

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produksi pangan hewani global mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk dan kebutuhan protein dunia. Sektor perunggasan memegang peran yang sangat penting sesuai dengan laporan *Organization for Economic Co-operation and Development-Food and Agriculture Organization (OECD-FAO) Agricultural Outlook 2025-2034*, menyatakan bahwa daging unggas diperkirakan akan menyumbang sekitar 45% dari total protein yang berasal dari daging pada tahun 2034, menjadikannya komoditas utama dalam pemenuhan kebutuhan protein hewani dunia. Indonesia merupakan salah satu negara penghasil unggas terbesar di Asia Tenggara, dengan variasi model usaha peternakan dari operasi komersial berskala besar hingga kandang tradisional di pekarangan rumah. Industri perunggasan Indonesia memainkan peran penting dalam sektor pertanian negara ini, memasok protein penting bagi jutaan orang melalui produk-produk seperti daging dan telur. Direktorat Jenderal dan Kesehatan Hewan (2019), menyatakan bahwa permintaan daging itik di Indonesia mengalami peningkatan tiap tahunnya, pada tahun 2017 sebanyak 42.318,86 ton, tahun 2018 sebanyak 44.679,75 ton dan tahun 2019 sebanyak 46.563,38 ton. Tingginya permintaan ini memberikan peluang bagi industri obat hewan untuk mengembangkan berbagai upaya yang dapat mempercepat laju pertumbuhan serta menghasilkan bobot tubuh yang optimal dalam waktu yang relatif singkat (Sihombing dan Fajri, 2024).

Antibiotik telah digunakan sebagai pemacu pertumbuhan dalam produksi unggas untuk mencegah penyakit dan meningkatkan pertumbuhan, kesehatan usus, dan efisiensi pakan selama bertahun-tahun (Paul *et al.*, 2022). Berdasarkan penelitian Cardinal *et al* (2019) menjelaskan bahwa *Antibiotic Growth Promotor* (AGP) secara jelas meningkatkan kinerja broiler, terutama dalam aspek konversi pakan *feed conversion ratio* dan penambahan berat badan di fase awal (1–21 hari). AGP telah lama digunakan dalam industri peternakan unggas untuk meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan. Namun, pelarangan penggunaan AGP telah diberlakukan di beberapa negara, termasuk Indonesia dan diatur dalam Undang-undang No. 18/2009 juncto Undang-undang No. 41/2014 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan yang menyatakan pelarangan penggunaan pakan yang dicampur dengan hormon tertentu dan atau antibiotik imbuhan pakan. Pelarangan penggunaan AGP didasarkan pada penelitian Putra dan Humaidah (2022) bahwa penggunaan AGP secara terus-menerus telah menimbulkan masalah resistensi antibiotik pada bakteri yang berdampak negatif pada kesehatan hewan dan manusia. Didukung dengan peraturan Pemerintah Indonesia yang melarang penggunaan AGP dalam pakan ternak, melalui Peraturan Menteri Pertanian No. 14/2017 guna mengurangi eksposur residu antibiotik dan risiko bagi kesehatan manusia. Hal ini sejalan dengan penelitian Alagawany *et al* (2022), yang menyatakan bahwa residu antibiotik memiliki

efek berbahaya, yaitu dampak toksik pada hati, otak, sumsum tulang, ginjal, reaksi alergi, efek mutagenik, gangguan reproduksi, serta masalah pencernaan. Berdasarkan permasalahan tersebut, sejumlah produk imbuhan pakan seperti diantaranya minyak esensial, ekstrak tumbuhan, rempah-rempah, asam organik, probiotik dan prebiotik telah diteliti dan terbukti memiliki kemampuan alternatif pengganti antibiotik dalam sistem produksi ternak (Varhan *et al.*, 2022).

Penggunaan probiotik dalam pakan ternak telah mendapat perhatian besar dalam beberapa dekade terakhir. Probiotik sebagai alternatif antibiotik membantu mempertahankan keseimbangan mikrobiota usus hewan, menyaring penyakit di saluran pencernaan, dan memiliki efek protektif terhadap patogen. Probiotik yang umum dimanfaatkan adalah Bakteri Asam Laktat (BAL). BAL adalah sumber utama probiotik yang digunakan dalam pakan ternak dan menghasilkan senyawa antimikroba, terutama bakteriosin dan asam lemak rantai pendek yang berkontribusi pada penghambatan pertumbuhan bakteri patogen (Sirisopapong *et al.*, 2023). BAL memiliki kemampuan untuk mengubah substrat karbohidrat menjadi asam organik seperti *lactic acid*, *acetic acid*, *formic acid* yang menyebabkan penurunan pH hingga kisaran 3,5-4,0 di lingkungan sekitar fermentasi. Lingkungan dengan pH rendah ini menjadi tidak bersahabat bagi bakteri patogen, sehingga pertumbuhan bakteri patogen menjadi terhambat (Fitria *et al.*, 2025). Sumber potensial bakteri probiotik dapat ditemukan pada unggas domestik (Husain *et al.*, 2020). Didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Irma *et al* (2022), menyatakan bahwa pada usus Itik *Anas domestica* memiliki BAL yang mampu mempertahankan produksi telur lebih lama dibandingkan ayam, tingkat kematiannya kecil, tahan terhadap penyakit, dan pada penggunaan kualitas pakan yang rendah itik masih dapat memproduksi, selain itu isolat probiotik dari usus itik *Anas domestica* menunjukkan karakteristik bakteri probiotik yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa yang mampu untuk membunuh bakteri patogen.

Efektivitas penggunaan bakteri probiotik dalam membunuh bakteri patogen sangat bergantung pada keragaman jenis bakteri yang digunakan. Sampel itik yang digunakan pada penelitian ini berasal dari pesisir di Desa Sampulungan Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar. Pemilihan lokasi sampel ini dilakukan berdasarkan kondisi lingkungan pada lokasi tersebut, dimana pemeliharaan itik dilakukan dengan cara dilepaskan secara bebas (semi intensif) untuk memperoleh makanan sehingga akan menimbulkan variasi dalam mikroflora usus itik. Hal ini sejalan dengan penelitian Husain *et al* (2020), yang menyatakan bahwa sumber BAL yang potensial dapat berasal dari unggas yang dipelihara di luar ruangan karena habitatnya di alam liar memungkinkan tingginya keanekaragaman hayati bakteri dalam saluran pencernaan. Oleh karena itu, itik yang hidup di wilayah pesisir diduga menyimpan potensi besar sebagai sumber isolat BAL dengan karakteristik probiotik.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik asal usus itik betina *Anas domestica* dari pesisir Desa Sampulungan Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar.

1.2 Dasar Teori

1.2.1 Itik *Anas Domesticus*

Secara taksonomi, itik diklasifikasikan sebagai berikut: (Muliani, 2014)



Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Aves
Ordo	: Anseriformis
Family	: Anatidae
Genus	: <i>Anas</i>
Spesies	: <i>Anas domesticus</i>

Gambar 1. Itik *Anas domesticus*
Dokumentasi pribadi (2025)

Itik *Anas domesticus* merupakan salah satu jenis unggas air yang telah mengalami domestikasi secara intensif oleh manusia. Domestikasi tersebut menghasilkan jenis-jenis itik yang memiliki keragaman genetika, morfologi, dan produksi yang disesuaikan dengan tujuan pemeliharaan, seperti produksi daging (pedaging), produksi telur (petelur), dan sebagai itik hias. Di Indonesia, itik lokal memiliki karakteristik khas yang berbeda antar-populasi, baik secara fenotip kualitatif maupun kuantitatif, sehingga sangat potensial untuk dikembangkan guna mendukung pendapatan peternak (Susanti *et al.*, 2022).

Itik memiliki karakteristik morfologi yang khas, seperti kepala relatif kecil, leher panjang dan ramping, tubuh dengan sayap menempel rapat pada badan, serta kaki pendek dengan selaput di antara jarinya yang memudahkan pergerakan di air. Ciri tersebut membedakan itik dari unggas darat lainnya, termasuk ayam. Selain itu, daging itik memiliki warna lebih gelap dibanding ayam karena kandungan pigmen mioglobin yang lebih tinggi, sehingga memberi ciri khas tersendiri pada produk konsumsi. Pola makan yang melibatkan pencelupan paruh ke dalam air atau lumpur menjadikan itik lebih efisien dalam memperoleh pakan dibanding ayam yang hanya mematuk permukaan tanah. Dalam hal kebiasaan makan, itik bersifat omnivora dan mampu memanfaatkan berbagai sumber pakan, mulai dari biji-bijian, rerumputan, hingga organisme kecil di lumpur. Hal ini memengaruhi komposisi komunitas mikroba usus pada sistem pencernaan itik (Zhu *et al.*, 2017).

Mikroorganisme pada sistem pencernaan itik berperan penting dalam menjaga kesehatan, mendukung pemanfaatan nutrisi, serta memberikan perlindungan terhadap serangan patogen. Keragaman mikroba ini mencakup faktor lingkungan pola pemeliharaan unggas dan sumber pakan. Dalam penelitian Husain *et al* (2020),

menyatakan bahwa sistem pemeliharaan unggas yang dipelihara di luar ruangan yang habitatnya di alam liar memungkinkan tingginya keanekaragaman hayati bakteri dalam saluran pencernaan. Akses lingkungan yang luas menyebabkan kelimpahan mikroba pada saluran pencernaan unggas. Pengaruh pemberian pakan juga memegang peranan penting dalam pembentukan dan dinamika mikroba usus itik karena komposisi dan kontinuitas pemberian nutrisi menentukan substrat yang tersedia bagi komunitas mikroba intestina (Carrasco *et al.*, 2019). Pola pemberian semi intensif di mana itik diberi kesempatan mencari pakan atau menerima pakan yang diumbar menyebabkan fluktuasi asupan nutrisi sehingga memicu perubahan komposisi dan keragaman mikrobiota usus. Kondisi keragaman mikrobiota usus mempengaruhi produktivitas itik (Zhu *et al.*, 2020).

1.2.2 Bakteri Probiotik

Menurut FAO *Food and Agriculture Organization*, probiotik merupakan suatu mikroorganisme hidup yang bermanfaat bagi kesehatan inang (baik dalam tubuh manusia maupun hewan) dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal. 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 sebagai suplemen pakan berisi mikroba hidup *direct feed microbials* baik bakteri, jamur kapang atau khamir yang dapat memberikan keuntungan bagi inangnya karena mampu memberikan keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan inangnya (Sumarsih *et al.*, 2012). Mikroba yang banyak digunakan sebagai probiotik yaitu *Lactobacillus* sp, *Bifidobacterium*, *Bacillus* sp, *Aspergillus oryzae*, *Streptococcus* sp, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cereviceae* dan *Candida pentolepsi* (Febrisiantosa *et al.*, 2012). Probiotik sebagai mikroba hidup memiliki spora yang dapat berkembang di dalam usus yang menguntungkan bagi inang baik secara langsung maupun tidak langsung dari hasil metabolitnya, sehingga mikroba menguntungkan dapat berkembang dengan baik (Safingi *et al.*, 2013).

Tabel 1. Jenis Bakteri Probiotik.

Genus <i>Bifidobacterium</i>	Genus <i>Lactobacillus</i>	Lainnya
<i>B. longum</i>	<i>L. casei</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>B. infantis</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>B. breve</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>B. animalis</i> subsp. <i>Lactis</i>	<i>L. paracasei</i>	
<i>B. bifidum</i>	<i>L. johnsonii</i>	
<i>B. adolescentis</i>	<i>L. plantarum</i>	
	<i>L. reuteri</i>	
	<i>L. salivarius</i>	
	<i>L. fermentum</i>	
	<i>L. bulgaricus</i>	

Strain probiotik yang digunakan tidak menimbulkan efek toksik maupun patogenik, serta mampu bertahan pada kondisi saluran pencernaan yang ekstrem seperti asam lambung dan garam empedu. Selain itu, probiotik harus dapat menempel pada epitel usus sehingga dapat berkolonisasi, berkompetisi dengan mikroba lain, serta menghasilkan metabolit antimikroba seperti asam organik dan bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan patogen. Penelitian Maquine *et al* (2024), menyatakan bahwa pada isolat *Lactobacillus* dari usus itik memperlihatkan kemampuan bertahan pada kondisi gastrointestinal, aktivitas antagonis terhadap *Salmonella enterica* dan *Escherichia coli*, serta potensi meningkatkan respons imun sekaligus memperbaiki morfologi usus, yang berimplikasi pada peningkatan performa dan kesehatan unggas.

Probiotik berperan penting dalam meningkatkan efisiensi pencernaan dan penyerapan nutrisi pada unggas melalui stimulasi peristaltik usus serta aktivitas enzimatik yang lebih optimal. Selain itu, probiotik mampu bersaing dengan mikroba patogen untuk menempati permukaan epitel dan memanfaatkan nutrisi, sekaligus menghasilkan senyawa antimikroba yang menghambat pertumbuhan bakteri merugikan, sehingga mendukung stabilitas mikrobiota saluran pencernaan (Naeem dan Bourassa., 2025). Beberapa jenis probiotik juga berkontribusi dalam produksi metabolit menguntungkan, termasuk asam lemak rantai pendek, yang meningkatkan keseimbangan ekosistem mikroba usus. Dampak tambahan yang signifikan adalah pengurangan emisi amonia dari ekskreta, yang tidak hanya memperbaiki kualitas lingkungan kandang tetapi juga mendukung kesehatan mukosa dan fungsi usus ternak secara keseluruhan (Roni *et al.*, 2015).

Tabel 2. Mode Kerja Probiotik Untuk Mencapai Efek Menguntungkan Secara Keseluruhan (Naeem & Bourassa., 2025).

Mode Aksi	Deskripsi
Menurunkan pH	Probiotik bekerja dengan mengurangi pH usus, yang dicapai melalui produksi asam lemak volatil dan asam organik selama pemecahan produk probiotik. Kondisi pH rendah menghambat pertumbuhan organisme patogen, terutama di usus depan.
Pengecualian kompetitif	Probiotik dapat bersaing dengan bakteri patogen untuk memperoleh nutrisi, tempat perlekatan, mencegah kolonisasi dan proliferasinya.
Produksi senyawa antimikroba	Strain probiotik tertentu dapat menghasilkan berbagai senyawa antimikroba, seperti asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin, yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.
Modulasi kekebalan	Probiotik dapat merangsang sistem kekebalan inang, meningkatkan produksi senyawa antimikroba, meningkatkan aktivitas sel kekebalan, dan meningkatkan respons kekebalan yang kuat terhadap patogen.

Peningkatan fungsi penghalang usus	Probiotik dapat memperkuat penghalang usus, mengurangi permeabilitas usus dan mencegah translokasi bakteri patogen.
Modulasi mikrobioma usus	Probiotik dapat mempengaruhi komposisi dan keragaman komunitas mikroba usus, mendorong pertumbuhan bakteri menguntungkan dan mengecualikan kolonisasi mikroorganisme berbahaya.
Peningkatan pemanfaatan nutrisi	Probiotik dapat meningkatkan pencernaan dan penyerapan nutrisi, yang mengarah pada konversi pakan yang lebih efisien dan kinerja pertumbuhan yang lebih baik.

1.2.3 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu bakteri yang berkontribusi besar dalam dunia pangan. Penggunaan BAL secara luas dikarenakan dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen dalam menjaga kesehatan saluran pencernaan. BAL merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat hidup pada saluran pencernaan hewan dan manusia dan memiliki kemampuan sebagai antimikroba patogen (Tulasi *et al.*, 2014). BAL bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk *coccus* atau *bacil*, umumnya bersifat katalase negatif, dan membutuhkan suhu mesofilik. BAL dikelompokkan kedalam beberapa genus diantaranya *Streptococcus* (termasuk *Lactococcus*), *Leuconostoc*, *Pedococcus* dan, *Lactobacillus*. BAL merupakan mikroorganisme yang aman jika ditambahkan ke dalam pangan karena tidak bersifat toksin sehingga disebut *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak berisiko terhadap kesehatan (Viona, 2024).

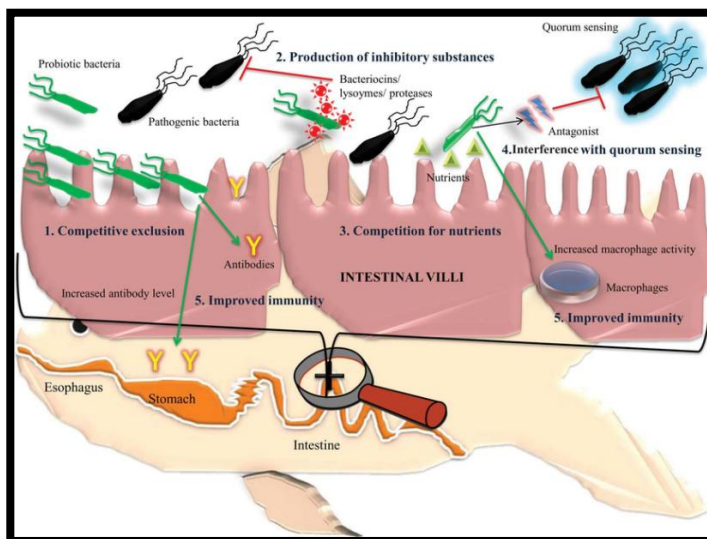
Pertumbuhan optimal sangat dipengaruhi oleh pH dan suhu. Setiap spesies bahkan strain dapat memiliki nilai pH dan suhu terbaik yang berbeda untuk pertumbuhan. Produksi asam laktat dan memerlukan nutrisi kompleks, seperti asam amino, peptida, vitamin, mineral, asam lemak, dan karbohidrat, dengan variasi kebutuhan yang bergantung pada strain dan komposisi medium pertumbuhan. BAL memfermentasi glukosa menjadi asam laktat sebagai produk utama melalui dua jalur metabolisme, yaitu homolaktik dan heterolaktik. Dalam jalur homolaktik, satu molekul glukosa dikonversi menjadi dua molekul asam laktat melalui proses glikolisis, yang menghasilkan dua molekul ATP. Sementara itu, pada jalur heterolaktik, satu molekul glukosa diubah menjadi asam laktat, etanol, dan karbon dioksida, serta menghasilkan satu molekul ATP. Aktivitas fermentatif BAL berperan penting dalam menurunkan pH lingkungan sekitar, sehingga menghambat proliferasi mikroba patogen sekaligus meningkatkan keamanan dan kualitas produk fermentasi (Wang *et al.*, 2021).

Karakteristik utama BAL sebagai bakteri probiotik (Ayivi *et al.*, 2020).

1. Memiliki resistensi terhadap asam dan garam empedu sehingga dapat mencapai intestinal dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin.
2. Kemampuannya menghasilkan substansi antimikroba sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik. jenis substansi antimikroba yang dihasilkan oleh BAL adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin
3. Tumbuh baik secara *in vitro*, memiliki stabilitas dan viabilitas yang tinggi saat dalam pengiriman dengan kendaraan, setelah kultur, manipulasi dan pengemasan sebelum dikonsumsi dan aman bagi manusia.

1.2.4 Mekanisme Kerja Probiotik

Berdasarkan penelitian McNaught & MacFie (2001), menyatakan bahwa mekanisme kerja probiotik dalam saluran pencernaan yaitu dengan berkompetisi terhadap makanan dan memproduksi zat antimikroba. Sistem hambat probiotik adalah dengan mengeblok bakteri patogenik dengan berkompetisi untuk memperoleh substrat sebagai bahan fermentasi. Substrat tersebut diperlukan probiotik agar mikroba dapat berkembang dengan baik melalui kolonisasi. Substrat bahan makanan tersebut dikenal dengan nama prebiotik. Prebiotik adalah substrat untuk probiotik yang terdiri dari bahan makanan berserat kasar. Sejumlah probiotik menghasilkan diperlukan untuk zat-zat membantu yang proses pencernaan substrat tersebut dalam bentuk enzim. Enzim tersebut dapat dihasilkan oleh mikroba-mikroba penghasil asam laktat dari spesies *Lactobacillus* yang menghasilkan enzim selulase. Enzim ini mampu memecah komponen serat kasar yang merupakan komponen yang sulit dicerna dalam saluran pencernaan ternak unggas.



Gambar 2. Mekanisme Kerja Probiotik (Zorriezahra *et al.*, 2016)

Mekanisme umum kerja probiotik (Zorriezahra *et al.*, 2016).

1. Kompetitif, organisme probiotik menjajah usus sehingga menghambat penjajahan bakteri patogen.
2. Organisme probiotik menghasilkan zat penghambat tertentu yang menghalangi organisme patogen.
3. Kompetisi untuk nutrisi, organisme probiotik memanfaatkan nutrisi sehingga menyebabkan nutrisi tidak tersedia bagi patogen.
4. Zat yang dihasilkan oleh probiotik berfungsi sebagai antagonis untuk mekanisme quorum sensing.
5. Peningkatan kekebalan, meningkatkan aktivitas makrofag dan kadar antibodi.

Penggunaan bahan pakan ternak saat ini kebanyakan berasal dari limbah industri atau limbah pertanian. Limbah ini pada umumnya mengandung serat kasar tinggi. Penggunaan probiotik yang mengandung bakteri penghasil enzim selulase dapat membantu memecah limbah yang digunakan sebagai pakan unggas. Efek pemecahan serat kasar yang dibantu enzim mengakibatkan pertumbuhan jaringan dan peningkatan pertambahan bobot badan. Probiotik yang mengandung bakteri *Bacteriocin lactacin B* dan *Acidolin*. *Bacteriocin lactacin B* dan *Acidolin* dapat mensekresikan produk anti mikrobial yang disebut *bacteriocin*. *Bacteriocin* bekerja dengan menghambat organisme patogen.

1.2.5 Manfaat Probiotik Pada Ternak

Saluran pencernaan unggas merupakan ekosistem mikrobiota yang dinamis dan sangat memengaruhi efisiensi pencernaan, kesehatan usus, dan pertumbuhan. Probiotik sebagai mikroorganisme hidup yang diberikan melalui pakan atau air dapat menyeimbangkan komposisi mikrobiota usus, memperkuat integritas epitel intestinal, dan menekan pertumbuhan patogen melalui kompetisi nutrisi atau produksi senyawa antimikroba. Dalam penelitian Chandra *et al* (2022), menyatakan bahwa pemakaian probiotik asam laktat *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *Lactococcus lactis*, dan *Bifidobacterium* sp. dengan konsentrasi $1,2 \times 10^8$ CFU/ml pada 48 itik menghasilkan peningkatan efisiensi pakan (feed efficiency) hingga 33,81 % pada perlakuan terbaik (P3) dibanding kontrol (P0) yang sebesar 30,84 %. Didukung oleh penelitian yang dilakukan Cao *et al* (2022) mengenai probiotik dalam pakan terhadap performa itik petelur umur 42-48 minggu yang diberi probiotik *Bacillus subtilis* dan *Clostridium butyricum* pada dosis 1-2 g/kg pakan menunjukkan peningkatan laju produksi telur dan berat telur lebih dibanding kelompok kontrol ($P < 0,05$).

Probiotik juga memengaruhi respon imun dan kesehatan usus unggas, yang kemudian berdampak pada penurunan kejadian penyakit dan mortalitas. Penelitian yang dilakukan oleh Halder *et al* (2024), menyatakan bahwa suplementasi multisrat probiotik (misalnya *S. cerevisiae*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *E. faecium*) meningkatkan performa, asupan pakan, dan kesehatan usus yang difokuskan pada tantangan infeksi *Pasteurella multocida*. Didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hashemitabar & Hosseinian (2024), yang menyatakan bahwa pemberian

Bacillus dan *Lactobacillus* melalui air minum selama paparan panas kronis memperbaiki kinerja pertumbuhan, menekan stres oksidatif (marker MDA turun), dan memperbaiki struktur usus (vili dan kedalaman kript) dibanding kontrol. Dengan kondisi unggas yang lebih sehat dan daya tahan lebih baik, peternak akan mengalami penurunan biaya pengobatan, berkurangnya angka kematian, sehingga keuntungan usaha akan meningkat. Dalam skala nasional, hal ini mendukung stabilitas produksi unggas sehingga memperkuat kontribusi sektor unggas terhadap perekonomian Indonesia.

Manfaat probiotik dalam menarik efisiensi dan kesehatan unggas memiliki implikasi yang signifikan terhadap struktur ekonomi sektor peternakan unggas di Indonesia. Dengan produksi daging dan telur itik yang lebih tinggi dan kualitas yang lebih baik peternak dapat memperoleh harga jual yang lebih baik. Selain itu, karena daging dan telur adalah salah satu sumber protein hewani utama di Indonesia, peningkatan produktivitas dan kualitas daging dan telur dari itik akan membantu menstabilkan pasokan dalam negeri dan memperkuat ekonomi lokal terutama usaha peternakan kecil dan menengah yang banyak bergantung pada telur itik sebagai sumber pendapatan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk yaitu :

1. Memperoleh isolat bakteri probiotik probiotik asal usus itik betina *Anas domesticus* dari pesisir Desa Sampulungan Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar.
2. Mengetahui karakteristik bakteri probiotik asal usus itik betina *Anas domesticus* dari pesisir Desa Sampulungan Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar.
3. Mengetahui kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah dapat memberikan informasi ilmiah mengenai karakteristik bakteri probiotik dari usus itik betina *Anas domesticus* yang berasal dari Pesisir Desa Sampulungan Kecamatan Galesong Utara Kabupaten.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

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

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat *glass* (berupa gelas kimia, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, *object glass*, batang pengaduk, corong, chamber, cawan petri, preparat), alat *non glass* (berupa rak tabung reaksi, pipet tetes, ose lurus, ose bulat, spoit, tabung sentrifuse, labu semprot, bunsen, gegep, skalpel, spatula, wadah plastik), dan alat instrument (berupa enkas, oven, mikroskop, inkubator, oven, timbangan digital, *hot plate*, autoklaf, *rotary shaker*, vortex, gelas objek, lemari pendingin).

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri probiotik dari usus itik betina *Anas domesticus* yang diambil dari Pesisir Desa Sampulungan Kecamatan Galesong Utara Kabupaten Takalar, media NA (*Nutrient Agar*) (MERCK), media selektif MRSB (*Mann Rogosa Sharpe Broth*) (OXOID), *Agar Bacteriological*, media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), media SIM (*Sulfide Indole Motility*), alkohol 70%, akuades, KOH 40%, alfa-naftol, *metuhl-red*, pewarnaan gram (Kristal Violet, Lugol, Alkohol-Aseton, dan Safranin), garam empedu sintetik (*ox bile*), HCl 0,1 N, minyak emersi, kapas, CaCO₃, *aluminium foil*, *cling wrap*, label dan plastik steril.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Dilakukan sterilisasi alat dan bahan sebelum memulai tahap pembuatan medium untuk membunuh atau menghilangkan mikroorganisme sehingga peralatan bebas kontaminan (Wulandari *et al.*, 2022). Terdapat tiga metode sterilisasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, sterilisasi metode panas kering, sterilisasi metode panas basah, dan sterilisasi metode panas membara.

- a. Sterilisasi metode panas kering, Oven pengering laboratorium merupakan peralatan yang digunakan dalam sterilisasi metode panas kering. Oven yang digunakan harus memiliki kipas yang terpasang di dalamnya dengan tujuan agar sirkulasi udara panas dapat berjalan dengan baik. Suhu oven yang digunakan untuk sterilisasi peralatan laboratorium dilakukan sekitar 130–180 °C selama 30 menit. Oven bekerja menggunakan proses konduksi panas dengan terlebih dahulu memanaskan permukaan bagian luar peralatan, kemudian menyerap panas dan memindahkannya ke bagian tengah alat tersebut (Wulandari *et al.*, 2022).
- b. Sterilisasi metode panas basah, autoklaf merupakan peralatan yang digunakan dalam sterilisasi metode panas basah dengan uap air di bawah tekanan. Metode ini digunakan terutama untuk sterilisasi media, cairan dan peralatan laboratorium. Suhu autoklaf yang digunakan pada suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit (Wulandari *et al.*, 2022).
- c. Sterilisasi metode panas membara, dilakukan untuk peralatan yang terbuat dari logam dengan menggunakan api bunsen. Peralatan tersebut seperti pinset, skalpel, dan ose. Peralatan yang akan disterilisasikan berada di atas nyala api bunsen hingga merah membara (Wulandari *et al.*, 2022).

2.3.2 Pembuatan Media

Terdapat beberapa media kultur digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

2.3.2.1 MRSA (*de Mann Rogosa Sharpe Agar*)

Digunakan 8,3 g MRSB yang telah ditambahkan *agar bacteriological* sebanyak 3 g dan CaCO_3 1% sebanyak 0,5 g ke dalam erlenmeyer lalu dilarutkan dengan 150 mL akuades. Selanjutnya larutan ditutup dengan kapas di bagian mulut erlenmeyer lalu dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan *hot plate*. Dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.2.2 MRSB (*de Mann Rogosa Sharpe Broth*)

Digunakan 8,3 g MRSB lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 150 mL akuades. Selanjutnya larutan ditutup dengan kapas di bagian mulut erlenmeyer lalu dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan *hot plate*. Dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.2.3 NA (*Nutrient Agar*)

Digunakan 2 g NA lalu dilarutkan dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan dihomogenkan. Setelah itu, dimasukkan larutan ke dalam erlenmeyer lalu ditutup dengan aluminium foil bagian mulut Erlenmeyer. Dilakukan

sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.2.4 TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Digunakan 6,5 g TSIA lalu dilarutkan dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan dihomogenkan. Setelah itu, media dimasukkan ke dalam beberapa tabung reaksi yang masing-masing berisi 7 mL. Dilakukan sterilisasi metode panas basah menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.2.5 SIM (*Sulfide Indole Motility*)

Digunakan 3 g SIM lalu dilarutkan dalam 100 mL akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan dihomogenkan. Setelah itu, media dimasukkan ke dalam beberapa tabung reaksi yang masing-masing berisi 7 mL. Dilakukan sterilisasi metode panas basah menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.3 Pengambilan Sampel Itik Betina *Anas domesticus*

Dilakukan pengambilan sampel itik betina *Anas domesticus* yang diperoleh dari pesisir Desa Sampulungan, Kecamatan Galesong Utara, Kabupaten Takalar dengan pemeliharaan semi intensif dan tidak terkena penyakit. 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

Dilakukan isolasi sampel itik betina *Anas domesticus* yang telah dibelah untuk diambil bagian ususnya dan dibersihkan menggunakan akuades. Usus itik dipotong secara membujur menjadi dua bagian. Kemudian bagian dinding usus dikerok menggunakan skalpel steril. Hasil kerokan dimasukkan ke dalam larutan akuades steril, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat (10^{-1} hingga 10^{-8}). Lalu diinokulasikan pada media MRSA yang 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 di sekitar koloni pada media.

2.3.5 Pemurnian Bakteri Probiotik

Dilakukan pemurnian bakteri dengan memilih koloni yang disekitarnya terdapat zona bening lalu diinokulasikan pada media MRSA yang ditambahkan

CaCO₃ 1% dengan metode *quadrant streak* untuk memperoleh koloni murni. Lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Tahap pemurnian diulang hingga diperoleh koloni yang benar-benar murni.

2.3.6 Pembuatan Stok Isolat Bakteri Probiotik

Dilakukan pembuatan stok isolat dengan mengambil koloni murni yang tumbuh pada media MRSA yang ditambahkan CaCO₃ 1% kemudian diinokulasikan pada media miring MRSA yang ditambahkan CaCO₃ 1% sebagai stok isolat untuk pengujian selanjutnya.

2.3.7 Pengamatan Morfologi Bakteri Probiotik

2.3.7.1 Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri

Dilakukan pengamatan morfologi koloni bakteri secara langsung dibawah mikroskop stereo dengan perbesaran 1000. Dengan mengamati bentuk koloni (*shape*), tepi (*margin*), warna (*colour*), dan permukaan koloni (*elevation*).

2.3.7.2 Pengamatan Morfologi Sel Bakteri (Pewarnaan Gram)

Dilakukan pengamatan morfologi sel bakteri melalui proses pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan melalui beberapa tahapan. Pertama, dibuat ulasan bakteri pada permukaan kaca preparat lalu dilakukan proses fiksasi. Selanjutnya, ditetaskan 2-3 tetes gram A (kristal violet) pada ulasan bakteri yang ada di permukaan preparat dan didiamkan selama 60 detik, lalu dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Setelah itu ditetaskan 2-3 tetes gram B (larutan lugol) pada ulasan bakteri, didiamkan selama 60 detik, lalu dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya, ditetaskan 2-3 tetes gram C (larutan alkohol), didiamkan selama 30 detik, lalu dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Lalu ditetaskan 2-3 tetes gram D (larutan safranin) pada ulasan bakteri, didiamkan selama 30 detik, kemudian dicuci menggunakan air mengalir dan dibersihkan. Terakhir, ditetaskan minyak emersi untuk memperjelas bentuk morfologi di bawah mikroskop dan dikeringkan, dan selanjutnya diamati dibawah mikroskop. 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

Dilakukan inokulasi 1 ose isolat dari stok kultur pada media MRSB dan diinkubasi pada suhu 15 °C, 37 °C, dan 45 °C selama 2 × 24 jam. Hasil positif apabila terjadi pertumbuhan bakteri pada media dan hasil negatif apabila tidak terjadi

pertumbuhan bakteri pada media. Adanya pertumbuhan ditunjukkan oleh media yang menjadi keruh.

2.3.8.2 Uji Ketahanan Terhadap Asam Lambung (pH)

Dilakukan inokulasi sebanyak 1 ose pada masing-masing isolat dari stok kultur pada media MRSB dengan penambahan HCL 0,1 N untuk memperoleh pH 2,5–3 sesuai dengan pH lambung dan diinkubasi 37 °C selama 2 × 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna media MRSB menjadi keruh.

2.3.8.3 Uji Ketahanan Terhadap Garam Empedu

Dilakukan penambahan garam sintetik *ox bile* dengan konsentrasi 1% dan 5% pada media MRSB. Kemudian diinokulasikan sebanyak 1 ose bakteri yang diambil dari stok kultur pada media MRSB, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 × 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan pada tabung reaksi dan perubahan warna media MRSB menjadi keruh.

2.3.9 Uji Biokimia Bakteri Probiotik

2.3.9.1 Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Dilakukan inokulasi 1 ose isolat dari stok kultur media TSIA dengan metode tusuk pada bagian *butt* dan metode gores pada bagian *slant*, lalu diinkubasi 37 °C selama 2 × 24 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 SIM (*Sulfide Indole Motility*)

Dilakukan inokulasi isolat dari stok kultur pada media SIM dengan metode tusuk tegak, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 × 24 jam. Pertumbuhan menyebar menandakan mikroba pada isolat bakteri bersifat motil, sedangkan pertumbuhan terbatas menandakan non-motil.

2.3.9.3 Uji Katalase

Dilakukan inokulasi sebanyak 1 ose setiap isolat bakteri yang diambil dari stok kultur pada kaca preparat dan ditetesi reagen H₂O₂ (Hidrogen peroksida). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya gelembung gas yang terbentuk, sedangkan hasil negatif ketika tidak terbentuk gelembung gas.

2.3.10 Pengukuran Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri

Dilakukan dengan mengukur kekeruhan kultur isolat bakteri menggunakan spektrofotometer dengan melihat nilai *optical density* (OD) absorbansi $\lambda = 580 \text{ nm}$. Pengukuran dilakukan setiap interval waktu 2 jam selama 2×24 jam.

2.3.11 Uji Daya Hambat 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 terlebih dahulu pada media NA miring menggunakan teknik gores, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2×24 jam. Setelah itu dibuat suspensi bakteri dibuat dalam NaCl fisiologis steril yang diinokulasikan dari isolat bakteri uji yang telah diremajakan, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex.

2.3.11.2 Penyiapan Kultur Probiotik

Dilakukan inokulasi isolat bakteri probiotik dari stok kultur pada media MRSB 50 mL, lalu dishaker pada kecepatan 120 rpm selama 2×24 jam.

2.3.11.3 Uji Antibakteri

Dilakukan uji antibakteri dengan melakukan sentrifugasi pada kultur bakteri probiotik untuk memperoleh supernatan. Kemudian suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan kekeruhan 25% T diinokulasikan pada media NA masing-masing sebanyak 1 mL dengan metode tuang, dan ditunggu hingga memadat. *Blank disk* steril yang telah direndam supernatan probiotik dan *ciprofloxacin* (kontrol positif) selama 30 menit diletakkan di atas media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan 48 jam. Diameter zona hambat diukur dalam milimeter menggunakan jangka sorong.

2.4 Analisis Data

Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif dalam bentuk gambar maupun tabel. Hasil analisis dilakukan dengan menampilkan hasil isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat 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 *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.