

**ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI USUS IKAN
BAWAL AIR TAWAR (*Colossoma macropomum*) SEBAGAI
POTENSI PENGHASIL ANTIBIOTIK UNTUK BAKTERI
Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains dalam Ilmu Biologi



Diajukan oleh :

DWI LUSTIANAH

NIM : 2008016004

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2024**

**ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI USUS IKAN
BAWAL AIR TAWAR (*Colossoma macropomum*) SEBAGAI
POTENSI PENGHASIL ANTIBIOTIK UNTUK BAKTERI
Escherichia coli DAN *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Diajukan Oleh :
DWI LUSTIANAH
NIM : 2008016004**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2024**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Dwi Lustianah

NIM : 2008016004

Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus Ikan Bawal (*Colossoma macropomum*) Sebagai Potensi Penghasil Antibiotik Untuk Bakteri *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*.

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, April 2024

Pernyataan,



Dwi Lustianah

NIM : 2008016004



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang
Telp.024-7601295 Fax.7615387

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Ikan Bawal Air Tawar
(*Colo.ssooma macropomum*) Sebagai Potensi Penghasil
Antibiotik untuk Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus*
aureus

Penulis : **Dwi Lustianah**

NIM : 2008016004

Jurusan : Biologi

Telah diujikan dalam sidang *tugas akhir* oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam Ilmu Biologi.

Semarang, 24 Juni 2024

DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang,

Sekretaris Sidang


Andang Syaifudin, M. Sc
NIP : 198907192019031010


Galih Kholifatun Nisa, M. Sc
NIP : 199006132019032018

Penguji I

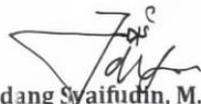
Penguji II

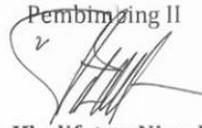

Tara Puri Ducha Rahmani, M.Sc
NIP : 198806132019032011


Hafidha Asni Akmalia, M.Sc
NIP : 198908212019032013

Pembimbing I

Pembimbing II


Andang Syaifudin, M. Sc
NIP : 198907192019031010


Galih Kholifatun Nisa, M.Sc
NIP : 199006132019032018

NOTA DINAS

Semarang, Juni 2024

Yth. Ketua Program Studi Biologi

Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr:wb

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan :

Judul : Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Usus Ikan Bawal (*Colossoma macropomum*) Sebagai Potensi Penghasil Antibiotik Untuk Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Nama : Dwi Lustianah

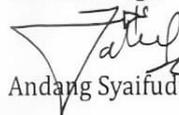
NIM : 2008016004

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diajukan dalam sidang Munaqosyah.

Wassalamu'alaikum wr:wb

Pembimbing1,



Andang Syaifudin, M.Sc.

NIP. 198907192019031010

NOTA DINAS

Semarang, Juni 2024

Yth. Ketua Program Studi Biologi

Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr.wb

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan :

Judul : Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Usus Ikan Bawal (*Colossoma macropomum*) Sebagai Potensi Penghasil Antibiotik Untuk Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Nama : Dwi Lustianah

NIM : 2008016004

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diajukan dalam sidang Munaqosyah.

Wassalamu'alaikum wr.wb

Pembimbing I,



Galih Kholifatun Nisa, M.Sc.

NIP. 199006132019032018

ABSTRAK

Resistensi terhadap antibiotik semakin meningkat saat ini. Bakteri patogen telah menunjukkan resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik saat ini. Sehingga, penting untuk menemukan sumber alami antibiotik baru yang memiliki potensi antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri asam laktat (BAL) dari usus ikan dan untuk mengetahui potensi kemampuan BAL untuk menghasilkan antibiotik terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. sp. Isolasi BAL dilakukan dalam medium MRSA dan metode difusi cakram digunakan untuk mengetahui apakah isolat BAL mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *Escherichia coli*. Isolat yang didapatkan selanjutnya dikarakterisasi morfologi dan biokimianya. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh lima isolat BAL yaitu B1, B2, B3, B4, dan B5. Isolat B1, B2, B3, B4, dan B5 mampu menghambat *Escherichia coli* yaitu sebesar 8.28 mm, 8.12 mm, 7.77 mm, 7.47 mm, dan 8.16 mm. Isolat BAL yang diperoleh juga dapat menghambat *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 8.14 mm, 7.38 mm, 5.25 mm, 7.98 mm, dan 8.35 mm. Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa BAL yang didapat dari hasil isolasi usus ikan bawal dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan kategori sedang.

Kata Kunci : Antibakteri, Antibiotik, BAL, Ikan Bawal.

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT. yang telah melimpahkan berkat dan rahmatnya kepada hamba-Nya. Sholawat dan salam semoga senantiasa tetap tercurahkan kepada junjungan Nabi Agung Muhammad SAW sampai saat ini sehingga penulis dapat menulis skripsi ini dengan judul “ **Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*) Sebagai Penghasil Antibiotik Untuk Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus***” guna memenuhi salah satu syarat kelulusan Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Shalawat serta salam tak lupa selalu penulis haturkan kepada baginda Rasulullah SAW berkat limpahan rahmat-Nya penulis mampu menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak baik dalam ide, kritik, saran maupun bentuk lainnya. Oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terimakasih sebagai penghargaan atau peran sertanya dalam penyusunan skripsi ini kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Nizar, M.Ag. selaku Rektor UIN Walisongo Semarang.

2. Bapak Dr. Musahadi, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.
3. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M.Sc. selaku Ketua Jurusan Biologi UIN Walisongo Semarang.
4. Kedua Orang Tua yang sangat saya cintai, Bapak Misno dan Ibu Lutfiyah, saudara-saudara saya Moh. Rifaldi, Nanda Tri Buana, Dinda Kania Citra dan Laelatus Safna serta seluruh keluarga besar tercinta yang senantiasa memberikan semangat dan dukungan secara moril dan materiil sehingga skripsi ini bisa terselesaikan dengan baik.
5. Bapak Andang Syaifudin M.Sc. selaku Dosen Pembimbing I yang telah banyak berperan dengan meluangkan waktunya yang sangat berharga semata-mata demi mengarahkan dan membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini.
6. Ibu Galih Kholifatun Nisa, M.Sc. selaku dosen Pembimbing II yang telah banyak berperan dengan meluangkan waktunya yang sangat berharga semata-mata demi mengarahkan dan membimbing penulis dalam penulisan skripsi ini.
7. Bapak Dr. Ling. Rusmadi selaku Dosen Wali yang senantiasa membimbing dan memberikan arahan sejak semester awal hingga saat ini.

8. Segenap Dosen Fakultas Sains dan Teknologi yang telah banyak memberikan ilmunya kepada penulis dan senantiasa mengarahkan serta memberikan motivasi selama penulis melaksanakan perkuliahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Shafa, Izza, Ikha yang telah memberikan dukungan serta motivasi kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi dengan baik.
10. Permata, Hayyi, Anida yang telah memberikan dukungan dan motivasi serta telah membersamai penulis dari saat magang hingga riset penelitian ini
11. Lintas, Riyani, Aeni, Umay, Laznah yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada penulis.
12. Teman - teman saya Lina, Syifa, Farda, Fajar, Luluk yang telah memberikan semangat dan dukungan peneliti dalam melakukan penelitian ini.
13. Teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 2020, yang telah menemani penulis sampai saat ini serta telah membirikan semangat dan motivasi kepada penulis.
14. Seluruh pihak yang turut serta dalam penyelesaian skripsi ini, namun tidak bisa disebutkan secara detail satu per satu.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan kesalahan dalam penulisan skripsi ini. Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun, dengan harapan skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembacanya.

Semarang, 14 Juni 2024

Dwi Lustianah

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN	ii
NOTA DINAS.....	iii
ABSTRAK.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	9
C. Tujuan	10
D. Manfaat.....	10
BAB II LANDASAN PUSTAKA	
A. Kajian Teori	
1. Ikan Bawal Air Tawar.....	12
2. Isolasi Bakteri	16
3. Bakteri Asam Laktat.....	17
4. Antibiotik.....	20
5. Resistensi Antibiotik.....	26
6. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	29
7. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	31
B. Kajian Penelitian yang Relevan.....	37
C. Kerangka Berpikir	51

BAB III METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian	52
B. Alat dan Bahan	53
C. Tahap Penelitian	53
D. Alur Penelitian.....	63

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Isolasi Bakteri Asam Laktat.....	64
2. Karakterisasi BAL dari Usus Ikan Bawal.....	66
3. Aktivitas Antibakteri Isolat BAL terhadap Bakteri Patogen	71
4. Resistensi Isolat BAL terhadap Antibiotik	73

B. Pembahasan

1. Isolasi Bakteri Asam Laktat.....	75
2. Karakterisasi BAL dari Usus Ikan Bawal.....	76
3. Aktivitas Antibakteri Isolat BAL terhadap Bakteri Patogen	90
4. Resistensi Isolat BAL terhadap Antibiotik	94

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan	96
B. Saran.....	97

DAFTAR PUSTAKA

98

LAMPIRAN.....

108

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Kajian Penelitian yang Relevan.....	37
Tabel 3.1. Kategori Zona Hambat terhadap Pertumbuhan Bakteri	61
Tabel 3.2. Diameter Zona Hambat beberapa Antibiotik.....	62
Tabel 4.1.Karakteristik Isolat BAL dari Usus Ikan Bawal.....	66
Tabel 4.2. Hasil Pengukuran Zona Hambat Bakteri.....	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Ikan Bawal Air Tawar.....	13
Gambar 2.2. Isolat Bakteri Asam Laktat	19
Gambar 2.3. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	30
Gambar 2.4. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Gambar 2.5 Kerangka Berpikir	51
Gambar 3.1 Lokasi Budidaya Ikan Air Tawar Bunda Nur	52
Gambar 3.2 Skema Anatomi Ikan Bawal.....	52
Gambar 3.3 Karakteristik Koloni Bakteri	54
Gambar 3.4 Karakteristik Sel Bakteri	55
Gambar 4.1 Hasil Pengenceran Sampel	64
Gambar 4.2. Hasil Purifikasi Sampel	65
Gambar 4.3. Hasil Pewarnaan Gram.....	66
Gambar 4.4. Hasil Uji TSIA.....	67
Gambar 4.4. Hasil Uji Motilitas	67
Gambar 4.5. Hasil Uji Katalase.....	68
Gambar 4.5. Hasil Uji Hidrolisis Gelatin.....	68
Gambar 4.6. Hasil Uji SCA	69
Gambar 4.7. Hasil Uji Antagonis.....	72

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Resistensi terhadap antibiotik semakin bertambah di dunia medis saat ini, yang menyebabkan masalah besar dalam bidang kesehatan masyarakat. Bakteri *S.aureus* dan *E. coli* telah menunjukkan resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik (Septiyawati F., 2020). Sehingga, sangat penting untuk menemukan sumber alami antibiotik baru yang memiliki potensi antibakteri.

Bakteri resisten terhadap antibiotik sudah menjadi kasus serius secara global. Terdapat lebih dari 400 ribu kasus baru TB-MDR (*Tuberculosis-Multi Drug Resistance*) ditemukan setiap tahunnya yang mengakibatkan 150 ribu kematian di seluruh dunia (WHO, 2011). Bakteri yang resisten terhadap berbagai jenis infeksi telah mengakibatkan kematian kurang lebih 25 ribu jiwa di Eropa. Menurut CDC (2015), kurang lebih setiap tahun terdapat dua juta orang di Amerika terinfeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik, dan sekitar 23.000 orang diantaranya meninggal akibat infeksi tersebut. Berdasarkan hasil penelitian pola bakteri serta resistensinya terhadap antibiotik tahun 2016 di RSUD NTB terdapat 37 bakteri yang berhasil diidentifikasi, dan

5 diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* dan 1 isolat teridentifikasi resisten terhadap clindamycin, vancomycin dan oxacilin dan dapat dikategorikan sebagai MRSA (*Methicillin Resisten Staphilococcus Aureus*) (Muttaqin *et al.*, 2016).

Ikan bawal dipilih sebagai subjek penelitian karena mempunyai sistem pencernaan yang kompleks dan pada usus ikan bawal air tawar mengandung bakteri asam laktat dimana belum ada yang menguji aktivitas antibakterinya untuk digunakan sebagai antibiotik. Sementara penggunaan antibiotik yang berlebihan dalam industri perikanan telah menyebabkan resistensi terhadap antibiotik, penggunaan alternatif alami seperti isolasi BAL dari usus ikan bawal merupakan cara yang aman dan ramah lingkungan untuk mengatasi masalah resistensi bakteri.

Ikan bawal adalah ikan air tawar terbesar dalam kelompok ikan neotropis (Anggraini *et al.*, 2019). Ikan bawal tumbuh relatif cepat daripada sebagian ikan air tawar lainnya karena ikan bawal memiliki sifat genetik yang mendorong pertumbuhan yang cepat. Ikan bawal memiliki potensi genetik yang bagus dalam hal pertumbuhan dan reproduksi. Bawal pada awalnya dikenal sebagai ikan hias oleh masyarakat dan

diperdagangkan di pusat-pusat penjualan ikan hias. Ikan bawal mempunyai kelebihan yaitu pertumbuhannya cepat dan tidak membutuhkan banyak protein untuk tumbuh yakni dengan kandungan protein 25% pada pakan sudah mampu untuk mendukung pertumbuhannya (Taufiq et al., 2016)

Bakteri terdapat pada bagian luar tubuh dan saluran pencernaan ikan (Yulvizar, 2013). Diperkirakan ada 1.012 bakteri per gram di saluran pencernaan manusia dan hewan, sedikitnya terdapat 500 jenis bakteri, yang mayoritas adalah BAL (Bukhori,A.,2018). BAL secara alami menghasilkan antimikroba dan antibakteri. Sehingga, isolasi BAL dari senyawa usus ikan bawal dapat memberikan peluang besar untuk mencari antibiotik alternatif untuk melawan *S. aureus* dan *E. coli*.

Berdasarkan studi yang dilakukan Irwansyah *et al* (2018) & Wulaningtyas R..*et al.* (2023) menyatakan bahwa terdapat bakteri probiotik yang dapat di isolasi dari pencernaan ikan bawal bintang dan ikan air tawar terdapat jenis BAL dari genus *Lactobacillus* dan *Enterococcus* sp.

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang tidak memiliki spora dan merupakan kelompok bakteri gram positif berbentuk kokus atau basil. Selama fermentasi

karbohidrat atau gula, BAL menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir (Hasanah *et al.* 2014). Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang biasanya memenuhi status GRAS (*Generally Recognized As Safe*) yang berarti aman apabila dikonsumsi, sehingga dapat digunakan untuk sediaan probiotik. Asam laktat pada sistem pencernaan manusia memiliki fungsi utama untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Ridha *et al.*, 2016).

Bakteri asam laktat sering dimanfaatkan sebagai probiotik karena sebagian besar strainnya tidak bersifat patogen dan beberapa strain bahkan telah mendapat status *Generally Recognized As Safe* (GRAS) dari *Food & Drugs Administration* (FDA) (Taufik *et al.*, 2016). Selain itu, probiotik dapat bertahan hidup di saluran pencernaan sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit sehingga dapat digunakan untuk menjaga kesehatan fisik. Probiotik dapat berfungsi sebagai peningkat kekebalan tubuh dan merangsang sistem kekebalan tubuh inang (Lazado *et al.*, 2014). Terdapat sejumlah strain BAL yang memiliki kemampuan sebagai probiotik, yaitu *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Desmonda, B.A, 2023).

Bakteri tidak hanya bermanfaat bagi manusia seperti BAL, tetapi sebagian spesies juga dapat

berbahaya untuk manusia seperti menyebabkan penyakit. Beberapa bakteri patogen yaitu *S. aureus* dan *E. coli*. Bakteri *Escherichia coli* mudah menyebar melalui kontaminasi air dan bahan-bahan yang berkaitan dengannya seperti makanan atau alat-alat yang sudah terkontaminasi bakteri tersebut. Bakteri *Escherichia coli* memicu gangguan pencernaan dan mengganggu sistem kerja organ lambung (Ummamie, *et al.* 2017). Bakteri *S. aureus* merupakan salah satu mikroorganisme patogen yang dapat mengakibatkan keracunan makanan (Mohd Yusof AM *et al.* 2018). Kontaminasi *Staphylococcus aureus* terjadi melalui sanitasi yang buruk yang dapat mengakibatkan infeksi kulit dan infeksi luka (Yuwono, 2012).

Allah SWT mengingatkan pada segala yang diciptakan-Nya di bumi, yakni berbagai ciptaan yang menakjubkan dan bervariasi, termasuk hewan (mahluk hidup), mineral, tumbuhan, dan benda-benda lain dengan berbagai warna dan bentuk yang masing-masing mempunyai keunggulan dan karakteristik yang unik. Sebagaimana firman Allah SWT. dalam Al-Qur'an QS al Furqan/25:2, berbunyi:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي
 الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya : “ Milik-Nya-lah kerajaan langit dan bumi. Dia tidak mempunyai anak dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan. Dia telah menciptakan segala sesuatu dan menentukan ukurannya dengan sangat teliti.” (Kementerian Agama, RI., 2012: 269).

Berdasarkan Tafsir Ibnu Katsir, ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah swt. berfirman bahwa Dia-lah yang Maha Esa, satu-satunya tempat bergantung, tanpa tandingan atau sekutu. Segala sesuatu yang diciptakan –Nya diberi perlengkapan dan persiapan sesuai dengan naluri, sifat, dan fungsinya masing-masing dalam kehidupan. Hanya Dia-lah sebaik-baiknya pengatur, dan tidak ada yang dapat mengganggu atau menandingi-Nya. (Damayanti, I., 2019).

Berdasarkan QS al Furqan/25:2 dijelaskan bahwa Allah menciptakan beragam jenis makhluk hidup, mulai dari yang dapat dilihat sampai yang tidak dapat dilihat dengan kasat mata. Contohnya yaitu mikroorganisme yang dapat digunakan untuk megubah sesuatu agar dapat bermanfaat. Hal tersebut menunjukkan kekuasaan Allah yang sangat menakjubkan dalam menciptakan apa pun

yang dikehendaki-Nya. Segala sesuatu yang Allah SWT ciptakan tidak ada yang sia-sia, karena setiap ciptaan mempunyai manfaatnya tergantung pada cara manusia mengolahnya.

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan hasil positif terkait potensi BAL sebagai penghasil antibiotik terhadap bakteri. Namun demikian, penelitian tentang potensi BAL dari usus ikan bawal sebagai penghasil antibiotik terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi baru dalam bidang penemuan antibakterial alami. Melalui kajian lebih dalam terkait BAL yang ada dalam usus ikan bawal air tawar, diharapkan dapat menemukan sumber daya alami yang memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi antibiotik alternatif yang efektif. Hal ini akan membantu mengurangi ketergantungan pada antibiotik sintetis dan meminimalkan risiko resistensi bakteri yang semakin meningkat.

Pada penelitian Bukhari, A. (2018) menunjukkan hasil penelitian bahwa diperoleh 2 jenis kandidat BAL yang diisolasi dari pencernaan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan masing-masing kode Sp₁ dan Sp₂. Kedua isolat BAL dapat menghambat *S. aureus* dan *Shigella sp.* Sp₂

memiliki zona hambat terbesar dalam menghambat bakteri *S. aureus* dan *Shigella* sp. yaitu sebesar 8.75 mm dan 7.16 mm.

Perbedaan yang melatarbelakangi peneliti dalam mengambil penelitian ini adalah perbedaan sampel, bakteri uji, dan uji yang dilakukan berbeda. Pada penelitian yang dilakukan oleh Bukhari, A. (2018) menggunakan sampel ikan Nila, sedangkan pada penelitian ini peneliti menggunakan sampel ikan bawal air tawar. Pada penelitian ini digunakan dua jenis bakteri uji yaitu bakteri *Escherichia coli coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian Bukhari, A. (2018) bakteri uji yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Shigella* sp. Penelitian sebelumnya menggunakan 4 uji biokimia sedangkan pada penelitian ini peneliti menggunakan 7 uji biokimia seperti uji katalase, motilitas, TSIA, simmons sitrate, hidrolisis gelatin, dan uji MR-VP.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri asam laktat (BAL) dari usus ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) dan mengevaluasi kemampuan BAL untuk menghasilkan antibiotik terhadap *Escherichia coli* dan *S. aureus*. Bakteri asam laktat telah diketahui mempunyai kemampuan untuk menghasilkan senyawa antimikroba. Dengan

mengisolasi BAL dari usus ikan bawal air tawar, diharapkan dapat ditemukan alternatif pengobatan baru untuk melawan bakteri yang semakin resisten terhadap antibiotik.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus ikan bawal air tawar mampu menghasilkan antibiotik yang menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?
2. Berapakah daya hambat bakteri asam laktat yang diisolasi dari ikan bawal air tawar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui bakteri asam laktat dari usus ikan bawal air tawar yang berpotensi menghasilkan antibiotik yang menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Mengukur daya hambat bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus ikan bawal air tawar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat untuk pihak-pihak yang membutuhkannya, baik itu secara teoritis maupun praktis, diantaranya yaitu :

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dalam bidang biologi dan medis. Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan alternatif pengembangan antibiotik baru untuk mengatasi bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat berguna sebagai berikut :

- a. Bagi penulis dapat menambah wawasan dan kesempatan untuk mengembangkan keterampilan penelitian, seperti teknik isolasi bakteri, analisis mikrobiologi dan karakteristik senyawa antibiotik. Keterampilan ini dapat berguna dalam karir penelitian atau di bidang industri yang terkait.
- b. Bagi masyarakat, dalam pengembangan antibiotik baru yang efektif membantu meningkatkan kesehatan masyarakat secara keseluruhan. Dengan memiliki antibiotik yang efektif terhadap

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus*, dapat mengurangi dampak negatif infeksi bakteri pada manusia dan meningkatkan tingkat kesembuhan.

- c. Bagi peneliti selanjutnya akan mendapatkan pemahaman yang lebih mendalam tentang karakteristik dan potensi penghasilan antibiotik dari BAL yang diisolasi dari usus ikan bawal air tawar. Hal ini akan membantu memperluas pengetahuan tentang mikroorganisme dan potensi pengobatan infeksi bakteri.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*)

Ikan bawal (*Colossoma macropomum*) merupakan ikan air tawar yang populer dan salah satu komoditas unggulan di Indonesia dan mempunyai peluang pengembangan yang baik. Ikan bawal memiliki kelebihan yaitu pertumbuhannya yang cepat dan proses produksi yang lebih singkat, serta merupakan ikan yang kebal terhadap penyakit (Sofnia, E. 2022).

Ikan bawal (*Colossoma macropomum*) merupakan ikan konsumsi yang memiliki ketahanan terhadap penyakit, mudah berkembang biak, dan bernilai ekonomi tinggi (Wijaya, C *et al*, 2023). Ikan bawal air tawar memiliki nafsu makan yang besar dan hanya membutuhkan sedikit protein dalam makanannya. Kandungan protein sebesar 25% pada pakan sudah dapat menunjang pertumbuhan ikan bawal (Taufiq *et al*. 2016). Beragamnya manfaat bawal air tawar menjadikan ikan ini sebagai bahan baku yang potensial untuk dikembangkan.



Gambar 2.1. Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*)

(Sumber : Kurniasih D.S, 2015)

Tubuh ikan bawal berbentuk oval dengan perbandingan panjang dan tinggi 2:1. Saat dilihat dari sisi vertikal, tubuh bawal berbentuk pipih dengan perbandingan tinggi dan lebar 4:1. Bentuk tubuh seperti ini menandakan bawal tidak mempunyai gerakan cepat seperti lele atau ikan mas, tetapi gerakannya lebih lambat seperti ikan gurami. Sisiknya berbentuk ctenoid, di mana beberapa sisik bagian belakang menutupi sisik bagian depannya. Bagian atas tubuh berwarna abu-abu tua, sementara bagian bawah sirip ekornya berwarna merah. Warna merah ini menjadi karakteristik khas dari ikan bawal, sehingga orang Inggris dan Amerika menyebutnya *Red bally Pacu*. Kepala ikan bawal relatif kecil dibandingkan dengan tubuhnya, dan mulutnya terletak di ujung kepala dengan sedikit mengarah ke atas (Ambar, 2014).

Ikan bawal mempunyai mata kecil berbentuk cincin. Rahangnya pendek dan kokoh dengan gigi seri yang tajam. Ikan bawal mempunyai 5 sirip yaitu, sirip punggung, sirip dada, sirip perut, sirip anus, dan sirip ekor. Sirip punggung ikan bawal mempunyai jari-jari pendek dan lemah. Pada bawal laut, sirip punggungnya cenderung lebih panjang, sementara pada bawal air tawar, sirip punggungnya agak condong ke belakang. Sirip dada, sirip perut, dan sirip anusya juga mempunyai ukuran kecil dengan jari-jari lemah. Demikian pula dengan jari-jari sirip ekor yang lemah tetapi berbentuk cagak.. (Ambar, 2014).

Klasifikasi Ikan Bawal air tawar (*Colossomam macropomum*) menurut (ITIS, 2023) adalah sbb :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Craniata
Class	: Teleostei
Ordo	: Characiformes
Family	: Characidea
Genus	: <i>Colossoma</i>
Spesies	: <i>Colossoma macropomum</i>

Ikan Bawal tidak membutuhkan banyak kondisi air untuk hidup. Bawal mempunyai tingkat kelangsungan

hidup yang tinggi terhadap kondisi lingkungan. Meskipun bawal dapat bertahan hidup pada kondisi air yang buruk atau kotor, pertumbuhan ikan yang normal dan optimal akan terdorong jika kualitas air tempat pemeliharaan bawal tetap jernih dan bersih, seperti halnya di daerah asal bawal. Selain kondisi air, pakan juga sangat berpengaruh pada pertumbuhan ikan (Sivina *et al.* 2023).

Pakan adalah faktor paling penting karena merupakan sumber energi untuk pemeliharaan, pertumbuhan tubuh dan reproduksi ikan. Pakan yang diberikan harus dapat memenuhi kebutuhan nutrisi ikan yang diharapkan, baik kuantitas maupun kualitas proteinnya. Kualitas pakan dipengaruhi oleh kandungan nutrisi seperti karbohidrat, lemak, protein, vitamin dan mineral. Pakan yang diberikan pada ikan diharapkan dapat mempertahankan berat rata rata, mempunyai kandungan protein yang tinggi, dan mempunyai efisiensi pakan yang tinggi. (Putranti, G. P. 2015).

Cara yang umum dilakukan oleh petani bawal air tawar komersial untuk meningkatkan produktivitas dan reproduksi ikan adalah dengan memberikan pelet dengan kandungan protein 30-40%. Pakan yang diberikan yaitu

berkisar antara 3-5% dari bobot badan populasi per hari (Silvia *et al.*, 2023).

Pakan memiliki pengaruh signifikan pada pencernaan ikan. Pada usus ikan terdapat berbagai bakteri baik yang mampu menyerap nutrisi dari pakan. Beberapa jenis bakteri berhasil diidentifikasi dari usus ikan bawal diantaranya, pada penelitian Wulaningtyas R. *et al.*, (2023), yang menemukan spesies bakteri asam laktat yaitu *Enterococcus sp* dalam usus ikan bawal air tawar. Hasil studi yang dilakukan oleh Irwansyah *et al* (2018) yang mengisolasi bakteri dari saluran pencernaan ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) terdapat spesies BAL dari genus *Lactobacillus* dan *Enterococcus*.

2. Isolasi Bakteri

Mikroorganisme alam merupakan sekelompok mikroorganisme yang terdapat pada air, tanah, udara, makanan, serta tumbuhan dan hewan. Pemisahan bakteri dilakukan untuk mengetahui jenis, morfologi, fisiologi, dan karakteristiknya. Teknik pemisahan tersebut disebut isolasi dan disertai dengan pemurnian atau purifikasi. Isolasi bakteri yaitu pengambilan bakteri dari media atau lingkungan asalnya lalu dilakukan pembiakan di media buatan untuk menghasilkan biakan murni. (Atun, 2014).

Mekanisme isolasi yaitu memisahkan spesies mikroorganisme dari mikroorganisme lain yang berasal dari gabungan berbagai spesies mikroorganisme yang berbeda. Hal tersebut dapat dicapai dengan cara menumbuhkan sel mikroba pada media padat sehingga mikroba dapat membentuk koloni sel tetap. Beberapa cara untuk mendapatkan biakan murni dari biakan campuran. Terdapat dua metode yang paling sering digunakan yaitu metode *streak plate* dan metode *pour plate*. Hal ini didasarkan pada prinsip pengenceran untuk tujuan mendapatkan spesies tunggal dengan anggapan bahwa setiap koloni dapat dipisahkan dari satu jenis sel yang dapat diamati. (Sabbathini, 2017).

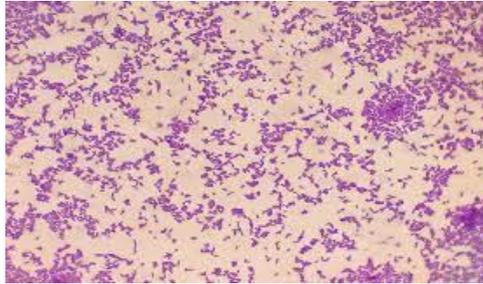
3. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme Gram-positif anaerobik fakultatif yang dapat menghasilkan asam laktat melalui fermentasi gula. BAL ditemukan secara luas di berbagai habitat termasuk sistem pencernaan manusia dan hewan (Susilawati, 2016). Beberapa genus BAL yang umum adalah *Lactobacillus*, *Streptococcus*, dan *Bifidobacterium*.

Bakteri asam laktat mempunyai ciri-ciri yaitu merupakan bakteri gram positif yang tidak dapat

membentuk spora dan umumnya berbentuk *bacil* atau *coccus* (Hasanah, 2014). Ciri lain dari BAL adalah kemampuannya dalam memfermentasi karbohidrat serta produk akhir yang dihasilkan berupa asam laktat (Rinto *et al.*, 2012). BAL biasanya bersifat non-motil, dapat bertahan hidup secara anaerobik dan tumbuh dalam konsentrasi gula, alkohol, dan garam yang tinggi. (Widodo, 2017).

BAL berperan untuk memfermentasikan berbagai karbohidrat menjadi asam organik dan bukan untuk memecah protein, oleh karena itu BAL umumnya berstatus GRAS atau aman untuk dikonsumsi. Berdasarkan cara fermentasinya, bakteri asam laktat dibagi menjadi 2 kelompok besar, yaitu bakteri asam laktat heterofermentatif dan bakteri asam laktat homofermentatif. Bakteri asam laktat homofermentatif yaitu bakteri yang hanya menghasilkan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat, sedangkan bakteri heterofermentatif yaitu bakteri yang dapat menghasilkan asam laktat dan senyawa lain seperti karbondioksida, asetat dan etanol (Widodo, 2017).



Gambar 2.2 Isolat Bakteri Asam Laktat
(Sumber : Mardalena, 2016)

Bakteri asam laktat (BAL) terdiri dari 12 genus berbeda, antara lain: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium*, *Weissella*, dan *Oenococcus*. Bakteri yang termasuk kelompok bakteri homofermentatif yaitu *Pediococcus*, *Streptococcus*, serta beberapa strain dari genus *Lactococcus* dan *Lactobacillus*. Sementara itu, yang termasuk dalam kelompok heterofermentatif ialah *Weissella*, *Leuconostoc*, dan beberapa strain dari genus *Lactobacillus* (Widodo, 2017).

Setiap mikroorganisme mempunyai rentang suhu minimum dan maksimum yang berbeda untuk pertumbuhannya. Secara umum, bakteri asam laktat merupakan bakteri mesofilik, meskipun beberapa strain

mampu bertahan dalam kondisi termofilik (Widodo, 2017). Bakteri mesofil tumbuh dengan baik dalam rentang suhu 25°-30° C, dan sebagian besar dari bakteri tersebut berperan dalam proses pemecahan bahan makanan. Sementara itu, bakteri termofil tumbuh optimal pada suhu 45°-88° C. Bakteri termofilik mengandung protein yang tahan pada panas sehingga memungkinkan mereka untuk beradaptasi dengan kondisi ekstrem. (Firliani *et al.*, 2014).

4. Antibiotik

Menurut peraturan kementerian kesehatan RI tahun 2011, antibiotik yaitu jenis obat yang sering dimanfaatkan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Antibiotik yaitu senyawa yang dibuat oleh suatu mikroba, terutama fungi, yang mampu menghambat atau mematikan mikroba jenis lainnya. (Gunawan *et al.*, 2015). Menurut Hoan (2015) antibiotik merupakan senyawa kimia yang diproduksi dari fungi dan bakteri, dan mempunyai sifat menghambat pertumbuhan bakteri, meskipun efek toksisitasnya pada manusia sangat minim.

Antibiotik adalah jenis obat yang mampu membunuh bakteri karena merupakan hasil metabolisme sekunder mikroorganisme. Antibiotik termasuk dalam

kategori obat keras yang hanya bisa dibeli dengan resep dokter. Apabila dalam penggunaan antibiotik tidak memperhatikan peringatan, dosis, dan cara pemanfaatannya maka dapat menimbulkan efek samping berbahaya bahkan berpotensi mengakibatkan resistensi antibiotik. (Jekulo et al., 2021).

Antibiotik dikelompokkan berdasarkan aktivitas, mekanisme kerja serta struktur kimia. Berdasarkan aktivitasnya, antibiotik dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu:

- a. Antibiotik spektrum luas, seperti dijelaskan oleh Cunha (2014), berarti jenis antibiotik yang mampu menghambat atau membunuh berbagai jenis bakteri, baik Gram positif maupun Gram negatif. Kelompok antibiotik ini efektif dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh mayoritas bakteri. Contoh antibiotik dalam kelompok ini meliputi tetrasiklin, kloramfenikol, ampisilin, sefalosporin, dan karbapenem.
- b. Antibiotik spektrum sempit (*narrow spectrum*), Kelompok ini hanya efektif melawan sejumlah kecil bakteri. Contoh antibiotik kelompok ini antara lain penisilin, streptomisin, neomisin, dan bacitracin. (Cunha, 2014).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotik dibagi menjadi empat golongan besar yaitu:

a. Antibiotik yang mampu merusak atau menghambat dinding sel bakteri.

1) Antibiotik β -laktam

Antibiotik ini terdiri dari kelompok obat dengan struktur cincin beta-laktam, yaitu penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, dan inhibitor beta-laktam. Secara umum, antibiotik β -laktam bersifat bakterisida dan terutama efektif melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Antibiotik ini menghambat pembentukan dinding sel bakteri (Menkes, 2011). Penisilin (Penisilin G, Penisilin V, Amoksilin, Ampisilin, dan Piperasilin), Sefalosporin (Sefadroksil, Seftriakson, dan Sefuroksim), dan monobaktam adalah contoh antibiotik dari kelompok ini (Kemenkes, 2011).

2) Vankomisin

Antibiotik vankomisin sangat aktif terhadap bakteri gram-positif. Vankomisin biasanya hanya diresepkan untuk infeksi *Streptococcus aureus* yang resisten terhadap metisillin (MRSA), beberapa bakteri gram-negatif, dan

mikoba yang tidak tahan pada vankomisin. Antibiotik ini disediakan melalui suntikan intravena dan mempunyai waktu paruh sekitar enam jam. Pemberian dosis tinggi antibiotik mampu mengakibatkan efek samping seperti reaksi hipersensitivitas, demam, tekanan darah rendah, serta kasus pendengaran dan nefrotoksisitas, yaitu kerusakan pada fungsi ginjal (Menkes, 2011).

3) Basitrasin

Basitrasin adalah kelompok antibiotik polipeptida yang sensitif terhadap bakteri kokus dan basil gram-positif (*Neisseria*, *H. influenza*, dan *Treponema pallidum*). Jika memasuki sirkulasi sistemik, basitrasin bersifat nefrotoksik (Menkes, 2011).

- b. Antibiotik dengan kemampuan memodifikasi atau menghambat sintesis protein.
- c. Antibiotik antimetabolit yang bekerja untuk menghambat enzim-enzim esensial dalam metabolisme folat.

Antibiotik tergolong dalam kelompok ini yaitu sulfonamid dan trimetoprim. Sulfonamida bersifat

bakteriostatik. Trimethoprim, dapat menghambat bakteri patogen pada saluran kemih (Menkes, 2011).

- d. Antibiotik yang dapat mempengaruhi metabolisme dan sintesis asam nukleat.

Berdasarkan gugus kimianya, antibiotik dibagi menjadi tiga golongan besar yaitu:

- a. Senyawa β -laktam dan penghambat sintesis dinding sel. Antibiotik dan penisilin memiliki struktur yang sama dengan β -laktam, dan mekanismenya yaitu menghambat pertumbuhan bakteri dengan mempengaruhi pembentukan dinding sel bakteri (Katzung, 2012).
- b. Kelompok antibiotik kloramfenikol, tetrasiklin, makrolida, klindamisin, dan streptogramin berperan dalam menghambat sintesis protein bakteri dengan cara mengikat dan menghancurkan ribosom (Katzung, 2012).
- c. Kelompok aminoglikosida meliputi *streptomycin*, *neomycin*, *kanamycin*, *amikacin*, *gentamicin*, *tobramicin*, dan *netilmicin*. Sulfonamida adalah antibiotik yang aktivitasnya menghambat sintesis asam dihidropteroat secara kompetitif. Antibiotik sulfonamida termasuk sulfacytine, sulfisoxazole, sulfamethizole, sulfamethizole, sulfadiazine,

sulfamethoxazole, sulfapyridine, dan sulfadoksin. (Katzung, 2012).

5. Resistensi Antibiotik

Pemanfaatan antibiotik yang tidak tepat dan tidak sesuai dengan petunjuk dokter dapat mengakibatkan resistensi (Kemenkes RI, 2011). Akibatnya tidak hanya meningkatkan resistensi pada antibiotik tetapi juga meningkatkan risiko efek samping serius dan biaya pengobatan yang lebih tinggi. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan sering dimanfaatkan secara tidak tepat dapat menyebabkan munculnya resistensi antibiotik. Resistensi ini bisa disebabkan oleh pemanfaatan antibiotik yang terlalu singkat, pemberian dosis rendah, diagnosis penyakit yang tidak akurat, memberikan antibiotik untuk penyakit yang disebabkan oleh virus, dan pemanfaatan antibiotik tanpa resep dari dokter (Baroroh, 2018).

Resistensi terjadi ketika bakteri mengalami mutasi atau mengubah sifatnya sendiri. Selain itu, resistensi juga dapat terjadi melalui proses seperti transduksi, di mana virus bakteri (bakteriofag) mentransfer materi genetik ke bakteri lainnya, transformasi yaitu bakteri menerima dan mengintegrasikan DNA yang mengandung gen ketahanan, dan konjugasi yaitu gen resistensi ditransfer

langsung antara bakteri melalui kontak fisik (Ihsan, 2016). Proses terbentuknya resistensi mampu terjadi melalui beberapa mekanisme, seperti dijelaskan oleh Izadpanah pada th. 2015:

Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri mengalami mutasi atau mengubah sifat dari bakteri itu sendiri, transduksi yaitu invasi bakteriofag ke bakteri lain, transformasi DNA dengan gen resistensi menjadi 12 bakteri, dan transfer gen melalui kontak langsung terjadi melalui konjugasi, yaitu transisi (Ihsan, 2016). Cara kerja terjadinya resistensi dapat terjadi dengan beberapa cara yaitu (Izadpanah, 2015) :

1. Mengubah struktur penerimaan antibiotik
2. Menghancurkan antibiotik dengan enzim yang produksi.
3. Mengubah sifat fisikokimia target sasaran antibiotik pada sel-sel bakteri
4. Tidak mampu menembus dinding sel karena perubahan sifat struktur dinding sel bakteri.
5. Memasuki sel bakteri tetapi segera dikeluarkan melalui proses aktif transportasi keluar dari sel.

Resistensi terhadap antibiotik dapat disebabkan oleh pengobatan atau keturunan (Febiana, 2012). Dalam resistensi bawaan, sebelum bakteri bersentuhan dengan

obat, setiap spesies bakteri dapat menjadi resisten terhadap obat tersebut. Resistensi yang didapat adalah kasus yang serius secara klinis, bakteri yang pernah sensitif terhadap suatu obat menjadi resisten. Resistensi silang juga dapat terjadi antara antibiotik dengan fungsi yang sama. Selain itu, penyebab resistensi antibiotik antara lain mutasi genetik dan penularan genetik pada mikroorganisme yang membuatnya lebih resisten terhadap antibiotik, penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan durasi pengobatan yang dianjurkan (yaitu kurang dari 5 hari), dan diagnosis yang tidak akurat. Selain itu, pemberian antibiotik yang tidak tepat dan penggunaan antibiotik yang biasanya gratis atau dapat dibeli tanpa resep dokter semakin meningkat. (Kapoor, 2017).

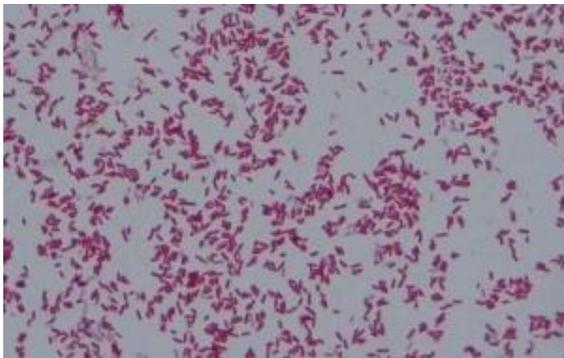
Resistensi pada antibiotik menyebabkan pengobatan menjadi lebih sulit dan berisiko pada nyawa pasien, dan pasien yang terinfeksi memerlukan perawatan lebih lama dan mahal. Sebagian besar bakteri telah ditemukan resisten terhadap antibiotik, seperti bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik jenis *Methicillin*, resistensi tersebut dikenal sebagai MRSA (*Methicillin Resisten Staphylococcus aureus*). MRSA bisa berdampak pada individu maupun

masyarakat, dan sulit diobati dengan efektif (MenKes, 2015).

Menurut sebuah studi epidemiologi mengenai bakteri nosokomial di ICU, diketahui sekitar 75% kasus infeksi di ICU disebabkan oleh bakteri Gram negatif, sementara sekitar 25% disebabkan oleh bakteri Gram positif (Siwakoti S *et al*, 2018). Spesies bakteri gram negatif biasa ditemukan pada pasien terinfeksi di unit perawatan intensif antara lain *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas sp.* dan *E.coli*. *Klebsiella pneumoniae* ialah bakteri patogen penyebab infeksi sistem kemih pada pasien unit perawatan intensif akibat pemanfaatan kateter dalam jangka waktu lama. *Pseudomonas sp* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri patogen mengakibatkan infeksi sistem pernapasan terkait pemanfaatan ventilator dan sering ditemukan pada luka pasca operasi. Bakteri seperti *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas spp.*, dan *E. coli* sudah mengindikasikan resistensi pada berbagai jenis obat (*Multi Drug Resistant*, *MDR*) serta resistensi pada sefalosporin spektrum luas (*Extended-Spectrum Cephalosporin-Resistant*, *ESCR*).

6. Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *E.coli* adalah bakteri gram negatif yang sering ditemukan di saluran pencernaan manusia dan hewan seperti mamalia dan unggas (Adorján et al., 2021). Bakteri ini tidak menghasilkan spora (Lim et al., 2013). Beberapa strain *E. coli* merupakan flora normal tidak berbahaya di dalam sistem pencernaan manusia dan hewan. Namun, beberapa strain *E. coli* sudah menjadi patogen melalui perolehan faktor virulensi melalui plasmid, transposon, dan bakteriofag. Patogen *Escherichia coli* dapat diklasifikasikan berdasarkan serotipe, mekanisme patogenik, gejala klinis, atau faktor virulensi (Rasyid, B., et al, 2020).



Gambar 2.3 Bakteri *Escherichia coli* perbesaran 100X
(Sumber : Islam, M.A, 2016).

Klasifikasi *E. coli* menurut (ITIS,2023), sebagai berikut:

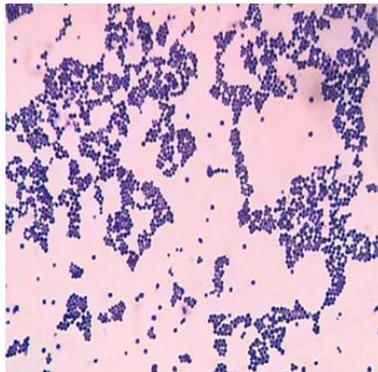
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Escherichia coli adalah bakteri anaerob fakultatif yang memfermentasi gula sederhana seperti glukosa untuk menghasilkan asam format, asam laktat, dan asam asetat. pH yang ideal untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah 6 sampai 8, tetapi juga dapat tumbuh pada pH 4,3 atau pH 9-10. Bakteri *E. coli* dapat bertahan lama di lingkungannya dan berkembang biak dalam makanan dan sayuran (Bintsis, 2017). Selain itu, *E. coli* dapat bertahan di tubuh hewan dan di berbagai jenis tanah, air, dan makanan (Lim *et al.*, 2013). Di bawah kondisi pertumbuhan terbaik, *Escherichia coli* dapat bergenerasi dengan cepat dan bereplikasi dalam 20 menit (Jang *et al.*, 2017). Waktu generasi adalah waktu yang dibutuhkan oleh *Escherichia coli* untuk membelah diri menjadi dua kali lipat. Waktu generasi bervariasi dari 30 hingga 87

menit tergantung pada kondisi suhu, tetapi suhu ideal untuk *Escherichia coli* adalah 37°C (W. P. Rahayu *et al.*, 2018).

7. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk coccus dengan diameter 0,8–9 µm dan termasuk dalam kategori bakteri nonmotil yang tidak memiliki spora. *Staphylococcus aureus* memiliki sifat gram-positif pada pewarna gram, dan bentuknya yang bulat-bulat dan bergerombol seperti anggur jika diamati di bawah mikroskop (Soedarto, 2015).



Gambar 2.4 Bakteri *Staphylococcus aureus* perbesaran 1000X
(Sumber : Malelak, M.C.C. *et al.*, 2015).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut (ITIS, 2023) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Order : Bacillales
Family : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*.

Genus *Staphylococcus* dibagi menjadi empat kelompok. Spesies yang menyebabkan penyakit pada manusia termasuk dalam kelompok I, II, atau III. Kelompok IV terdiri dari jenis stafilokokus yang menghasilkan enterotoksin. Sedangkan, infeksi yang terjadi di rumah sakit umumnya disebabkan oleh kelompok I atau III. (Gupte, 1990).

- a. Kelompok I yaitu kelompok yang mencakup *Staphylococcus aureus*, yang merupakan jenis *Staphylococcus* yang paling sering menyebabkan infeksi pada manusia. Bakteri ini biasanya terdapat pada kulit manusia atau bagian hidung. *S. aureus* dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi, mulai dari infeksi kulit ringan hingga penyakit serius seperti pneumonia, meningitis, dan sepsis

- b. Kelompok II yaitu kelompok yang mencakup mencakup *Staphylococcus epidermidis*, yang umumnya ditemukan pada kulit manusia. Bakteri kelompok ini umumnya tidak menyebabkan infeksi pada manusia, kecuali pada orang yang mempunyai sistem pertahanan tubuh yang lemah. *S. epidermidis* tumbuh dengan optimum pada suhu 30-37°C.
- c. Kelompok III yaitu kelompok yang mencakup *Staphylococcus saprophyticus*, yang biasanya ditemukan pada saluran kemih manusia dan dapat menyebabkan infeksi saluran kemih. *S. saprophyticus* tumbuh dengan optimum pada suhu 30-37°C.
- d. Kelompok IV terdiri dari jenis *Staphylococcus* yang menghasilkan enterotoksin yang dapat mengakibatkan keracunan makanan. Bakteri ini biasanya terdapat pada makanan yang sudah terkontaminasi dan bisa mengakibatkan gejala seperti mual, muntah, dan diare.

Infeksi paling umum yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* biasanya mengakibatkan pembentukan abses atau lesi terlokalisasi dan bernanah. Kulit dan struktur kulit yang berkaitan merupakan tempat yang umum terjadinya lesi. Hal tersebut dapat menyebabkan bisul, jerawat, dan bisul pada kulit.

Staphylococcus aureus menginfeksi jaringan dan organ dalam, menyebabkan *pneumonia*, *osteomyelitis* (abses tulang dan sumsum tulang), *endokarditis* (radang endokardium), *sistitis (sistitis)*, dan *pielonefritis* (radang ginjal), dan dapat menyebabkan *enteritis stafilokokus*. *Enteritis stafilokokus* terjdisebabkan oleh kontaminasi enterotoksin dalam makanan (Cappuccino dan Sherman, 2014).

Staphylococcus aureus menghasilkan berbagai produk akhir metabolisme, beberapa di antaranya terlibat dalam patogenesis. Produk akhir metabolisme *Staphylococcus aureus* yang terlibat dalam patogenesis adalah koagulase, leukocidin, hemolysin, dan enterotoksin. Koagulase menyebabkan pembekuan darah, leukocidin melisiskan sel darah putih, hemolisin bekerja pada sel darah merah, dan enterotoksin menyebabkan sejenis gastroenteritis. (Cappuccino dan Sherman, 2014).

Suhu pertumbuhan optimal *Staphylococcus aureus* adalah antara 35°C dan 37°C, dengan suhu minimum 6,7°C dan suhu maksimum 45,4°C. Bakteri ini dapat tumbuh antara pH 4,0 dan 9,8, dengan pH optimum antara 7,0 dan 7,5. (Medvedová A et al., 2019). Pertumbuhan pada pH mendekati 9,8 hanya mungkin

terjadi jika komposisi pertumbuhan substrat mendukung. Asam nikotinat diperlukan untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan merangsang pertumbuhannya dengan adanya tiamin. Dalam kondisi anaerobik fakultatif, bakteri ini juga memerlukan 11 asam amino untuk pertumbuhan optimal: valin, leusin, treonin, fenilalanin, tirosin, sistein, metionin, lisin, prolin, histidin, dan arginin. Bakteri ini tidak dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein. (Alreshidi MM rt al., 2020).

B. Kajian Penelitian yang Relevan

Peneliti menemukan bahwa beberapa studi sebelumnya yang relevan dengan penelitian ini didasarkan pada evaluasi temuan penelitian sebelumnya. Berikut ini adalah beberapa penelitian sebelumnya:

Tabel 2.1 Kajian Penelitian yang relevan

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
1.	Potensi probiotik dari bakteri asam laktat yang diisolasi dari makanan fermentasi (Abdel Tawab <i>et al</i> , 2023).	Pada penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan mengisolasi BAL dari makanan fermentasi	Hasil menunjukkan hanya empat strain BAL di antara BAL yang diisolasi yang menunjukkan atribut probiotik dan dianggap aman untuk penerapannya sebagai pakan atau suplemen makanan. Selain itu, mereka terbukti memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen dan efek antikanker terhadap sel kanker usus besar	Sampel dan tempat pengambilan sampel yang berbeda, serta uji yang dilakukan berbeda.

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
			Caco-2. Strain <i>Enterococcus massiliensis</i> IS06 secara eksklusif dilaporkan dalam penelitian ini sebagai strain probiotik dengan aktivitas antimikroba, antioksidan, dan anti kanker usus besar yang tinggi	
2.	Isolation And Identification Of Proteolytic Lactic Acid Bacteria From Freshwater Pomfret (<i>Colossoma macropomum</i>) Intestine	Metode yang digunakan adalah uji morfologi, biokimia, gula, dan proteolitik.	Hasil menunjukkan isolat bakteri asam laktat proteolitik yang diperoleh dari sampel usus ikan bawal air tawar (<i>Colossoma macropomum</i>) sebanyak 5 isolat dengan karakteristik yang hampir sama. Isolat BAT-A memiliki indeks proteolitik tertinggi yaitu 2,52 dan	Tempat pengambilan sampel yang berbeda, metode berbeda, dan pada jurnal relevan tersebut tidak menggunakan bakteri uji.

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
	(Wulaningtyas R., & Agustini R., 2023)		dapat memfermentasi karbohidrat jenis glukosa, laktosa, maltosa, dan fruktosa dengan tipe fermentasi homofermentatif, sehingga berdasarkan karakteristiknya diidentifikasi sebagai <i>Enterococcus sp.</i> Isolat bakteri <i>Enterococcus sp</i> yang berasal dari usus ikan bawal air tawar ini dapat menjadi alternatif sumber enzim protease yang dibutuhkan industri.	
3.	Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat asal ikan fermentasi budu	Studi ini memanfaatkan pendekatan deskriptif di laboratorium dengan 6 langkah Studi, yaitu: 1)	Dari hasil Studi, didapatkan lima isolat bakteri asam laktat dari tiga sumber berbeda, yaitu ikan budu dari Kabupaten Padang Pariaman.	Sampel yang digunakan berbeda, uji yang digunakan berbeda, serta tempat

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
	sumatra barat terhadap sifat-sifat probiotik. (Susalam, M. K., Marlida, Y., Harnentis, H., & Jamsari, J. (2022).	Memisahkan bakteri asam laktat dari budu ikan; 2) Menguji keberdayaan isolat pada pH rendah (pH 2); 3) Menguji keberdayaan isolat pada konsentrasi empedu (0,3%); 4) Menguji kegiatan penghambatan isolat pada bakteri patogen (<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , dan <i>Salmonella enteritidis</i>).	Sesudah diuji untuk keberdayaannya sebagai probiotik, semua isolat terbukti mempunyai potensi sebagai kandidat probiotik. Isolat A22 dipisahkan dari ikan budu di Kabupaten Padang Pariaman mengindikasikan hasil positif. Isolat A mampu bertahan pada level keasaman pH 2 selama 3 jam dengan level kelangsungan hidup 20,65% dan selama 5 jam 19,92%. Di dalam larutan empedu 0,3%, isolat ini mengindikasikan level kelangsungan hidup 89,45% sesudah 3 jam dan 92,34% sesudah	pengambilan sampel berbeda. Uji yang digunakan pada penelitian ini lebih spesifik diantaranya ada uji katalase, simmon citrate, uji TSIA, dan uji hidrolisis gelatin.

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
			5 jam. Isolat ini juga mempunyai kegiatan antimikroba pada bakteri patogen seperti <i>Escherichia coli</i> dengan area hambat sebesar 2,59 mm, <i>Staphylococcus aureus</i> sebesar 3,71 mm, dan <i>Salmonella enteritidis</i> sebesar 3,65 mm. Selain itu, isolat ini mempunyai sifat-sifat bersifat probiotik.	
4.	Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari saluran pencernaan belut sawah (<i>Monopterus albus</i>) dan uji antagonis	Dalam Studi ini, metode yang digunakan yaitu eksperimental, dengan cara mengambil sampel dari sistem pencernaan belut sawah,	Pada penelitian ini dihasilkan lima jenis kandidat bakteri asam laktat diberi kode BL121, BL263, BL142, BL242, dan BL342. Kelima isolat bakteri asam laktat ini mampu menghambat pertumbuhan <i>A.</i>	Tempat pengambilan sampel dan sampel yang di uji berbeda, menggunakan bakteri uji yang berbeda,

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
	bakteri untuk menghambat bakteri patogen <i>Aeromonas hydrophila</i> dan <i>Pseudomonas sp.</i> (Alfinda, R., Lukistryowati, I., Syawal, H., & Putra, I. (2022))	mengidentifikasi bakteri asam laktat yang ada di dalamnya,serta menganalisis karakteristiknya baik dari segi bentuk fisik maupun biokimianya.	<i>hydrophila</i> dan <i>Pseudomonas sp.</i> dengan area hambat berkisar 8-16 mm. Berlandaskan hasil studi, tiga isolat (BL121, BL263, dan BL142) memiliki daya hambat kuat pada <i>A. hydrophila</i> (12-16 mm) dan <i>Pseudomonas sp.</i> (11-13 mm). Identifikasi hasil studi mengungkapkan bahwasannya bakteri tersebut merupakan genus <i>Bacillus sp.</i>	menggunakan uji yang berbeda.
5.	Isolasi bakteri asam laktat dari usus ikan air tawar dan elusidasi potensi	Metode isolasi bakteri dilakukan dengan menumbuhkan sampel usus pada media selektif	Hasil menunjukkan dari semua isolat tersebut, <i>L. fermentum</i> URLP18 yang diisolasi dari <i>C. mrigala</i> menunjukkan toleransi	Tempat pengambilan sampel dan sampel uji berbeda, metode

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
	probiotik untuk aplikasi akuakultur (Govindaraj, K., Samayanpaulraj, V., Narayanadoss, V., & Uthandakalaipandian, R. (2021).	yang sesuai, seperti agar MRS (Man, Rogosa, Sharpe). Kemudian melakukan uji aktivitas probiotik menggunakan model in vitro atau in vivo.	yang tinggi terhadap asam rendah (pH 2.0) dan konsentrasi garam empedu yang tinggi (2%), menunjukkan hidrofobisitas yang signifikan dan sekresi enzim ekstraseluler seperti amilase, protease, dan lipase. Evaluasi in vitro pada lendir usus menunjukkan bahwa <i>L fermentum</i> URLP18 memiliki kapasitas melekat yang kuat, dan tingkat kelangsungan hidupnya meningkat setelah diberikan pada <i>Artemia naupli</i> . Hasil penelitian menunjukkan bahwa <i>L fermentum</i>	yang digunakan berbeda,

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
			URLP18 memiliki potensi probiotik yang tinggi dan merupakan suplemen makanan yang efektif untuk budidaya air tawar	
6.	Probiotic potential of autochthonous bacteria from tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> (Kotzent S., <i>et al.</i> 2020)	Metode yang digunakan adalah uji morfologi, biokimia, uji antagonis, uji kerentanan, dan uji kemanan isolat probiotik.	Studi ini mengungkapkan bahwa tambaqui memiliki setidaknya enam bakteri probiotik asli (<i>S.hominis</i> , <i>S.saprophyticus</i> , <i>L.laktis</i> , <i>P.pentosaceus</i> , <i>E.hirae</i> Dan <i>E.faecalis</i>), yang umumnya menempel pada mukosa usus, memiliki kemampuan menghambat bakteri patogen, memiliki resistensi yang rendah terhadap antibiotik komersial	Tempat pengambilan sampel berbeda, bakteri, bakteri uji berbeda.

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
			<p>utama dan aman untuk tambaqui. Studi ini juga menjelaskan beberapa karakteristik tertentu dari masing-masing spesies yang mungkin mendorong penggunaan probiotik baru dalam budidaya perikanan.</p>	
7.	<p>Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat cairan lumen terhadap pertumbuhan <i>Salmonella enteritidis</i>, <i>Bacillus cereus</i>, <i>Escherichia coli</i> dan</p>	<p>Menggunakan metode difusi sumur dan difusi cakram serta menggunakan isolat bakteri asam laktat (supernatan) dan non filtrat dari cairan rumen. Bahan penelitian utama</p>	<p>Hasil penelitian menunjukkan bahwa BAL cairan rumen yang dilakukan merupakan BAL aktif dengan sifat Gram positif, bentuk bulat, katalase negatif dan non motil. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari isolat cairan rumen</p>	<p>Lokasi pengambilan sampel, sampel yang diteliti berbeda serta menggunakan uji yang berbeda.</p>

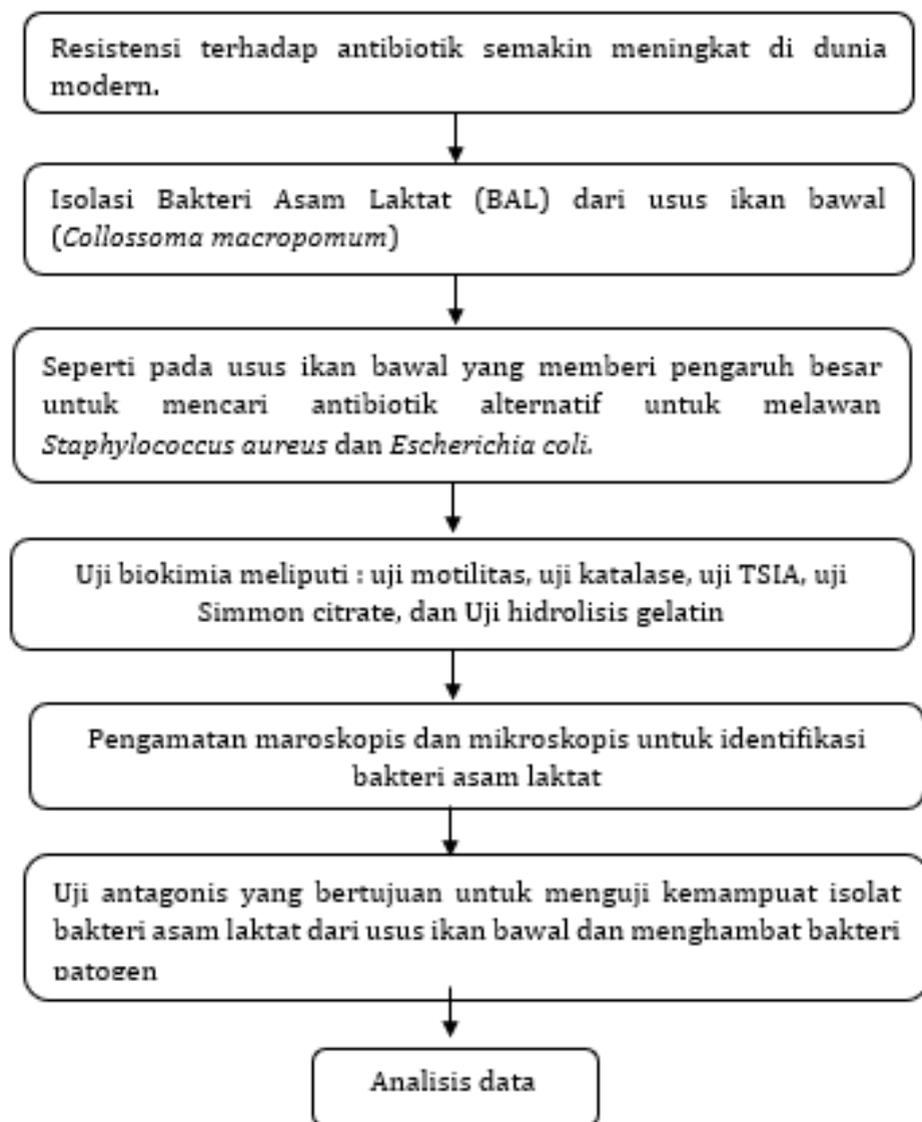
No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
	<p><i>Staphylococcus aureus</i> menggunakan metode difusi sumur agar. (Datta, F. U., Daki, A. N., Benu, I., Detha, A. I. R., Foeh, N. D., & Ndaong, N. A. (2019).</p>	<p>yang digunakan adalah isolat cairan rumen BAL, media MRSA (Mann Rogosa Sharpe Agar), media MRSB (Mann Rogosa Sharpe Broth), media MHA (Muller Hinton Agar), dan bakteri patogen <i>Bacillus cereus</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Escherichia coli</i>, dan <i>Salmonella enterik</i>.</p>	<p>terhadap bakteri patogen Gram positif (<i>B. cereus</i> dan <i>S. aureus</i>) dan Gram negatif (<i>Escherichia coli</i> dan <i>Salmonella Enteritidis</i>) dengan menggunakan metode difusi sumur dan cakram menunjukkan bahwa Gram negatif bakteri lebih sensitif terhadap antimikroba BAL dibandingkan bakteri Gram positif. Diameter zona hambat yang lebih besar dihasilkan menggunakan metode cakram dengan kisaran diameter zona hambat 13,66-28 3 mm. sedangkan metode sumur berkisar antara 0-24,2 mm.</p>	

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
			<p>Aktivitas antimikroba BAL menggunakan BAL non filtrat menghasilkan ukuran diameter zona hambat berkisar 0-26,1 mm, sedangkan BAL filtrat menghasilkan kisaran diameter zona hambat 0-28,3 mm dengan waktu optimum menghasilkan aktivitas antimikroba 48 jam dibandingkan 24 jam setelahnya.</p>	
8.	<p>Karakteristik bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu kuda sumba. (Detha, A., 2019).</p>	<p>Metode penelitian terdiri dari isolasi bakteri, identifikasi bakteri, dan uji biokimia.</p>	<p>Berdasarkan hasil penelitian, keberadaan bakteri asam laktat asal susu kuda Sumba ditandai dengan adanya koloni bakteri asam laktat asal susu kuda Sumba</p>	<p>Metode yang digunakan berbeda, menggunakan sampel yang berbeda, pada penelitian tersebut</p>

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
			<p>yang tumbuh pada media MRS agar sebagai media selektif bakteri asam laktat. Berdasarkan hasil pengujian karakteristik bakteri asam laktat Susu kuda Sumba mempunyai Gram positif, hasil negatif pada uji katalase ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas pada saat bakteri tersebut ditambahkan H₂O₂- Berdasarkan uji motilitas diperoleh hasil negatif atau bakteri non motil dan jumlah bakteri asam laktat tersebut dapat menjadi gambaran total bakteri asam laktat</p>	<p>tidak menggunakan bakteri uji.</p>

No.	Artikel Penelitian	Metode Penelitian	Hasil	Gap Penelitian
			<p>yang ada pada susu kuda Sumba dalam mililiter susu.</p> <p>Kesimpulannya adalah bakteri asam laktat hasil isolasi susu kuda Sumba mempunyai sifat Gram positif, berbentuk batang atau basil, katalase negatif dan non motil, serta mempunyai total bakteri asam laktat sebesar 3,5 x 10 cfu/ml.</p>	

C. Kerangka Berfikir



Gambar 2.5 Kerangka Berfikir

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Sampel diambil dari tempat budidaya ikan bawal yang berada di tempat Budidaya Ikan Air Tawar “Bunda Nur” yang beralamat di Gedawang, Kecamatan Banyumanik, Kota Semarang. Pengujian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, kampus 3 Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Pelaksanaan penelitian dilakukan pada Januari 2024 sampai bulan Maret 2024.



Gambar 3.1. A = Jawa Tengah, B = Semarang C = Budidaya Ikan Air Tawar, Tanda panah = Lokasi Pengambilan Sampel
(Sumber : Google Earth,2024)

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu tabung reaksi (Iwaki CTE33), cawan petri, mikroskop, inkubator (memmert), laminar air flow (Esco Sentinel Gold), neraca analitik, oven, lumpang mortal, autoklaf (Hirayama HVE-50), lemari pendingin, gelas ukur, jarum ose, objek glass, bunsen, pipet tetes, mikropipet (BIO-RAD), erlenmeyer (Iwaki CTE32), alumunium foil, rak tabung reaksi, dan penjepit tabung.

2. Bahan

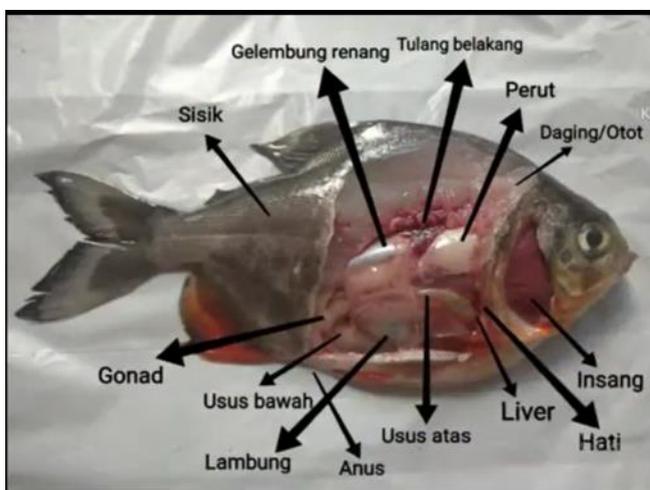
Pada penelitian ini digunakan bahan-bahan sebagai berikut : ikan bawal air tawar, akuades, medium TSIA, alkohol 70%, NaCl fisiologis, medium MRSA, medium NB (Nutrient Broth), medium NA (Nutrien Agar), reagen H₂O₂, tisu, kultur murni bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

C. Tahap Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Sampel ikan bawal diambil dari tempat budidaya ikan air tawar Bunda Nur yang berlokasi di kecamatan Banyumanik. Sampel ikan dipilih

dengan mempertimbangkan kondisi ikan yang sehat dengan kriteria memiliki warna mata yang jernih, tubuh tidak berlendir, mulutnya mengatup, dan tidak berbau amis.



Gambar 3.2. Anatomi Ikan Bawal

Pengambilan sampel usus ikan bawal dimulai dengan melakukan pembedahan pada bagian tubuh ikan. Pembedahan dimulai dari bagian bawah kepala ikan dibedah secara vertikal dan pada bagian anus sampau tubuh bagian bawah dipotong secara horizontal.

2. Isolasi Bakteri Asam Laktat

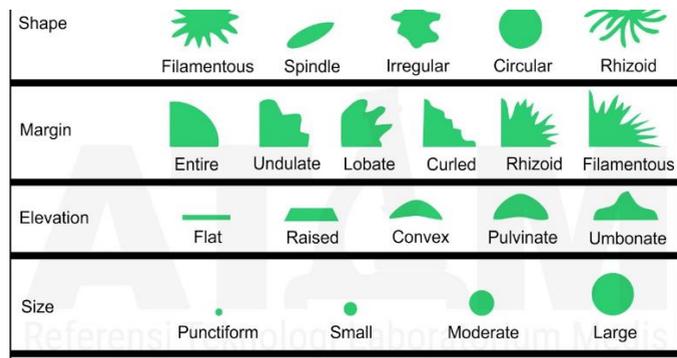
Bagian usus ikan bawal diambil, kemudian dihaluskan menggunakan lumpang mortar. Setelah

halus kemudian ditimbang 1 gr sampel dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah diisi larutan NaCl lalu homogenkan. Selanjutnya, lakukan pengenceran bertingkat hingga 10^4 dengan cara 1 ml suspensi bakteri diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah diisi 9 ml akuades, lakukan hal yang sama hingga seri pengenceran sampai 10^4 . Kemudian diambil 1 ml sampel dari tiga seri pengenceran terakhir untuk diinokulasikan pada media MRSA kemudian diinkubasi selama 2x24 jam (Bukhari A., 2018).

Media yang digunakan pada proses isolasi yaitu media MRSA (De Man Rogosa Sharpe Agar). Media MRSA adalah media selektif yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat. Media selektif merupakan media yang dapat menumbuhkan bakteri tertentu. Kandungan dari media MRS adalah 1% peptone, 1% beef extract, 0,5% yeast extract, 2% glukosa, 0,5% sodium asetat, 0,2% K_2HPO_4 , 0,2% ammonium sitrat, 0,02% $MgSO_4$, dan 0,005% $MnSO_4$ (Lutfiah, N.A., 2015).

3. Pengamatan Makroskopis

Morfologi setiap koloni yang terbentuk setelah pemurnian kemudian diamati. Ciri-ciri morfologi BAL antara lain bentuk, elevasi, warna, dan permukaan koloni (elevasi) (Yulvizar, 2014).

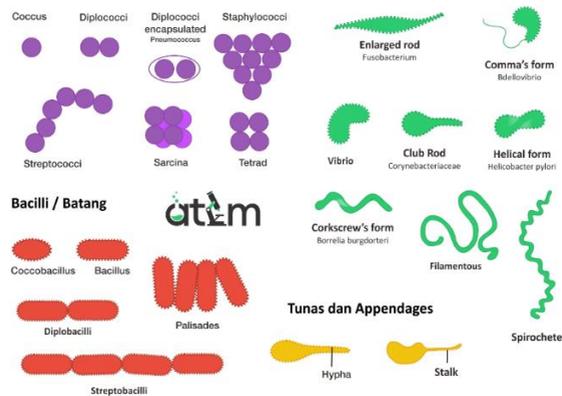


Gambar 3.3. Karakteristik Koloni Bakteri
(Sumber : Kurniawan, S., 2019).

4. Pengamatan Mikroskopis

Pewarnaan gram dilakukan pada isolat bakteri yang telah berumur 24 jam untuk melihat karakteristik mikroskopis seperti bentuk sel dan jenis Gram. Bakteri biakan pertama-tama diambil dan diterapkan pada objek kaca yang sudah dibersihkan sebelumnya. Setelah itu, diletakkan di atas api bunsen sampai mengering. Setelah itu,

tunggu selama 1 menit agar pewarna Kristal violet menyerap kedalam bakteri. Selanjutnya, bilas dengan akuades sebelum ditetaskan dengan iodine. Diamkan selama 1 menit, lalu bilas dengan akuades dan dialiri dengan alkohol. Teteskan kembali dengan safranin. Diamkan selama 30 detik lalu bilas dengan akuades mengalir. Kemudian amati preparat dibawah mikroskop. Bakteri gram positif memiliki kemampuan untuk mengikat zat warna utama kristal violet yang ditunjukkan dengan preparat berwarna ungu saat diamati dibawah mikroskop. (Yulvizar *et al*, 2014).



Gambar 3.4. Karakteristik Sel Bakteri
(Sumber : Kurniawan, S., 2019)

5. Uji Biokimia

a. Uji Motilitas

Satu ose isolat BAL diambil dan diinokulasikan pada media. Diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 35° C. Hasil positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar pada bagian atas media. (Yulvizar, 2013).

b. Uji Katalase

Diambil 1 ose isolat kemudian diletakkan pada objek glass. Setelah itu ditambahkan dengan 2 tetes H₂O₂ pada preparat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung pada isolat. (Yulvizar, 2013).

c. Uji TSIA

Sebanyak 1 ose isolat diambil kemudian diinokulasikan pada media TSIA dengan ditusukkan kedalam media tegak (*butt*) dan digoreskan secara zig-zag pada media miring (*slant*). Setelah itu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35° C lalu diamati perubahan warnanya. Jika pada media miring berwarna merah dan bagian tegak berwarna kuning menandakan bakteri mampu

memfermentasikan glukosa, sedangkan jika pada media tegak dan miring berwarna kuning berarti menandakan bakteri mampu memfermentasikan sukrosa dan laktosa. (Bukhori,A., 2018).

d. Uji *Simmons citrate*

Sebanyak 1 ose isolat BAL diambil dan diinokulasikan pada media *Simmons Citrate* kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C. Hasil positif ditandai dengan berubahnya media menjadi biru (Bukori,A., 2018).

e. Uji Hidrolisis Gelatin

Sebanyak 1 ose isolat bakteri diambil dan diinokulasikan pada media nutrisi gelatin. Setelah itu diinkubasi selama 3 hari, setelah diinkubasi kemudian dimasukkan ke dalam lemari es selama 30 menit. Hasil positif ditandai dengan terjadinya pencairan pada media gelatin yang menandakan bakteri mampu menghasilkan eksoenzim gelatinase. (Lubis et al, 2015).

f. Uji MR

Satu ose isolat diambil dari stok dan dimasukkan ke dalam media MR-VP. Kemudian

diinkubasi selama 5 hari pada suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan Methyl red sebanyak 5 tetes. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya kompleks warna pink hingga merah yang menandakan bahwa bakteri tersebut menghasilkan asam (Awalia,F, 2017).

g. Uji VP

Sebanyak 1 ose isolat diambil dan diinokulasikan pada media MR-VP. Setelah itu, diinkubasi selama 3 hari pada suhu 35°C. Selanjutnya ditambahkan 0,2 ml KOH 40% dan 0,6 ml alfanafтол. Hasil positif ditandai dengan berubahnya warna kuning menjadi merah jambu (Awalia,F, 2017).

6. Penyiapan Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri *E. coli* dan *S. Aureus* dikultur pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

7. Uji Daya Hambat / Antagonis

Pengujian daya hambat atau antagonis terhadap bakteri patogen digunakan untuk isolat yang berpotensi menghasilkan senyawa

antibakteri. Bakteri patogen yang digunakan adalah bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Metode yang digunakan dalam uji mengacu pada penelitian (Dewi, L.F., *et al.* 2019). Suspensi dari bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* di inokulasikan pada media MHA dengan metode spread plate. Kemudian, 10 mikroliter isolat BAL ditetaskan pada kertas cakram kosong dan diletakkan di tengah media uji yang telah diolesi bakteri patogen. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Setelah itu, diamati dan ukur zona hambat menggunakan jangka sorong. Dalam pengujian dilakukan dengan uji kirby bauer menggunakan kertas cakram (paper disk) dengan diameter 6 mm.

Data berupa daya hambat yang diperoleh pada penelitian ini dibandingkan dengan diameter daya hambat antibiotik menurut Davis dan Stout (1971) dan Mayer (2007) yang ditunjukkan pada tabel 3.1 dan 3.2 berikut ini.

Tabel 3.1 Kategori Zona Hambat terhadap Pertumbuhan Bakteri

Kategori	Diameter zona hambat (mm)
Sangat kuat	>20
Kuat	10-20
Sedang	5-10
Lemah / tidak ada respon	<5

Sumber : Davis dan Stout (1971)

Tabel 3.2 Diameter Zona Hambat Beberapa Antibiotik

Antibiotik	Kategori daya hambat (mm)		
	Resisten	Intermediet	Rentan
Cloramphenicol	≤ 12	13 - 17	≥ 18
Erythromycin	≤ 13	14 - 17	≥ 19
Nalidixid Acid	≤ 13	14 - 18	≥ 19
Streptomycin	≤ 11	12 - 14	≥ 15
Tetracyclin	≤ 14	15 - 18	≥ 19
Trimethoprim	≤ 10	11 - 15	≥ 16

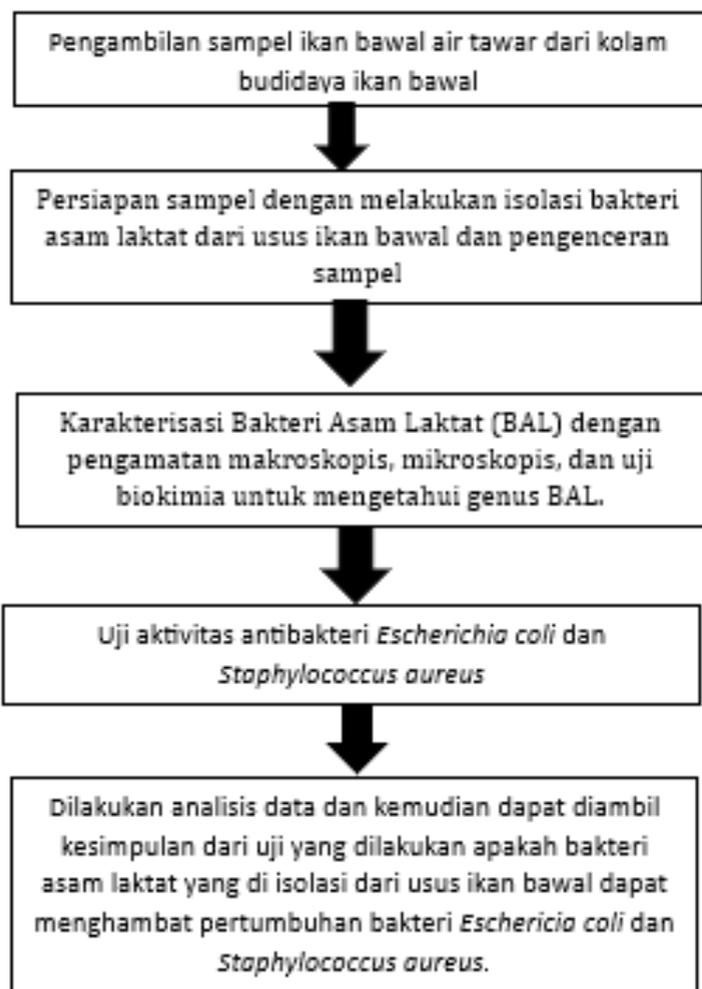
Sumber : Mayer (2007)

8. Analisis Data

Data yang diperoleh dari setiap tahap penelitian dianalisis secara deskriptif dengan memberikan gambaran atau penjelasan dari berbagai isolat BAL yang memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

D. Alur Penelitian

Alur dari penelitian dapat digambarkan seperti pada tabel dibawah ini :



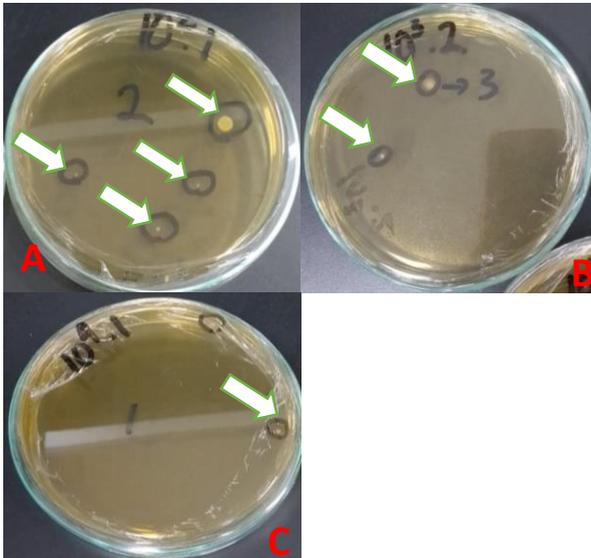
Gambar 3.4. Alur Penelitian

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

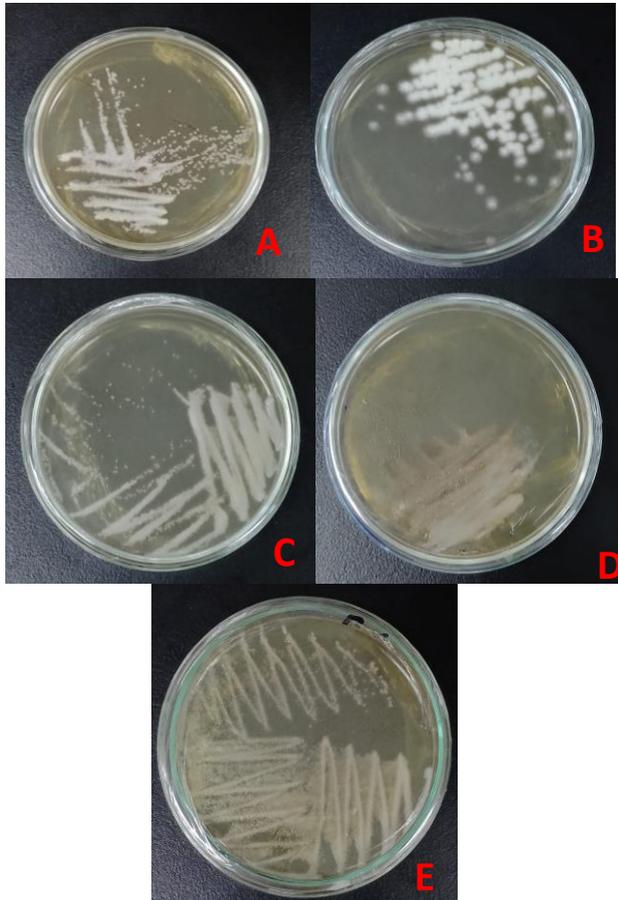
A. Hasil Penelitian

1. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Ikan Bawal

Pada isolasi BAL dari usus ikan bawal diperoleh 5 isolat BAL yaitu B1, B2, B3, B4, dan B5. Kelima isolat tersebut selanjutnya dikarakterisasi morfologi koloni, sel, dan biokimia seperti pada gambar dibawah ini :



Gambar 4.1. Isolat hasil pengenceran sampel A (Pengenceran 10^2), B (Pengenceran 10^3), C (Pengenceran 10^4), 1 (koloni bakteri yang tumbuh). Anak panah = koloni bakteri (Dokumentasi Penelitian, 2024)



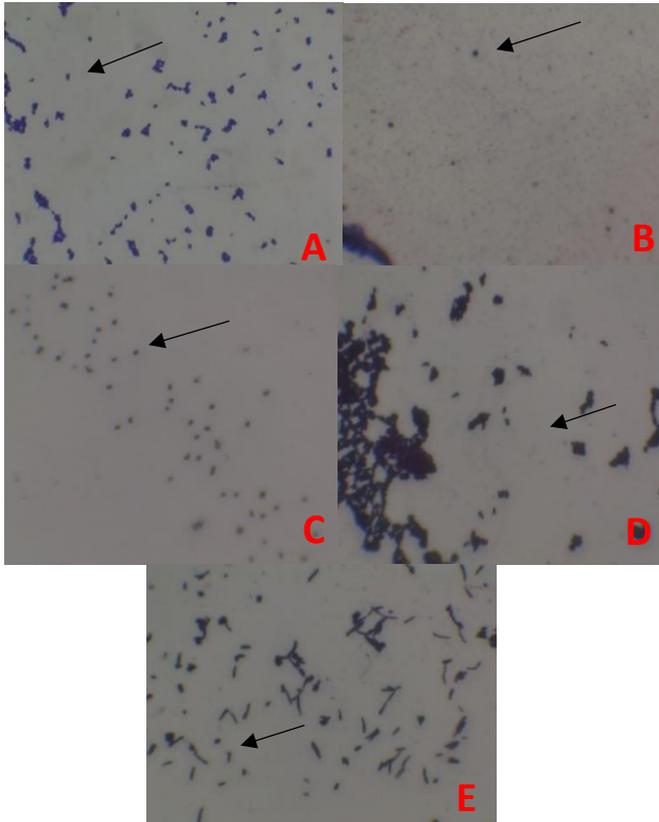
Gambar 4.2. Hasil purifikasi BAL pada media MRSA umur 48 jam. Kode isolat A = B1, B = B2, C = B3, D = B4, dan E = B5

(Dokumentasi Penelitian, 2024)

2. Karakterisasi BAL dari Usus Ikan Bawal

Karakteristik BAL selanjutnya diamati dengan mikroskop. Gram positif ditandai dengan preparat berwarna biru atau ungu.

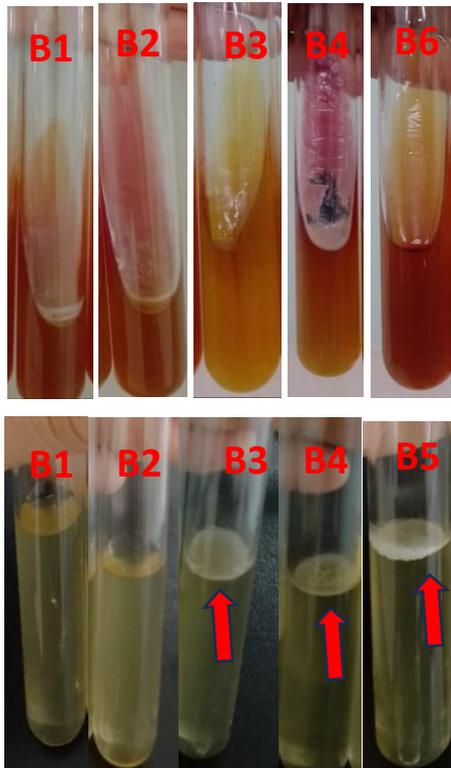
a. Pewarnaan Gram



Gambar 4.7. Hasil pewarnaan gram dengan pengamatan dibawah mikroskop perbesaran 400X. Hasil menunjukan semua isolat merupakan gram positif. Kode isolat A=B1, B=B2,C=B3, D=B4, E=B5. (Dokumentasi Penelitian, 2024).

b. Uji TSIA dan Uji Motilitas

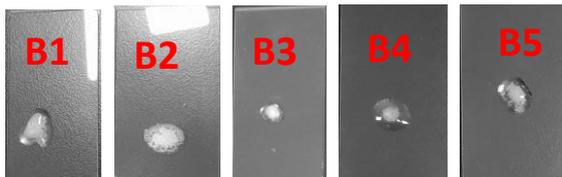
Setelah dilakukan karakterisasi menggunakan mikroskop, kemudian dilakukan uji biokimia yaitu uji TSIA dan uji motilitas yang hasilnya dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



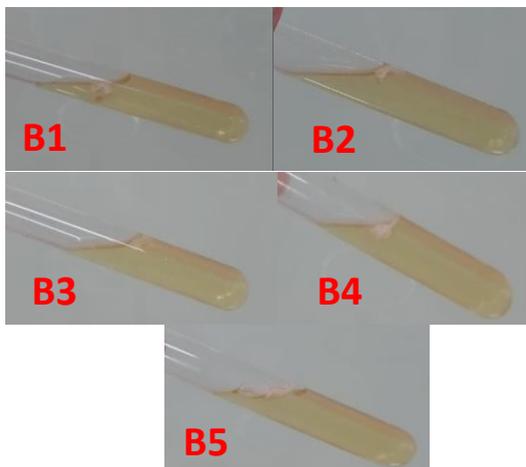
Gambar 4.3. Hasil Uji TSIA (atas) B1= K/K, B2= M/K, B3=K/K, B4 =M/K, dan B5 =K/K. Uji Motilitas (bawah). Diinkubasi selama 48 Jam pada media TSIA dan SIM. Hasil positif uji motilitas ditandai dengan tumbuhnya koloni yang menyebar (tanda panah).
(Dokumentasi Penelitian, 2024)

c. Uji Katalase dan Uji Hidrolisis Gelatin

Setelah dilakukan uji katalase uji dan uji hidrolisis gelatin, selanjutnya dilakukan uji katalase untuk mengetahui sifat produksi katalase pada BAL dan uji hidrolisis gelatin untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengubah struktur protein.



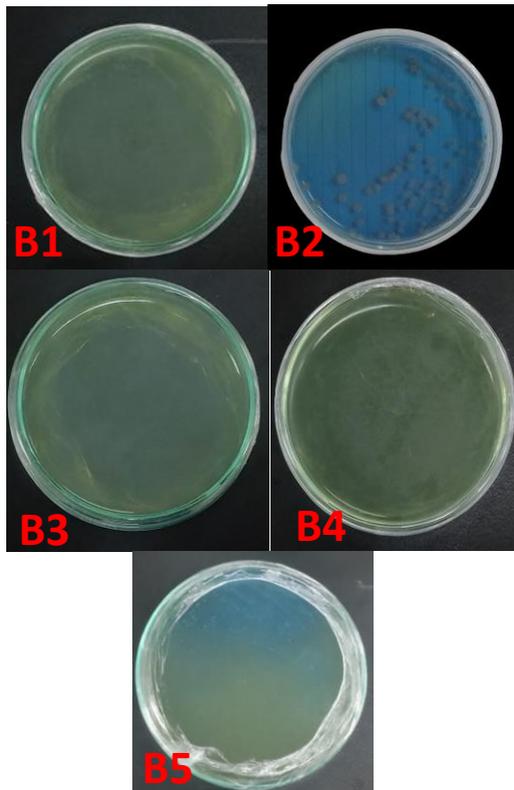
Gambar 4.4. Hasil uji katalase menunjukkan hasil positif pada semua isolat dengan ditandai adanya gelembung. (Dokumentasi Penelitian, 2024).



Gambar 4.5. Hasil uji Hidrolisis Gelatin yang diinkubasi selama 24 jam dalam media SCA. Hasil menunjukkan semua isolat positif ditandai dengan mencairnya media. (Dokumentasi Penelitian, 2024).

d. Uji *Simmons Citrate*

Selanjutnya dilakukan uji *simmons citrate* yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon



Gambar 4.6. Hasil uji *simmons citrate* yang diinkubasi selama 48 jam dalam media SCA. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna dari hijau menjadi biru.
(Dokumentasi Penelitian, 2024)

Hasil karakterisasi dari bentuk morfologi koloni, morfologi sel, dan uji biokimia dapat dilihat pada tabel 4.1 dibawah ini :

Tabel 4.1. Karakteristik isolat BAL dari usus ikan bawal

Karakteristik	B1	B2	B3	B4	B5
Bentuk Koloni	Circular	Filamentose	Circular	Circular	Circular
Warna koloni	Putih	Putih kekuningan	Putih	Putih	Putih
Elevasi	Convex	Umbonate	Convex	Convex	Convex
Tepian	Entire	Filamentouse	Entire	Entire	Entire
Bentuk sel	Cocco bacillus	Coccus	Cocco bacillus	Cocco bacillus	Bacil
Gram	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
Motilitas	-	-	+	+	+
TSIA	K/K	M/K	K/K	M/K	K/K
Katalase	+	+	+	+	+
Simmons citrate	-	+	-	-	+
MR-VP	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-
Hidrolisis gelatin	+	+	+	+	+
Genus	<i>Lacto bacillus</i>	<i>Entero coccus</i>	<i>Lacto bacillus</i>	<i>Lacto bacillus</i>	<i>Lacto bacillus</i>

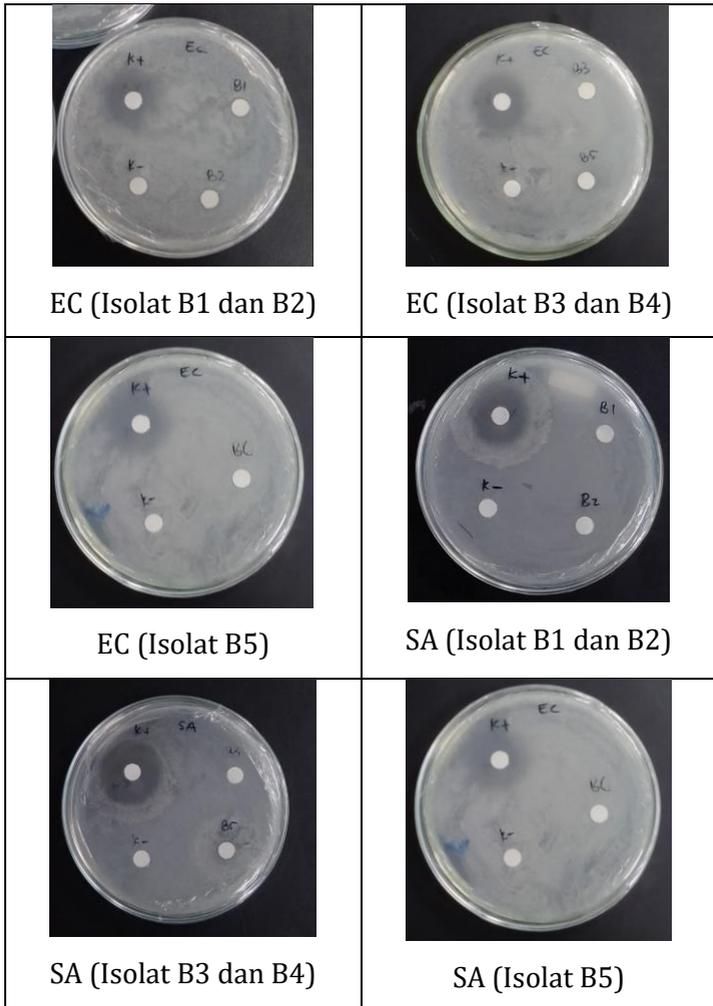
Keterangan : (-) = Negatif, (+) = Positif, (M) = Merah, (K) = Kuning

3. Aktivitas Antibakteri Isolat BAL terhadap Bakteri Patogen

Aktivitas antibakteri pada isolat BAL diuji kemampuannya untuk menghambat bakteri patogen *E.coli* dan *S.aureus* (Tabel 4.2). Diameter zona bening pada isolat B1, B2, B3, B4, dan B5 terhadap bakteri patogen berkisar antara 5,25 mm sampai 8,35 mm. Aktivitas antibakteri yang dapat menghasilkan zona bening antara 5-10 mm tergolong dalam kategori sedang. Sedangkan aktivitas antibakteri pada kontrol positif menggunakan cloramphenicol menghasilkan zona bening rata-rata 23,12 mm dimana aktivitas antibakteri yang menghasilkan zona bening >20 mm tergolong sangat kuat. Hasil pengukuran zona hambat dapat dilihat pada tabel 4.2 dibawah ini :

Tabel 4.2. Hasil pengukuran Zona Hambat

Isolat	Bakteri Patogen		Rata-rata	Keterangan aktivitas antibakteri
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>		
B1	8,28 mm	8,14 mm	8,21 mm	Sedang
B2	8,12 mm	7,38 mm	7,75 mm	Sedang
B3	7,77 mm	5,25 mm	6,51 mm	Sedang
B4	7,47 mm	7,98 mm	7,72 mm	Sedang
B5	8,16 mm	8,35 mm	8,25 mm	Sedang
K+	22,93 mm	23,26 mm	23,12 mm	Sangat Kuat



Gambar 4.7. Hasil Uji Antagonis. Isolat umur 24 jam dalam media MHA
(Dokumentasi Penelitian, 2024)

Isolat B1 memiliki diameter zona hambat terbesar yaitu sebesar 8,28 mm dan B5 memiliki zona hambat terkecil yaitu 7,47 mm terhadap penghambatan bakteri patogen *E.coli*. Sedangkan pada bakteri uji *S.aureus*, isolat yang memiliki zona hambat terbesar yaitu isolat B6 sebesar 8.35 mm dan zona hambat terkecil dimiliki oleh isolat B3 sebesar 5,25 mm.

B. Pembahasan

1. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Penelitian ini menggunakan sampel usus ikan bawal yang diambil dari tempat “budidaya ikan air tawar bunda nur” yang selanjutnya usus ikan bawal di isolasi untuk mendapatkan isolat bakteri asam laktat. Hasil yang diperoleh dari isolasi bakteri asam laktat pada media MRSA terdapat 5 isolat yaitu B1, B2, B3, B4, dan B5.

Media yang digunakan untuk isolasi BAL pada usus ikan bawal adalah media MRSA (de Man Rogosa Sharpe Agar). Media MRSA digunakan pada penelitian ini karena media ini merupakan media selektif untuk BAL. Media selektif digunakan untuk membiakkan dan memelihara bakteri tertentu agar dapat diseleksi untuk BAL dengan

sifat khususnya. Media selektif hanya memungkinkan bakteri tertentu untuk tumbuh (Mergypa,D., 2014).

Setelah mendapatkan isolat hasil inokulasi sampel, selanjutnya dilakukan proses pemurnian (purifikasi). Purifikasi merupakan proses pemisahan koloni bakteri sehingga didapatkan koloni tunggal. Berdasarkan hasil tahap isolasi terdapat beberapa koloni yang memiliki karakter morfologi yang berbeda.

2. Karakterisasi BAL

a. Uji TSIA

Berdasarkan tabel 4.1 dapat diketahui pada uji TSIA terdapat 3 isolat yaitu isolat B1, B3 dan B5 yang menunjukkan adanya fermentasi laktosa dan sukrosa. Sedangkan pada isolat B2 dan B4 menunjukkan adanya fermentasi glukosa. Semua isolat tidak menghasilkan gas dan H₂S yang ditandai dengan tidak terbentuknya gas pada dasar tabung reaksi dan juga tidak terbentuknya endapa hitam pada dasar media.

Uji TSIA bertujuan untuk membedakan berbagai jenis bakteri berdasarkan kemampuannya untuk memecah glukosa, laktosa, sukrosa, dan pembebasan sulfida. Uji TSIA juga bertujuan untuk menentukan bakteri tersebut menghasilkan gas hidrogen sulfida (H₂S). Media yang digunakan terdiri dari dua komponen: *slant* (miring) dan

butt (dasar) (Suprayitno *et al.* 2021). Perubahan warna merah dan kuning di bagian *butt* dan *slant* menunjukkan hasil tes yang positif; warna kuning pada dasar media (*butt*) menunjukkan bahwa itu bersifat asam, dan warna merah pada lereng (*slant*) menunjukkan bahwa itu bersifat basa.

Media TSIA dibuat dengan cara dituang miring untuk membentuk daerah miring dan tegak. Bagian lereng bersifat aerobik dan bagian tegak bersifat anaerobik. Indikator pH yang digunakan adalah fenol merah yang berwarna kuning bila pH kurang dari 6,8 (TSIA yang tidak digunakan berwarna merah karena pH 7,4). Isolasi bakteri pada media TSIA dilakukan dengan menggunakan jarum ose yang digoreskan pada permukaan miring dan ditusuk tepat di tengah media. Hasil pemisahan ditulis dengan menentukan hasil pada bagian lereng diikuti dengan garis miring (/) dan hasil pada bagian dasar. Reaksi yang dapat timbul antara lain :

- a. Lereng merah (-) / Dasar kuning (+) → -/+, menandakan adanya fermentasi glukosa
- b. Lereng kuning (+) / Dasar kuning (+) → +/+, fermentasi laktosa dan sukrosa

- c. Lereng merah (-) / Dasar merah (-) → -/-, tidak memfermentasi gula dan tidak membentuk gas ataupun H_2S
- d. Ruang udara dibawah medium → terbentuknya gas sehingga medium terangkat keatas
- e. Warna hitam pada medium → terbentuknya H_2S (Mahon CR, 2015).

Menurut Susanti,O (2020), Proses fermentasi pada media TSIA menghasilkan asam format yang teroksidasi sempurna menjadi gas hidrogen (H_2) dan karbon dioksida (CO_2) dengan bantuan enzim yang disebut format hidrogenase. Gas hidrogen tidak dapat larut dalam medium sehingga gas tersebut terakumulasi dalam bentuk gelembung di sepanjang jalur inokulasi antara medium dan tabung, atau di dasar tabung. Gas H_2 mampu mengakibatkan media terangkat atau rusak. Sebaliknya, gas CO_2 larut dalam medium dan tidak menimbulkan gelembung udara selama proses inokulasi. Hasil pengamatan pada pengujian TSIA menunjukkan tidak ada tanda-tanda media terangkat atau rusak, yang berarti isolat hanya menghasilkan gas CO_2 selama fermentasi dan tidak menyebabkan kerusakan pada medium.

b. Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan bakteri untuk bergerak di dalam media pertumbuhan (Sardiani *et al.*, 2015). Bakteri yang bersifat motil menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki flagela sebagai alat gerak, yang memberikan kemampuan bergerak. Biakan bakteri dimasukkan ke dalam medium agar tegak, yang dilakukan dengan menggunakan jarum enten (Panjaitan *et al.*, 2020).

Dari tabel 4.1 dapat dilihat bahwa isolat B1 dan B2 menunjukkan reaksi negatif yang menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut tidak bersifat motil. Sedangkan pada isolat B3, B4 dan B5 menunjukkan reaksi positif yang menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut bersifat motil. Reaksi positif pada uji motilitas terjadi ketika bakteri memiliki kemampuan bergerak atau menunjukkan pergerakan pada media tumbuh. Pada pengujian motilitas, biakan bakteri diinokulasikan secara tegak pada medium SIM dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C. Motilitas bakteri ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan pada permukaan medium dan tidak ada bekas pada tusukan atau menyebar. Jika bakteri menunjukkan pergerakan pada permukaan medium, maka hasil uji motilitasnya adalah positif. Jika bakteri

tidak menunjukkan pergerakan pada permukaan medium dan hanya tumbuh pada tusukan, maka hasil uji motilitasnya adalah negatif (Fallo *et al.* 2023).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Putra (2015), isolat BAL yang diisolasi dari berbagai sumber menunjukkan hasil uji motilitas yang berbeda-beda. Beberapa isolat BAL memiliki kemampuan bergerak secara aktif, sedangkan yang lainnya tidak memiliki kemampuan bergerak atau hanya memiliki kemampuan bergerak dalam jumlah yang terbatas. Hal ini menunjukkan bahwa isolat BAL yang diisolasi dari berbagai sumber memiliki sifat motilitas yang berbeda-beda.

c. Uji Katalase

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui sifat produksi katalase oleh bakteri. Menurut Lay (1994) keberadaan enzim katalase pada isolat bakteri dapat diketahui dengan menggunakan uji katalase. Enzim katalase bertanggung jawab untuk mengubah H_2O_2 menjadi air dan O_2 . Uji katalase dilakukan dengan cara koloni bakteri disuspensikan menggunakan jarum ose setelah larutan H_2O_2 3% diteteskan pada objek glass (Azimah, S.D., 2020). Hasil positif ditandai dengan

terbentuk gelembung, jika tidak terbentuk gelembung maka hasilnya negatif.

Berdasarkan tabel 4.1 dapat disimpulkan bahwa kelima isolat BAL menunjukkan hasil positif. Apabila terdapat gelembung pada saat H_2O_2 3% ditekan pada isolat BAL diatas objek glass, berarti ada pembentukan gas oksigen (O_2) akibat enzim katalase yang memecah H_2O_2 . Hasil uji katalase ini membuktikan bahwa isolat BAL dapat mensintesis enzim yang terlibat dalam pemecahan hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Katalase positif pada BAL berarti bahwa bakteri tersebut dapat menghancurkan hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh proses metabolisme, sehingga dapat berpotensi sebagai agen penghambat pertumbuhan bakteri lainnya.

Produksi katalase positif oleh beberapa bakteri, termasuk *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, dan *Pediococcus*, bergantung pada mikroba tertentu dan media pertumbuhan, (Putri *et al.* 2018). Media MRSA mengandung hematin yang memungkinkan bakteri mensintesis apoenzim, yang berhubungan dengan aktivitas sekresi H_2O_2 . Bakteri menghasilkan sejumlah produk sampingan, salah satunya adalah H_2O_2 , selama respirasi, enzim katalase menguraikan senyawa H_2O_2 .

Bakteri yang dapat mendegradasi hidrogen peroksida menggunakan enzim katalase dengan cepat membentuk sistem pertahanan terhadap toksik yang dihasilkan H_2O_2 . Hidrogen peroksida dapat direduksi menjadi H_2O dan oksigen oleh bakteri penghasil katalase. Keberadaan gelembung oksigen menandakan adanya aktivitas katalase positif (Mustaqim & Roza, 2014).

d. Uji *Simmons Citrate*

Uji sitrat menggunakan media agar sitrat Simmon dengan teknik gores dilanjutkan dengan inkubasi selama 48 jam pada suhu $35^{\circ}C$. Warna biru menunjukkan reaksi positif terhadap medium Simmon Sitrat dan hijau menunjukkan reaksi negatif (Sardiani et al., 2015). Kemampuan bakteri untuk menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi merupakan tujuan dari uji ini. Hasil positif ditandai dengan warna media yang berubah dari hijau menjadi biru. Penggunaan sitrat oleh bakteri mengakibatkan hilangnya asam dari kultur, yang menyebabkan meningkatnya pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru (Huda et al, 2013).

Berdasarkan tabel 4.1 menunjukkan bahwa hasil uji *Simmons Citrate* pada bakteri asam laktat (BAL) terdapat beberapa isolat BAL yang memiliki kemampuan

menggunakan sitrat sebagai sumber karbon yaitu pada isolat B2 dan B5, sedangkan isolat B1, B3, dan B4 menunjukkan reaksi negatif terhadap uji ini. Dalam pengujian ini, media yang mengandung sitrat ditambahkan ke dalam biakan BAL dan dinkubasi pada suhu 35°C selama 24-48 jam. Perubahan warna dari hijau ke biru menunjukkan bahwa beberapa isolat BAL dapat memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon, sebaliknya jika tidak ada perubahan warna yang terlihat pada isolat maka isolat tersebut tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

e. Uji MR-VP (Methyl Red Voges-. Proskauer)

Uji MR (*Methyl Red*) merupakan pengujian untuk mengetahui ada tidaknya fermentasi glukosa yang umumnya melalui jalur fermentasi asam campuran antara lain asam laktat, asetat, format, dan suksinat. Jika medium berubah warna menjadi kemerahan setelah diteteskan reagen metil merah ke dalamnya, berarti hasil uji positif. Awalia, F. (2017) menjelaskan bahwa warna kemerahan pada medium disebabkan oleh penurunan pH yang disebabkan oleh banyaknya senyawa asam yang dihasilkan dari proses fermentasi glukosa.

Bakteri sering kali menghasilkan asam laktat, asam asetat, asam suksinat, dan asam format ketika

memfermentasi glukosa pada media MR-VP. Akibat penumpukan asam ini, tingkat pH menjadi turun hingga 5 atau lebih rendah. Media yang mengandung asam-asam ini akan mengubah warna media menjadi merah jika ditambahkan indikator metil merah kedalam kultur. Hal ini membuktikan bahwa mikroba tersebut menghasilkan asam campuran. Tidak adanya cincin merah atau medium menjadi merah menandakan hasil negatif atau tidak adanya asam organik yang tersisa dalam media (Awalia, F. 2017).

Uji VP (Voges Preskauer) bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa melalui jalur butanediol menjadi asetilmetilkarbinol (produk akhir yang netral). Uji VP dilakukan dengan penambahan reagen Barritt's A (α -naphthol) dan Barritt's B (kalium hidroksida). Tujuan lain dari pengujian ini adalah untuk menemukan mikroba yang memfermentasi karbohidrat dan membuat 2,3-butadiol, yang kemudian disimpan oleh media pertumbuhan. Asetoin (asetilmetilkarbonil), bahan kimia pertama dalam sintesis 2,3-butanadiol, diverifikasi keberadaannya Penambahan 40% KOH dan 5% α -naftol dalam etanol menegaskan adanya asetoin. Apabila kalium hidroksida (KOH) ditambahkan dan media menjadi merah muda,

menunjukkan bahwa terdapat asetoin. Penambahan α -naftol membuat perubahan warna ini lebih nyata. Hasil reaksi menjadi lebih jelas ketika sebagian dari 2,3-butanediol dioksidasi kembali menjadi asetoin, yang menyebabkan perubahan warna yang lebih nyata pada media kultur ketika bersentuhan dengan udara. Hasil uji MR-VP dapat dilihat pada tabel 4.3.

Semua isolat mempunyai hasil uji MR positif, seperti ditunjukkan pada tabel 4.3. Sementara itu, isolat B1 dinyatakan positif pada uji VP, sedangkan empat isolat lainnya negatif.

f. Uji Hidrolisis Gelatin

Gelatin merupakan protein yang terbentuk dari proses pemecahan kolagen, yaitu komponen utama jaringan ikat pada manusia dan hewan. Ketika suhu di bawah 25°C, gelatin mempertahankan keadaan gelnya, berupa bentuk padat. Pada suhu di atas 25°C, gelatin berbentuk cair. Proses pencairan ini terjadi karena adanya mikroorganisme tertentu yang menghasilkan enzim proteolitik diluar sel yang dikenal sebagai gelatinase. Enzim ini berperan dalam memecah protein menjadi asam amino (Cappuccino & Sherman, 2013).

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis struktur gelatin menjadi

monomer-monomer penyusunnya (Lubis, S., 2018). Hasil positif apabila gelatin tetap cair pada suhu rendah, itu tandanya prosesnya berhasil. Namun jika hasilnya negatif berarti gelatin mengeras pada suhu ruang.

Berdasarkan gambar 4.5 menunjukkan bahwa setelah 30 menit inkubasi pada suhu 10°C, media nutrien gelatin menjadi cair, menunjukkan bahwa kelima isolat beraksi positif yaitu dapat menghidrolisis gelatin. Perubahan bentuk gelatin tersebut dikatalisis oleh enzim gelatinase yang diproduksi oleh bakteri.. Berbagai asam amino, termasuk asam aspartat, arginin, alanin, glisin, prolin, hidroksiprolin, dan asam glutamat, membentuk struktur kuaterner gelatin, yang didegradasi oleh enzim ini.

g. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis BAL

Setelah prosedur pemisahan, isolat yang berbeda dipilih untuk pengamatan makroskopis. Tujuan melakukan pengamatan makroskopis adalah untuk mengetahui morfologi permukaan, warna, dan bentuk koloni. Koloni berbentuk bulat, dengan batas terlihat, berwarna putih atau agak putih kekuningan kemungkinan besar merupakan BAL. Warna media yang berubah menjadi kuning muda (atau putih susu) menunjukkan adanya koloni bakteri asam laktat. Bakteri

asam laktat yang telah diisolasi dan memiliki bentuk koloni yang sama dianggap satu jenis (Zahro, F., 2014).

Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan bahwa pada isolat B1 dan B3 mempunyai bentuk koloni bulat (circular) dengan warna putih susu dan memiliki bentuk tepi entire (rata). Isolat B4 dan B5 mempunyai bentuk koloni bulat (circular) dengan warna putih dan memiliki bentuk tepi rata. Sedangkan hasil pengamatan makroskopis pada isolat B2 terdapat koloni berbentuk filamentouse berwarna putih kekuningan dengan elevasi koloni dari isolat B2 berbentuk cembung dengan bagian tengah lebih menonjol. Sedangkan pada isolat B1, B3, B4, dan B5 memiliki permukaan convex, yaitu berbentuk cembung. Bentuk koloni isolat B2 menyebar dan memiliki diameter lebih besar, sedangkan isolat B1, B3, B4, dan B5 menyebar dan memiliki diameter koloni lebih kecil.

Khaerunnisa *et al* (2019) menyatakan bahwa pengamatan makroskopis suatu koloni meliputi bentuk, permukaan, tepi, dan warnanya. Bakteri termasuk kelompok prokariota karena bakteri tidak memiliki organel yang kompleks dan menunjukkan struktur dinding sel yang berbeda (Bergey's Handbook of Bacteriology 1994). Oleh karena itu, penting untuk

mengetahui perbedaan antara empat jenis bakteri utama: bakteri yang memiliki dinding sel (Gram positif dan Gram negatif), bakteri tanpa dinding sel (Archaea), dan bakteri berdinding sel tidak sempurna.

Pewarnaan Gram digunakan untuk karakterisasi mikroskopis setelah pengamatan makroskopis selesai. Metode pewarnaan Gram dapat membedakan berbagai jenis bakteri dengan menganalisis struktur dinding selnya. Lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri Gram positif lebih tebal dibandingkan bakteri Gram negatif. Dinding sel bakteri Gram positif mengandung asam teichoic, zat unik yang menyumbang setengah dari berat keringnya (Fallo, G., et al., 2021). Komponen ini mencegah autolisis dan menjaga membran sel tetap permeabel dengan mengatur transpor ion dan menjaga integritas dinding sel. Bakteri Gram-positif memiliki kemampuan bertahan hidup dalam saluran pencernaan dari segi morfologi dan biokimia dan kemampuan ini menjadi dasar untuk memilihnya sebagai probiotik.

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa kelima isolat tersebut merupakan bakteri Gram positif, yang diidentifikasi dari karakteristik warna ungunya. Hal ini disebabkan karena bakteri ini mempunyai dinding peptidoglikan yang tebal. Akibatnya, jika diberi alkohol,

dinding sel bakteri menjadi lebih permeabel, sehingga menyebabkan pori-pori sel mengecil dan mencegah lepasnya pewarna utama kristal violet (Yusra, Y., dkk, 2014).

Karakterisasi tingkat genus dapat diketahui dengan pengamatan bentuk sel serta susunan dari isolat bakteri yang ditemukan. Berdasarkan hasil penelitian ini telah ditemukan 5 isolat BAL yang didapat dari isolasi usus ikan bawal. Pada isolat B1, B3, B4, dan B5 menunjukkan bahwa isolat tersebut diduga merupakan genus *Lactobacillus*. Sedangkan isolat B2 diduga merupakan genus *Enterococcus*. Hasil karakterisasi tersebut mirip dengan penelitian Irwansyah, I., (2018) & Putri, A. A., *et al.* (2018) yang menemukan isolat BAL genus *Lactobacillus* dengan karakteristik memiliki bentuk koloni circular dengan warna putih hingga kekuningan, bersifat nonmotil, uji MR positif dan uji VP negati, merupakan bakteri gram positif, dan mampu memfermentasikan laktosa dan sukrosa.

Hasil penelitian ini diketahui bahwa isolat B2 diduga merupakan genus *Enterococcus*. Hal ini didasarkan dengan membandingkan karakteristik morfologi koloni, bentuk sel, dan kemampuan isolat BAL dalam memfermentasikan beberapa jenis karbohidrat untuk

mengetahui dan menyesuaikan karakteristik terhadap genus *enterococcus*. Hasil karakteristik bakteri asam laktat genus *Enterococcus* dari usus ikan bawal yaitu, koloni berbentuk filamentouse, bentuk sel coccus, gram positif, nonmotil, memproduksi asam dari fermentasi karbohidrat jenis laktosa, bereaksi positif pada uji MR dan negatif pada uji VP, bereaksi positif pada uji hidrolisis gelatin dan uji sitrat. Hasil ini mirip dengan pernyataan Irwansyah, I., (2018) yang menyatakan bahwa, *Enterococcus* mengandung morfoogi sel bulat, tidak bergerak, menghasilkan asam dari fermentasi karbohidrat jenis laktosa, bersifat gram positif untuk pewarnaan, dan memberikan respons negatif terhadap uji katalase.

3. Uji Aktivitas Antibakteri Isolat BAL dari Usus Ikan Bawal Terhadap Bakteri Patogen.

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kelima isolat dalam menghambat bakteri patogen seperti *E. coli* dan *S. Aureus*. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif dalam uji ini. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk setelah 24 jam inkubasi pada suhu 35°C dan untuk menguji efektifitas BAL sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

dan *Escherichia coli*, maka hasil pengukuran dibandingkan dengan kontrol positifnya.

Interaksi antara isolat bakteri asam laktat mendorong perkembangbiakan bakteri patogen, yang menyebabkan terbentuknya zona hambat. Menurut Situmeang (2017), bakteri patogen akan rusak struktur dinding selnya atau dihancurkan oleh enzim hidrolitik yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat.

Peningkatan total asam laktat menyebabkan zona bening lebih luas dan akan menghambat perkembangan bakteri patogen. Perubahan konsentrasi atau laju difusi bahan aktif antibakteri dapat mempengaruhi besarnya zona hambat pada konsentrasi yang berbeda. Menurut Afriani *et al.* (2017), potensi antibakteri akan meningkat dan zona hambat semakin besar seiring dengan peningkatan konsentrasi antimikroba karena difusi terjadi lebih cepat pada konsentrasi yang lebih tinggi. Konsentrasi asam laktat yang lebih tinggi dihasilkan ketika BAL semakin banyak tumbuh (Datta, F.U., *et al* 2017).

Perbedaan zona hambat yang terjadi antara bakteri hasil isolasi pada saat melakukan penghambatan terhadap bakteri patogen kemungkinan disebabkan oleh variasi komponen aktif yang dihasilkan oleh BAL.

Besar kecilnya zona hambat yang dihasilkan isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Hal ini meliputi produktivitas bakteri dalam menghasilkan senyawa aktif dan enzim hidrolitik, umur kultur, jumlah bakteri, jumlah zat aktif yang dihasilkan, komposisi media, dan waktu inkubasi. Ketika isolat bakteri mendekati fase kematian, pengurangan zona hambat juga mungkin terjadi akibat kurangnya sumber nutrisi dalam medium (Situmeang., 2017).

Efektivitas molekul bioaktif dalam mencegah pertumbuhan mikroba dapat mempengaruhi luasnya zona penghambatan. Semakin besar zona hambat menunjukkan senyawa bioaktif semakin efektif (Adam *et al.*, 2014). Namun, kecilnya zona hambat bukan berarti senyawa tersebut tidak efektif, melainkan konsentrasinya terlalu rendah untuk mencegah pertumbuhan mikroba secara efektif.

Senyawa antibakteri yang dihasilkan BALL menunjukkan zona bening ang jelas akibat aktivitas bakteriosin dan inaktivasi tunggal, dimana satu molekul bakteriosin membunuh sel bakteri indikator. Selain itu, bakteriosin menghambat pembentukan peptidoglikan utuh, yang menyebabkan degradasi dan lisis dinding sel

bakteri. Penumpukan metabolit utama seperti laktat, etanol, dan karbon dioksida, atau metabolit sekunder seperti hidrogen peroksida dan bakteriosin merupakan penyebab dari aktivitas penghambatan yang terjadi melalui akumulasi metabolit primer. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Datta, F.U., *et al.* (2019), aktivitas zona hambat diklasifikasikan menjadi empat kelompok yaitu aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (>20 -15 mm). Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa BAL memiliki aktivitas zona hambat sedang terhadap bakteri patogen, sedangkan pada kontrol positif dengan menggunakan kloramfenikol termasuk dalam kategori aktivitas zona hambat sangat kuat. Bakteriosin merupakan senyawa protein yang disekresikan oleh bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri penyebab penyakit, termasuk *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, seringkali rentan terhadap penghambatan karena tidak stabil dan tidak dapat berkembang dalam kondisi media pertumbuhan tertentu. Hal ini karena bakteriosin bersifat fleksibel dan stabil pada rentang pH dan suhu yang cukup luas (Rohman, 2017).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Isolat bakteri asam laktat yang didapat dari hasil isolasi usus ikan bawal didapatkan 5 isolat BAL yang diberi kode B1, B2, B3, B4, dan B5 yang dimana isolat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan kategori aktivitas penghambatan sedang yang berarti isolat BAL tersebut berpotensi sebagai penghasil antibiotik alami.
2. Berdasarkan hasil isolasi dan karakterisasi yang dilakukan dapat diketahui bahwa isolat bakteri asam laktat B1, B2, B3, B4, dan B5. Isolat B1, B2, B3, B4, dan B5 mampu menghambat *Escherichia coli* yaitu sebesar 8.28 mm, 8.12 mm, 7.77 mm, 7.47 mm, dan 8.16 mm. Isolat BAL yang diperoleh juga dapat menghambat *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 8.14 mm, 7.38 mm, 5.25 mm, 7.98 mm, dan 8.35 mm.

B. Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi secara spesifik strain bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus ikan bawal dan potensinya sebagai penghasil antibiotik.
2. Disarankan untuk melakukan penelitian tentang aplikasi isolat bakteri asam laktat sebagai antibiotik alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen pada hewan dan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adorján, A., Thuma, Á., Könyves, L., & Tóth, I. (2021). First isolation of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* from geese (*Anser anser domestica*) and first description of atypical EPEC from turkeys and pigeons in Hungary. *BMC Veterinary Research*, 17(1).
- Alputra, M. H., Putriningtias, A., & Fauzan Isma, M. (2022). Effect Of Different Stocking Densities On Survival And Growth Of Pomfret (*Colossoma macropomum*). *Jurnal Ilmiah Samudra Akuatika*, 1(1), 36–45.
- Ambar, A. (2014). Kantong tebal berkat moster bawal. Yogyakarta: Pustaka Baru press.
- Anggraini, L. (2019). Penerapan metode certainty factor pada sistem pakar dalam mendiagnosa penyakit ikan bawal. Phasti: *Jurnal Teknik Informatika Politeknik Hasnur*, 5(02), 1-8.
- Anggraini R, Salim M, Mardiah E. (2013). Uji bakteri *Escherichia coli* yang resisten terhadap antibiotik pada ikan kapas-kapas di sungai batang arau padang. *J Kimia Unand* 2(2): 17- 21.
- Atun, S., (2014) "Metode isolasi dan identifikasi struktur senyawa organik bahan alam." *Jurnal konservasi cagar budaya borobudur* 8.2: 53-61.

- Awalia, F., (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibiotik Bakteri Asam Laktat pada Usus Ayam Bangkok (*Gallus domestus*). Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- AZIMAH SOLEHA, D. (2020). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Biopolimer Poli (3-Hidroksibutirat) Dari Sampel Tanah Di Daerah Tambang Batubara, Bengkulu Utara (Doctoral dissertation, Upertis).
- Booth, IR dan RG Kroll. (1989). *The Preservation of Food by Low pH: Editor: Gould GW. Mechanism of Action of Food Preservation Prosedures*. London: Elsevier Applied Science.
- Bukhori, A. (2018). Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Saluran Pencernaan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Kemampuannya Dalam Menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Shigella sp.*
- Datta, F. U., Daki, A. N., Benu, I., Detha, A. I. R., Foeh, N. D., & Ndaong, N. A. (2019). Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat cairan rumen terhadap pertumbuhan *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumur agar. *Jurnal Kajian Veteriner*, 66-85.

- Desmonda, B. A. (2023). Sinergisme Bakteri Asam Laktat (BAL) Dengan Penambahan Prebiotik Jahe, Dan Kunyit.
- Dewi, L. F., Sartini, S., & Rahmiati, R. (2019). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Sapi (*Bos taurus*) serta Kemampuannya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli* dan *Shigella sp.* Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA), 1(1), 21-27.
- Fallo, G., Banusu, M. S., Pardosi, L., & Tefa, A. (2023). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Rhizhosfer Dari Tanaman Kacang Gude (*Cajanus cajan L*) Sebagai Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) Dan Aplikasinya Pada Benih Padi (*Oryza sativa L*). Berita Biologi, 22(1), 129-138.
- Fallo, G., Sine, Y., & Tael, O. (2021). Isolasi dan karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada air rendaman kacang tunggak (*Vigna unguiculata (L.) Walp*) berpotensi sebagai penghasil antibiotik. Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha, 8(3), 161-169.
- Firliani,W, Agustien, A., dan Febria, F. (2014) Karakteristik Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Netral. *Jurnal Biologi*, 4(1): 9-14.
- Gupte, S. 1990. Microbiology.Govt Medical Collage and Association Hospital Jammu180001. Kashmir. India.

- Hasanah, U. (2014). Bakteri Asam Laktat dari Daging Ikan Pedas Sebagai Agen Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera*, 12(23):1-8.
- Hilda, Berliana. (2015). Pola Resistensi Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa* Terhadap Berbagai Antibiotik. *Jurnal Mahakam Husada* 4(1): 11-17.
- Huda, W. N., W. Atmaka dan E Nurhartadi. (2013). Kajian Karakteristik Fisik dan kimia Gelatin Cairan Tulang Kaki Ayam (*Gallusgalus bankiva*) dengan Variasi lama Perendaman dan Kosentrasi Asam. *Jurnal Teknosains Pangan* (3) 70-75.
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *In Journal of Applied Microbiology* (Vol. 123, Issue 3, pp. 570–581).
- Khaerunnisa, R., Kurniati, I., Nurhayati, D., & Dermawan, A. (2019). Pemanfaatan air rebusan umbi kuning dan ungu sebagai media alternatif pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 11(1), 269-276.

- Khairuman. Dan K. Amri. (2008). *Buku Pintar Budidaya 15 Ikan Konsumsi*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 359 hal.
- Kurniasih, D.S. (2015). Pengaruh Pemberian Kombinasi Tepung Pellet dengan Tepung Maggot terhadap Pertumbuhan Ikan Bawal Air Tawar (*Collossoma macropomum*). Skripsi. Pendidikan Biologi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Purwokerto. 67 hal.
- Kusuma, S. (2009). *Staphylococcus aureus*. Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Lazado CC, Caipang CMA (2014) Mucosal immunity and probiotics in fsh. Fish Shellfish Immun 39:78-89.
- Lestari, L.A dan Helmyati, S. (2015). Peran Probiotik Di Bidang Gizi & Kesehatan. UGM Press, Yogyakarta.
- Lim, J. Y., Yoon, J. W., & Hovde, C. J. (2013). A Brief Overview of *Escherichia coli* O157:H7 and Its Plasmid O157. *Microbiol Biotechnol*, 20(1), 5-14.
- Lubis, S., & Riwayati, I. (2015). Seleksi dan karakterisasi bakteri endofit dari tumbuhan Raru (*Cotilelobium melanoxyton*) pendegradasi selulosa. *J Biosains*, 1(3), 100-105.
- Lutfiah, N. A. (2015). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada susu kambing saanen (*Capra aegagrus H.*)

- (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Mahyuddin. (2011). *Usaha pembenihan ikan bawal diberbagai wadah. Jakarta*. Penebar Swadaya.
- Malelak, M. C. C., Wuri, D. A., & Tangkonda, E. (2015). Tingkat Cemaran *Staphylococcus aureus* pada Ikan Asin di Pasar Tradisional Kota Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3(2), 147-163.
- Mergypta, D., Budiharjo, A., & Kusdiyantini, E. (2014). Isolasi, karakterisasi bakteri asam laktat, dan analisis proksimat dari pangan fermentasi rusip ikan teri (*Stolephorus sp.*). *Jurnal Akademika Biologi*, 3(2), 11-19.
- Nujanah, G. S., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2020). Kajian Pustaka: Resistensi *Escherichia coli* Terhadap Berbagai Macam Antibotik pada Hewan dan Manusia. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(6), 970-983.
- Pelczar, MC, ECS Chan dan Krieg NR. (1993) *Microbiology Concepts and Applications*. McGraw-HM, Inc., New York.
- Putri, M. R. A., & Tjahjo, D. W. H. (2010). Analisis Hubungan Panjang Bobot Dan Pendugaan Parameter Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Waduk Ir.H.Djuanda. *BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap*, 3(2), 85-92.

- Putri, A. L., & Kusdiyantini, E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (*Inasua*) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli : Patogenitas, Analisis dan Kajian Risiko*. IPB Press.
- Rasyid, B., Karta, I. W., Sari, N. L. P. E. K., & Putra, I. G. N. D. (2020). Identifikasi GEN Penyandi Protein Transport Sebagai Kandidat Vaksin Subunit Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penyebab Diare Wisatawan. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, 9(1), 47-57.
- Rohman, (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Bekasam Ikan Pati (*Pangasius hypophthalmus*) Terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus sp.* Skripsi. Universitas Lampung. Hal : 1-50.
- Ridha MT, Azad IS (2016) Effect of autochthonous and commercial probiotic bacteria on growth, persistence, immunity and disease resistance in juvenile and adult Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquac Res* 47:2757–2767.
- Rinto, Sasanti, A.D., dan Fitria, K. (2012). Aktivitas Penghambat Isolat Bakteri Asam Laktat Ikan Nila dan Tongkol

- Terhadap Bakteri Merugikan Produk Perikanan. *Masyarakat Hasil Perikanan Indonesia*, 15(2):94-100.
- Romadhon, Subagiyo, dan Margino, S. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saintek Perikanan*, 8(1):59-64.
- Sabbathini, G. C., & Pujiyanto, S. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Genus *Sphingomonas* Dari Daun Padi (*Oryza sativa*) Di Area Persawahan Cibinong. *Jurnal Akademika Biologi*, 6(1), 59-64.
- Sardiani N., Litaaly M., Budji R.G., Priosambodo D., Syahribulan and Z Dwiwana., (2015) Potensi Tunikata Rhopaleae sp Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Anti Bakteri : 1 Karaktersisasi Isolat, *Jurnal Alam dan Lingkungan*, 6- (11):1-10.
- Shen, Y. B., G. Voilqué, J. D. Kim, J. Odle dan S. W. Kim. (2012). Effects of increasing tryptophan intake on growth and physiological changes in nursery pigs. *Journal of Animal Science*. 90: 2264±2275.
- Situmeang, S.M.F, Musthari dan Riadi, S. (2017). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (Bal) Dari Yoghurt Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri

Escherichia Coli dan *Salmonella Typhi*. Jurnal Biosains. 3(3):144-152.

Sopandi, T dan Wardah. 2014. *Mikrobiologi Pangan*. Penerbit ANDI, Yogyakarta

Subagiyo, S., Margino, S., & Triyanto, T. (2016). Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Sumber Karbon, Nitrogen Dan Fosfor pada Medium deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Terpilih Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Penaeid. Jurnal Kelautan Tropis, 18(3), 127-132.

Suprayitno, E., Sulistiyati, T. D., Panjaitan, M. A. P., Tambunan, J. E., Djamaludin, H., & Islamy, R. A. (2021). Biokimia Produk Perikanan. Universitas Brawijaya Press.

SUSANTI, Octaviani (2020). Gambaran Hasil Identifikasi Bakteri *Shigella* Sp Pada Feses Balita dan Anak.

Susilawati, S. (2016). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Air Cucian Beras. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.

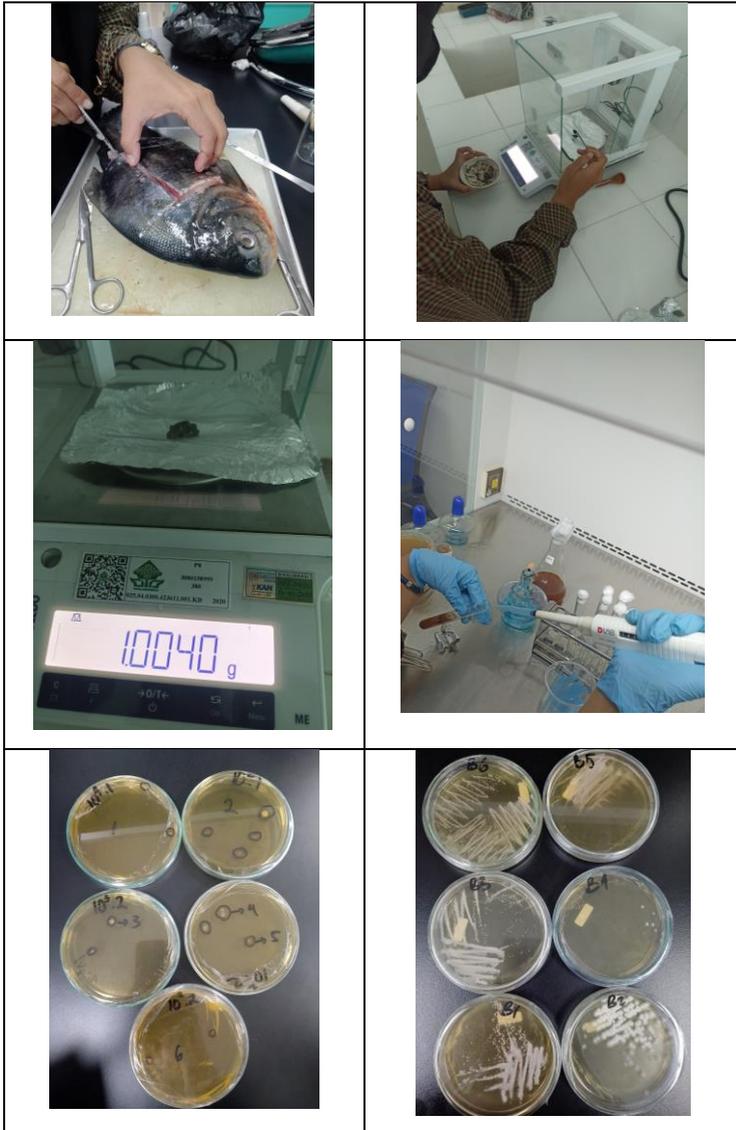
Tambunan, A.R. (2016). Karakteristik Probiotik Berbagai Jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas. Skripsi Universitas Lampung, Bandar Lampung.

Taufiq, T., Firdus, F., & Arisa, I.I. (2016). Pertumbuhan Benih Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*) Pada

- Pemberian Pakan Alami Yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 1(3) : 355-365.
- Ummamie, L., Rastina, Erina, T.R. Ferasyi, Darniati, dan Al Azhar. (2017). Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada Keumamah di Pasar Tradisional Lambaro, Aceh Besar. *JIMVET*, 1(3): 574-583.
- Usman, Y., & Baharuddin, M. (2023). Uji stabilitas dan aktivitas sabun mandi cair ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana mill.*). *Jurnal MIPA*, 12(2), 43-49.
- Widodo. (2017). Bakteri Asam Laktat Strain Lokak Isolasi Sampai Aplikasi Sebagai Probiotik dan Starter Fermentasi Susu. UGM Press, Yogyakarta.
- Yulvizar, Cut. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik Pada *Rastrelliger sp.* *Biospecies*, 6(2):1-7.
- Zahro, F. (2014). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat asal fermentasi karkisa ungu (*Passiflora edulis var. sims*) sebagai penghasil eksopolisakarida (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

LAMPIRAN

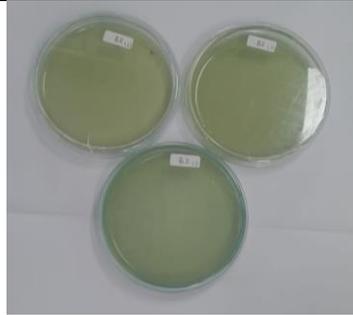
Lampiran 1. Isolasi dan purifikasi BAL dari usus ikan bawal



Lampiran 2. Uji Biokimia



Uji hidrolisis gelatin



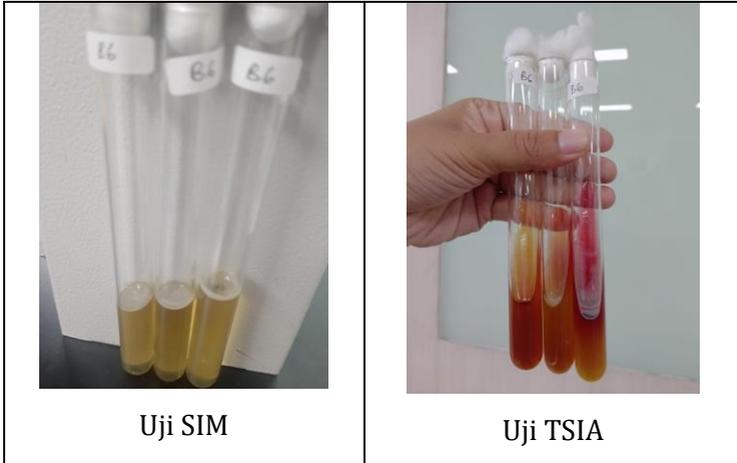
Uji Simmons citrate



Uji VP



Uji MR



DAFTAR RIWAYAT HIDUP**A. Identitas Diri**

Nama Lengkap : Dwi Lustianah
Tempat Tanggal Lahir : Brebes, 18 April 2001
Alamat : Dk. Karang Dondoman 3,
Rt.007/010, Desa Pruwatan,
Kec. Bumiayu, Kab.Brebes
No. Telepon : 082329107324
Email : dwilustianah3@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Pruwatan 03 Lulus tahun 2014
2. SMPN 2 Bumiayu Lulus tahun 2017
3. MAN 2 Brebes Lulus tahun 2020

Semarang, 25 Juni 2024

Dwi Lustianah

NIM.2008016004