domestica*
(Dokumentasi pribadi, 2025)

Adapun klasifikasi itik *Anas domestica* adalah sebagai berikut (Muliani, 2014):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Aves
Ordo	: Anseriformes
Famili	: Anatidae
Genus	: <i>Anas</i>
Spesies	: <i>Anas domestica</i> L.

Pertumbuhan dan ukuran tubuh itik sangat dipengaruhi oleh pakan yang dikonsumsi, lingkungan sekitar, sistem perkandangan, dan potensi genetiknya (Wulandari et al., 2015). Peternak yang melakukan sistem pemeliharaan secara intensif, itik dikandangan tanpa digembalakan, semua pakan yang dikonsumsi itik berasal dari pemberian peternak. Sedangkan peternak yang menggunakan sistem pemeliharaan secara semi-intensif, itik digembalakan di sawah atau sungai pada waktu tertentu. Selain pakan yang diberikan peternak, itik akan mendapat pakan tambahan dari lingkungan sekitarnya saat digembalakan (Ramadhana et al., 2019). Perbedaan konsistensi pemberian pakan pada pemeliharaan semi-intensif dan intensif dapat mempengaruhi mikroflora usus (Nugraha et al., 2021).

Itik yang dipelihara dengan sistem semi-intensif dianggap memiliki mikroflora yang menguntungkan bagi itik. Hal ini disebabkan pemeliharaan secara semi-intensif menimbulkan variasi konsumsi pakan dan nutrisi yang diperoleh itik. Selain itu, itik memiliki kemampuan mengomsumsi ransum yang cukup tinggi dibandingkan ayam sehingga dapat mempengaruhi mikroflora yang terkandung dalam saluran pencernaan itik (Anahamu et al., 2018; Nugraha et al., 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Gong et al (2008) dan Xu et al (2016) menyatakan bahwa akses lingkungan yang lebih luas dapat memperkaya BAL pada saluran pencernaan unggas.

1.2.2 Probiotik

Probiotik pertama kali digunakan oleh Lilley dan Stillwell pada tahun 1965 untuk menggambarkan substansi yang dikeluarkan oleh suatu mikroba dalam merangsang pertumbuhan mikroba lainnya (Akhadiarto, 2010). Secara etimologi kata probiotik berasal dari bahasa latin “pro” yang berarti untuk dan kata yunani “bios” yang berarti hidup (Bella et al., 2020). Probiotik sebenarnya sudah dikenal sejak 2000 tahun yang lalu. Tapi baru awal abad ke-19 yaitu tahun 1907 konsep ini dapat dibuktikan secara ilmiah oleh ilmuwan Rusia yang bekerja di Institut Pasteur, Paris, Prancis, bernama Ilya Metchnikoff. Beliau mengartikan probiotik adalah konsumsi asam yang dihasilkan oleh bakteri yang memfermentasi susu dan dapat mencegah pertumbuhan bakteri patogen dan jika dikonsumsi secara teratur dapat meningkatkan kualitas dan kesehatan. Pendapat lain menyatakan bahwa probiotik adalah mikroorganisme hidup atau bakteri baik yang secara natural ada di dalam usus (disebut flora normal,) atau mikroorganisme baik yang sengaja dikembangkan sebagai suplemen makanan/ minuman yang apabila dikonsumsi dalam jumlah seimbang akan memberikan dampak positif bagi kesehatan. Selanjutnya pengertian probiotik berkembang sebagai suplemen pakan yang

berisi mikroba hidup baik bakteri, kapang dan khamir yang dapat memperbaiki keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan (Aritonang et al., 2019).

Dewasa ini, definisi yang paling banyak diterima adalah yang dikeluarkan oleh FAO dan WHO (*World Health Organization*) pada tahun 2001, yang mendefinisikan probiotik sebagai “mikroorganisme hidup yang ketika diberikan dalam jumlah yang cukup, memberikan manfaat kesehatan pada inangnya”. Ada banyak jenis probiotik yang berasal dari berbagai keluarga bakteri dan ragi. Beberapa genera bakteri yang paling umum digunakan sebagai probiotik meliputi *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, dan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Setiap genus berisi beberapa spesies, dan dalam setiap spesies memiliki banyak strain. Efek kesehatan dan mekanisme kerja probiotik umumnya bergantung pada strain spesifik (Ji et al., 2023).

1.2.3 Karakteristik Bakteri Probiotik

Suatu mikroorganisme dapat digolongkan sebagai probiotik apabila memenuhi beberapa kriteria tertentu. Karakteristik probiotik mencakup kemampuan untuk bertahan hidup pada kondisi ekstrem di saluran pencernaan, seperti lingkungan asam lambung dan garam empedu. Menurut Zhang et al (2020), bakteri probiotik secara efektif menahan pertumbuhan dan aktivitas berbagai mikroorganisme enteropatogenik. Bakteri tersebut memiliki kemampuan untuk menahan berbagai kondisi yang merugikan seperti tahan terhadap cairan pencernaan, berbagai protease, garam empedu dan harus toleran terhadap asam lambung. Organisme probiotik juga harus memiliki kemampuan kolonisasi yang kuat, sehingga dapat dengan cepat menempel pada mukosa usus. Selain itu, organisme probiotik tidak memiliki efek samping apa pun dan bersifat aman bagi organisme inang, contohnya dari beberapa golongan BAL (Zhang et al., 2020).

Karakteristik lainnya adalah stabilitas selama proses penyimpanan dan pemberian. Yogeswara et al (2014) menyatakan bahwa untuk menjadi organisme probiotik, BAL harus bertahan selama di saluran cerna dan memiliki stabilitas dan viabilitas yang baik selama penyimpanan. Tujuannya adalah agar bakteri probiotik dapat dikonsumsi dalam waktu yang cukup lama dan memiliki efek kesehatan (Yogeswara et al., 2014). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bustos et al (2025), yang menyatakan bahwa bakteri probiotik rentan terhadap kondisi stres tidak hanya selama proses produksi pangan tetapi juga selama perjalanan gastrointestinal.

Menurut Aritonang et al (2019), karakterisasi BAL yang dapat digolongkan ke dalam bakteri probiotik adalah:

1. Isolat bakteri yang diperoleh memiliki karakteristik yang dimiliki oleh BAL berdasarkan pewarnaan gram, pengamatan bentuk sel, uji katalase, pengujian produksi gas dari glukosa, uji ketahanan terhadap asam klorida, uji ketahanan terhadap garam empedu (*oxgall*), uji aktivitas antimikroba BAL pada berbagai bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Sebagai materi hidup yang tidak berbahaya.
3. Dapat bertahan hidup selama dilakukan proses dan penyimpanan.
4. Memiliki efek antagonis terhadap bakteri patogen.
5. Toleran terhadap asam lambung, getah pankreas dan cairan empedu serta mampu melindungi epitelium inangnya minimal dalam jangka waktu pendek. Ketahanan terhadap garam empedu merupakan salah satu syarat penting untuk bakteri asam

laktat yang akan digunakan sebagai probiotik. Asam empedu merupakan racun bagi sel hidup, oleh karena itu mikroba pada saluran pencernaan harus mempunyai suatu mekanisme pertahanan untuk melindungi diri dari aktivitas racun tersebut.

Penelitian yang dilakukan oleh Zurmiati et al (2014) menyatakan bahwa satu faktor kunci dalam seleksi starter probiotik yang baik yaitu kemampuannya untuk bertahan dalam lingkungan asam pada produk akhir fermentasi. Ketahanan probiotik pada kondisi *in vitro* dapat dipengaruhi oleh pembentukan metabolit oleh starter seperti asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Berbagai jenis mikroorganisme yang digunakan sebagai probiotik diisolasi dari isi usus pencernaan, mulut, dan kotoran ternak. Selain itu, bakteri probiotik juga dapat ditemukan pada beberapa bahan komersial yaitu makanan fermentasi seperti yogurt dan kimchi serta suplemen probiotik. Mikroorganisme tersebut harus non-patogen, Gram positif, strain yang spesifik, anti *E. coli*, tahan terhadap cairan empedu, dan hidup, melekat pada mukosa usus (Zurmiati et al., 2014; Bodke et al., 2022).

1.2.4 Golongan Mikroorganisme Probiotik

Golongan mikroorganisme probiotik yang paling banyak digunakan adalah dari golongan BAL. BAL merupakan kelompok bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk kokus atau basil, fakultatif anaerob, katalase negatif dan tahan terhadap asam. BAL sebagian besar mencakup genus *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragonococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Bifidobacterium*, dan beberapa khamir juga telah ditemukan sebagai kandidat yang cocok (Vanderberghe et al., 2010; Dwinianti et al., 2025).

Dalam Vanderberghe et al (2010) mengemukakan yang dikutip dari Shah (2007) dan Chow (2002) bahwa mikroorganisme probiotik komersial adalah sebagai berikut:

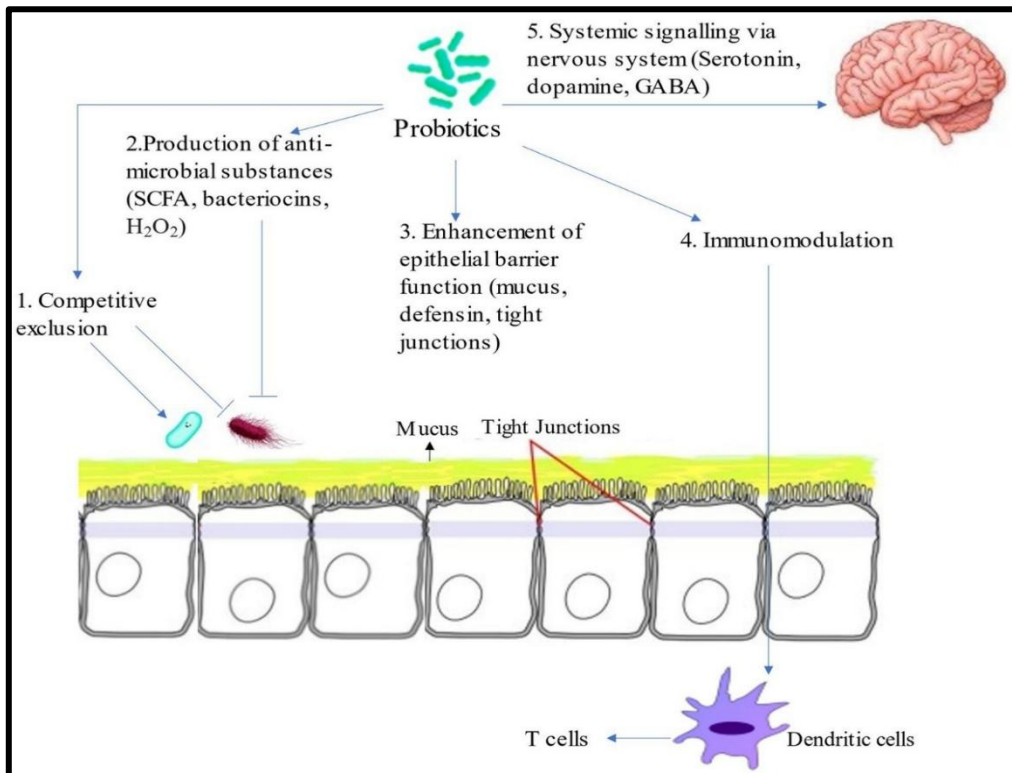
Tabel 1. Mikroorganisme Probiotik Komersial (Vanderberghe et al., 2010)

Microorganism	Strain	Company (Product)
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	ATCC 15703	-
<i>Bifidobacterium animalis</i>	Bb-12	Chr. Hansen
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Bb-11	Chr. Hansen
<i>Bifidobacterium breve</i>	-	-
<i>Bifidobacterium essensis</i>	-	Danone® (Activia)
<i>Bifidobacterium infantis</i>	Shirota	Yakult®, Danone® Immunitas
<i>Bifidobacterium lactis</i>	Bb-02, Lafti™, B94, DSM	-
<i>Bifidobacterium longum</i>	BB536, SBT-2928, UCC 35624	Morinaga, Snow Brand, UCCork
<i>Bacillus lactis</i>	DR10	Danisco (Howaru™)

<i>Enterococcus faecium</i>	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	LA-1/LA-5, NCFM, DDS-1, SBT-2062	Chr. Hansen, Rhodia, Nebraska Cultures, Snow Brand
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Lb12	-
<i>Lactobacillus casei</i>	Shirota, Immunitas®	Yakult®, Danone®
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>ssp. bulgaricus</i>	-	-
<i>Lactobacillus fermentum</i>	RC-14	Urex Biotech
<i>Lactobacillus GG</i>	-	-
<i>Lactobacillus helveticus</i>	B02	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	L1A	Essum AB
<i>Lactobacillus paracasei</i>	CRL 431	Chr. Hansen
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	GG, GR-1, LB21, 271	Valio, Urex Biotech, Essum AB, Probi AB
<i>Lactobacillus plantarum</i>	299v, Lp01	Probi AB
<i>Lactobacillus reuteri</i>	SD2112/MM2	Biogaia
<i>Lactobacillus salivarius</i>	-	-
<i>Saccharomyces boulardii</i>	-	-

1.2.5 Mekanisme Kerja Probiotik

Mekanisme kerja probiotik di dalam tubuh inang melibatkan berbagai proses biologis yang saling mendukung. Diketahui bahwa probiotik mampu meningkatkan sekresi sitokin anti-inflamasi dan secara kompetitif menghalangi adhesi patogen di permukaan mukosa usus sehingga dapat mencegah pertumbuhan bakteri patogen, sehingga berdampak langsung terhadap sistem kekebalan atau imun tubuh yang semakin baik. Selain itu, bakteri probiotik memiliki kemampuan untuk menjaga keseimbangan mikrobiota di usus (Dewi et al., 2021). Menurut Luminturahardjo (2021), mekanisme probiotik secara garis besar adalah meningkatkan pertahanan epitel, meningkatkan adhesi mukosa intestinal, menghambat inhibisi patogen, melawan patogen secara kompetitif, memproduksi zat antimikroba, dan memodulasi sistem imun.



Gambar 2. Mekanisme Kerja Probiotik
(Latif et al., 2023)

1. Probiotik menjalankan fungsinya dengan cara berkompetisi dengan patogen untuk mendapatkan nutrisi dan reseptor untuk mengikat, sehingga menyulitkan kelangsungan hidup dan perlekatannya pada mukosa usus (Latif et al., 2023). Probiotik memproduksi bakteriosin untuk menghambat patogen, merangsang produksi musin epitel usus atau MUC2 dan MUC3. Adanya peningkatan produksi musin ini akan menghambat perlekatan kuman patogen pada mukosa saluran cerna, serta meningkatkan fungsi pertahanan usus (Dewi et al., 2021).
2. Probiotik menghasilkan zat antimikroba yang menghambat pertumbuhan patogen (Latif et al., 2023). Menurut Dewi et al (2021), probiotik merupakan kelompok bakteri yang memproduksi asam laktat dari karbohidrat, sehingga pH lingkungan saluran cerna menurun, dalam suasana asam bakteri probiotik dapat tumbuh dengan optimal, sedangkan bakteri patogen tak dapat hidup.
3. Probiotik meningkatkan fungsi barrier epitel dengan meningkatkan produksi mukus dan meningkatkan ekspresi protein *tight junction* yang mencegah translokasi patogen dari usus ke dalam darah (Latif et al., 2023). Suplementasi probiotik dapat meningkatkan ekspresi protein *tight junction* seperti occludin dan claudin yang merupakan multiprotein untuk mencegah kebocoran dan membentuk saluran selektif untuk kation, anion, atau air. Hal ini menunjukkan potensi probiotik dalam menjaga fungsi penghalang usus dan mencegah

masuknya mikroorganisme patogen atau toksin ke dalam sirkulasi sistemik (Purnasari et al., 2020; Ubaidillah et al., 2025).

4. Probiotik mengatur imunitas inang dengan memodulasi pematangan dan fungsi sel dendritik yang selanjutnya meningkatkan aktivitas sel T yang berperan penting dalam homeostasis imun (Latif et al., 2023). Mikroorganisme probiotik mampu mengatur beberapa aspek dari sistem kekebalan hewan inang. Kemampuan mikroba probiotik mengeluarkan toksin yang mereduksi/menghambat perkembangan mikroba-mikroba patogen dalam saluran pencernaan, merupakan suatu kondisi yang dapat meningkatkan kekebalan hewan inang. Toksin-toksin yang dihasilkan tersebut merupakan antibiotika bagi mikroba-mikroba patogen, sehingga penyakit yang ditimbulkan oleh mikroba patogen tersebut akan bekurang dan dapat hilang atau sembuh dengan sendirinya. Hal ini akan memberikan keuntungan terhadap kesehatan hewan inang sehingga tahan terhadap serangan penyakit (Sumarsih et al., 2012).
5. Probiotik mengatur produksi neurotransmitter termasuk serotonin, dopamin, dan asam gamma aminobutirat (GABA) melalui aksi usus-otak, yang mempengaruhi perilaku dan motilitas usus (Latif et al., 2023).

Menurut Aritonang et al (2019), mekanisme kerja probiotik dalam melindungi atau memperbaiki kondisi inangnya antara lain dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui beberapa cara diantaranya:

1. Memproduksi substansi-substansi penghambat. Probiotik mampu memproduksi zat-zat penghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun negatif. Zat-zat ini termasuk asam organik, hidrogen peroksida (H_2O_2), bakteriosin, reuterin yang mampu menghambat tidak hanya bakteri hidup namun juga produksi toksin.
2. Menghambat perlekatan bakteri patogen dengan berkompetisi di tempat perlekatan permukaan mukosa saluran cerna. Cara ini diduga juga merupakan salah satu cara probiotik dalam menghambat invasi dari bakteri patogen
3. Kompetisi nutrisi. Bakteri-bakteri yang menguntungkan (probiotik) akan berkompetisi dengan bakteri patogen dalam hal memperebutkan nutrisi dalam saluran cerna.
4. Menurunkan pH lingkungan. Bakteri asam laktat akan mengubah glukosa menjadi asam laktat sehingga pH lingkungan menjadi rendah. Dalam kondisi seperti ini pada pH rendah dan suasana asam maka akan menghambat pertumbuhan jenis bakteri patogen. Dengan demikian probiotik dapat mengurangi jumlah bakteri patogen di saluran pencernaan sehingga penggunaan probiotik lebih efisiensi dan lebih baik.

1.2.6 Manfaat Probiotik

Probiotik adalah bakteri hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan yang mempunyai pengaruh menguntungkan pada kesehatan manusia dan hewan, dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal (Yulia et al., 2023). Usus memainkan peran penting dalam pencernaan dan penyerapan nutrisi serta menjaga integritas penghalang mukosa. Fungsi probiotik sebagai pertahanan mukosa, fungsi proteksi dan pertahanan imunitas saluran cerna seperti misalnya lapisan epitel, lapisan mukus,

peristaltik, dan deskuamasi epitel, serta sekresi immunoglobulin A (IgA) sangat berpengaruh terhadap perlekatan bakteri patogen dan juga untuk modulasi sistem imun lokal dan sistemik. Probiotik mengubah komposisi atau keseimbangan dari mikrobiota baik dalam lumen dan pada permukaan mukosa (Latif et al., 2023).

Pemberian probiotik juga memberikan efek menguntungkan lainnya, seperti pengurangan kemampuan mikroorganisme patogen dalam memproduksi toksin, menstimuli enzim pencernaan serta dihasilkannya vitamin dan substansi antimikrobal sehingga meningkatkan status kesehatan inang. Keuntungan lain penggunaan probiotik adalah dapat mengurangi tekanan negatif yang diakibatkan adanya hambatan pakan (berupa anti nutrisi) pada pakan karena probiotik mampu menstimulasi peningkatan ketersediaan zat gizi bagi induk inang. Selain itu, penggunaan probiotik pada ternak unggas dilaporkan dapat menurunkan aktivitas urease, suatu enzim yang bekerja menghidrolisis urea menjadi amonia sehingga pembentukan amonia menjadi berkurang. Amonia adalah suatu bahan yang dapat menyebabkan keracunan pada ternak unggas (Sumarsih et al., 2012).

Menurut Zurmiati et al (2014), beberapa data hasil penelitian menunjukkan, bahwa bakteri probiotik yang ditambahkan ke dalam ransum atau air minum ternak dapat mencegah infeksi dan kolonisasi patogen di dalam saluran pencernaan ternak. Probiotik diberikan kepada ternak untuk memperbaiki laju pertumbuhan, efisiensi konversi ransum dan kesehatan ternak. Fungsi probiotik selain meningkatkan efisiensi ransum, produksi telur, dan menurunkan kadar kolesterol telur serta kolesterol serum, ternyata probiotik juga mampu menurunkan nitrogen non-protein dalam darah, konsentrasi asam urat, amonia dan urea dalam darah. Selain itu, penggunaan probiotik dalam pakan ternak mampu meningkatkan efisiensi pakan melalui mekanisme kerja starbio yang mampu mencerna lemak, serat kasar, dan protein dalam pakan menjadi bahan yang mudah diserap. karena keseimbangan komposisi mikroorganisme dalam sistem pencernaan ternak, sehingga berakibat pada meningkatnya daya cerna bahan pakan dan menjaga kesehatan ternak (Zurmiati et al., 2014).

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui karakteristik bakteri probiotik asal usus itik betina *Anas domesticus* di Desa Sawakung Beba, Kecamatan Galesong Utara, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan.
2. Mengetahui kemampuan megahambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
3. Memperoleh isolat bakteri probiotik asal usus itik betina *Anas domesticus* di Desa Sawakung Beba, Kecamatan Galesong Utara, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah mengenai karakteristik bakteri yang berpotensi sebagai probiotik dari usus itik betina *Anas domesticus* yang berasal dari pesisir Desa Sawakung Beba, Kecamatan Galesong Utara, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2025 hingga Februari 2026 dengan sampel itik diperoleh dari pesisir Desa Sawakung Beba, Kecamatan Galesong Utara, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan, yang digunakan sebagai sumber isolat bakteri probiotik. Isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik dari itik dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat *glass* (erlenmeyer, tabung reaksi, batang pengaduk, gelas ukur, gelas kimia, cawan petri, kaca preparat), alat non-*glass* (jarum ose, spoit, rak tabung reaksi, bunsen, labu semprot, gegap, skalpel, spatula, *setrifuse tube*), alat instrumental (enkas, inkubator, oven, timbangan digital, autoklaf, *rotary shaker*, *hot plate*, mikroskop, lemari pendingin, vortex).

2.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri probiotik, alkohol 70%, akuades, media NA (*Nutrient Agar*) (MERCK), media selektif MRSB (*Mann Rogosa Sharpe Broth*) (OXOID), *Agar Bacteriological*, media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), media SIM (*Sulfid Indol Motility*), pewarnaan gram (Kristal Violet, Lugol, Alkohol-Aseton, dan Safranin), HCl 0,1 N, garam empedu sintetik (*ox bile*), Hidrogen peroksida (H_2O_2), minyak emersi, kapas, *blank disk*, $CaCO_3$ 1%, *aluminium foil*, *cling wrap*, dan label.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Proses sterilisasi dilakukan dengan beberapa metode. Pertama, sterilisasi panas kering menggunakan oven pada suhu 130–180 °C selama 120 menit diterapkan pada peralatan gelas seperti tabung reaksi, cawan petri, dan plat tetes. Kedua, sterilisasi panas membara dilakukan dengan cara memanaskan jarum ose di atas api bunsen hingga berwarna merah membara. Ketiga, sterilisasi panas basah menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Metode ini diterapkan pada media pertumbuhan bakteri dan peralatan non-glass (Azizah et al., 2020).

2.3.2 Pembuatan Media

Beberapa media kultur digunakan dalam penelitian ini, antara lain:

2.3.2.1 MRSA (de Mann Rogosa Sharpe Agar)

Sebanyak 8,3 g MRSB, 3 g *bacteriological agar*, dan 0,5 g $CaCO_3$ 1% dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dilarutkan dalam 150 mL akuades.

Selanjutnya erlenmeyer ditutup menggunakan kapas, lalu dihomogenkan. Setelah itu, dipanaskan menggunakan *hot plate* dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.2.2 MRSB (*de Mann Rogosa Sharpe Broth*)

Sebanyak 8,3 g MRSB dilarutkan dalam 150 mL akuades. Selanjutnya larutan ditutup, dihomogenkan, dan dipanaskan menggunakan *hot plate*. Setelah itu, disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.2.3 NA (*Nutrient Agar*)

Sebanyak 2 g NA dilarutkan dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan, dihomogenkan, dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.2.4 TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Sebanyak 6,5 g TSIA dilarutkan dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan, dihomogenkan, dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.2.5 SIM (*Sulfide Indole Motility*)

Sebanyak 3 g SIM dilarutkan dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan, dihomogenkan, kemudian dimasukkan ke tabung reaksi (7 mL/tabung). Setelah itu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.3 Pengambilan Sampel

Sampel itik betina yang sehat dan tidak terkena penyakit diperoleh dari pesisir Desa Sawakung Beba, Kecamatan Galesong Utara, Kabupaten Takalar. Itik kemudian disembelih, dibersihkan dengan air mendidih, dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin untuk proses isolasi bakteri probiotik.

2.3.4 Isolasi Bakteri Probiotik

Usus itik dibersihkan dengan akuades steril, dipotong secara membujur, lalu bagian dinding usus dikerok menggunakan skalpel steril. Hasil kerokan dimasukkan ke dalam larutan akuades steril, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat (10^{-1} hingga 10^{-8}). Suspensi tersebut diinokulasikan pada media MRSA yang telah ditambahkan CaCO_3 1% dengan metode tuang (*pour plate*), lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Pertumbuhan bakteri asam laktat ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni pada media.

2.3.5 Pemurnian Isolat

Koloni yang menunjukkan zona bening dipilih dan ditanam kembali pada media MRSA yang telah ditambahkan CaCO_3 1% dengan metode *quadrant streak* untuk

memperoleh isolat murni. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Proses pemurnian diulang hingga diperoleh koloni yang benar-benar murni.

2.3.6 Pembuatan Stok Isolat

Isolat murni yang diperoleh kemudian diinokulasikan pada media miring MRSA yang ditambahkan CaCO_3 1% sebagai stok isolat untuk pengujian selanjutnya.

2.3.7 Pengamatan Morfologi

2.3.7.1 Morfologi Koloni

Koloni diamati secara morfologi berdasarkan bentuk koloni (*shape*), tepi (*margin*), warna (*colour*), dan permukaan koloni (*elevation*). Pengamatan dilakukan secara langsung dibawah mikroskop stereo dengan perbesaran 1000.

2.3.7.2 Morfologi Sel (Gram)

Pewarnaan Gram dilakukan melalui beberapa tahapan. Pertama, ulasan bakteri dibuat pada permukaan kaca preparat lalu difiksasi di atas api bunsen. Selanjutnya, ditetaskan Gram A (kristal violet) pada ulasan bakteri yang ada di permukaan preparat dan didiamkan selama 60 detik, lalu dicuci menggunakan air dan dikeringkan menggunakan *tissue*. Setelah itu ditetaskan Gram B (larutan lugol/JKJ) pada ulasan bakteri, didiamkan selama 60 detik, lalu dicuci menggunakan air dan dikeringkan menggunakan *tissue*. Selanjutnya, ditetaskan Gram C (larutan alkohol-aseton), didiamkan selama 30 detik, lalu dicuci menggunakan air dan dikeringkan menggunakan *tissue*. Kemudian ditetaskan Gram D (larutan safranin) pada ulasan bakteri, didiamkan selama 30 detik, kemudian dicuci menggunakan air dan dikeringkan menggunakan *tissue*. Terakhir, ditetaskan minyak emersi kemudian diamati dibawah mikroskop. Hasil pewarnaan bakteri Gram positif ditandai dengan koloni berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah.

2.3.8 Uji Fisiologis Bakteri Probiotik

2.3.8.1 Uji Ketahanan terhadap Suhu

Isolat dari stok kultur diinokulasikan pada media MRSB dan diinkubasi pada suhu 15 °C, 37 °C, dan 45 °C selama 48 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna pada media menjadi keruh.

2.3.8.2 Uji Ketahanan terhadap Keasaman Lambung (pH)

Isolat dari stok kultur diinokulasikan pada media MRSB dengan pH 2,5–3 (diatur dengan HCl 0,1 N) sesuai dengan pH lambung dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna media menjadi keruh.

2.3.8.3 Uji Ketahanan terhadap Garam Empedu

Media MRSB ditambahkan garam sintetik (*ox bile*) dengan konsentrasi 1% dan 5%. Kemudian isolat dari stok kultur diinokulasikan pada media tersebut lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna pada media menjadi keruh serta terbentuknya endapan.

2.3.9 Uji Karakterisasi Biokimia

2.3.9.1 Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Isolat dari stok kultur diinokulasikan pada media TSIA dengan metode tusuk pada bagian *butt* dan metode gores pada bagian *slant*, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Perubahan warna media menjadi kuning menandakan suasana asam, sedangkan perubahan warna media menjadi merah menandakan suasana basa. Adapun perubahan warna media menjadi hitam menandakan terbentuknya H₂S. Selain itu, hasil positif produksi gas ditandai dengan media yang terangkat.

2.3.9.2 Uji Motilitas

Isolat dari stok kultur diinokulasikan pada media SIM dengan metode tusuk tegak, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Pertumbuhan menyebar menandakan mikroba pada isolat bakteri bersifat motil, sedangkan pertumbuhan terbatas menandakan isolat bakteri bersifat non-motil.

2.3.9.3 Uji Katalase

Isolat dari stok kultur diinokulasikan di atas kaca preparat kemudian ditetesi H₂O₂. Hasil positif ditunjukkan dengan pembentukan gelembung gas.

2.3.10 Pengukuran Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri

Kultur isolat bakteri diukur kurva pertumbuhannya menggunakan spektrofotometer dengan melihat nilai Optical density (OD) pada absorbansi $\lambda = 580$ nm. Pengukuran dilakukan setiap interval waktu 2 jam selama 2 × 24 jam.

2.3.11 Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Probiotik terhadap Bakteri Patogen

2.3.11.1 Penyiapan Bakteri Uji

Digunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Escherichia coli* (Gram negatif). Bakteri tersebut diremajakan pada media NA miring menggunakan teknik gores, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Suspensi bakteri dibuat dalam akuades steril yang diinokulasikan dari isolat bakteri uji yang telah diremajakan, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex.

2.3.11.2 Penyiapan Kultur Probiotik

Isolat bakteri probiotik yang telah diremajakan dari stok kultur diinokulasikan pada media MRSB 75 mL, lalu dishaker pada kecepatan 120 rpm selama 24 jam dan 48 jam.

2.3.11.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Kultur bakteri probiotik yang telah dishaker selama 24 jam dan 48 jam selanjutnya disentrifugasi untuk memperoleh supernatan. Kemudian suspensi bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* dituangkan pada media NA masing-masing sebanyak 0,3 mL menggunakan spoit lalu dihomogenkan. Kemudian dituang media yang mengandung bakteri uji ke dalam cawan petri dengan metode tuang, lalu ditunggu hingga memadat.

Blank disk steril yang telah direndam supernatan probiotik dan ciprofloxacin (kontrol positif) selama $\pm$ 30 menit diletakkan di atas media, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dan 48 jam. Terakhir, diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter.

2.4 Analisis Data

Data yang telah diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan menampilkan hasil isolasi dan karakterisasi BAL potensial sebagai probiotik. Hasil uji ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar untuk memperjelas perbandingan. Adapun analisis datanya diukur dari diameter hasil uji daya hambat terhadap bakteri patogen yaitu *S. aureus* dan *E. coli*.