



**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERI ASAM LAKTAT CAIRAN
RUMEN TERHADAP PERTUMBUHAN *Salmonella* Enteritidis, *Bacillus*
cereus, *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* MENGGUNAKAN
METODE DIFUSI SUMUR AGAR**

*(Identification of antimicrobial activity of lactic acid bacteria from rumen fluid on
pathogenic bacteria salmonella Enteritidis, Bacillus cereus, Escherichia coli and
Staphylococcus Using Agar Well Diffusion)*

**Frans U. Datta¹, Angela Novita Daki^{2*}, Imanuel Benu³, Annytha I .R. Detha⁴,
Nancy D. F. K. Foeh⁵, Nemay A. Ndaong¹**

¹Laboratorium Anatomi, Fisiologi, Farmakologi dan Biokimia, Fakultas
Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

²Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

³Fakultas Peternakan Universitas Nusa Cendana

⁴Laboratorium Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

⁵Laboratorium Klinik, Reproduksi, Patologi dan Nutrisi, Fakultas Kedokteran
Hewan Universitas Nusa Cendana

*Korespondensi : angelanovita04@gmail.com

Abstract

Rumen liquid is a waste product of slaughterhouse that has the potential to be a pollutant, contains lactic acid bacteria which can be used as bio preservatives in food. The purpose of this study was to identify the antimicrobial activity of lactic acid bacteria (LAB) isolates from rumen fluid against Gram positive and Gram negative bacteria using well diffusion and disc diffusion methods and using lactic acid bacteria isolates (supernatant) and non-filtrate from rumen fluid. The main research materials used were LAB rumen fluid isolates, MRSA media (*Mann Rogosa Sharpe Agar*), MRSB media (*Mann Rogosa Sharpe Broth*), MHA media (*Muller Hinton Agar*), and pathogenic bacteria *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella* Enteritidis. The results of the study showed that the LAB of rumen fluid carried out as an active LAB with Gram positive characteristics, round shape, negative catalase and non motile. Based on the results of testing the antimicrobial activity of lactic acid bacteria from rumen fluid isolates against pathogenic Gram positive (*B. cereus* and *S. aureus*) and Gram negative bacteria (*Escherichia coli* and *Salmonella* Enteritidis) using well and disc diffusion methods showed that Gram negative bacteria were more sensitive to antimicrobial of LAB compared to Gram positive bacteria. The diameter of the larger inhibition zone is produced using the disc method with the inhibition zone diameter range of 13.66-28.3 mm, while the well method ranges from 0-24.2 mm. The antimicrobial activity of LAB using non filtrate BAL produce inhibition zone diameter size range of 0-26.1 mm, while the filtrate BAL produce inhibition zone diameter range of 0-28.3 mm with the optimum time to produce antimicrobial activity 48 hours compared to 24 hours after incubation.



Keywords: rumen fluid, lactic acid bacteria, antimicrobial activity, pathogenic bacteria

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu bakteri yang memiliki kontribusi besar dalam dunia pangan. Pemanfaatan BAL secara luas dikarenakan BAL dipercaya mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen, meningkatkan cita rasa, aroma dan warna yang baik sehingga dapat dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan saluran pencernaan serta dapat diisolasi dari berbagai bahan alami seperti buah-buahan, sayuran, produk hasil fermentasi dan saluran pencernaan baik manusia maupun hewan (Fachrial *et al.*, 2018).

Saluran pencernaan manusia ataupun hewan diperkirakan mengandung flora normal sampai 10^{12} bakteri per Gram isi saluran cerna dan terdiri atas 500 *species* yang sebagian besar merupakan BAL (Drasar dan Hill, 1974 dalam Salminen dan Wright, 1998; Gorbach, 2001). Menurut Suardana dan Suarsana (2007) BAL dapat ditemukan pada cairan rumen sapi bali seperti *Lactobacillus lactis* dan *Lactobacillus brevis*. Cairan rumen merupakan salah satu limbah rumah potong hewan (RPH) yang keberadaannya belum dimanfaatkan secara optimal dan memiliki potensi sebagai polutan.

BAL isolat cairan rumen dapat digunakan sebagai sumber biopreservatif (Suardana dan Suarsana 2007). Biopreservatif merupakan bahan pengawet pangan alami yang berasal dari mikroba seperti bakteri asam laktat karena mampu menghasilkan zat metabolit sekunder yang cenderung tidak berbahaya dan memiliki efek menekan pertumbuhan bakteri lain yang bersifat merugikan (Purnama, 2011). Penelitian lain yang dilakukan oleh Mala (2018) menyatakan bahwa isolat cairan rumen mampu menghasilkan BAL yang dapat digunakan untuk proses fermentasi pakan hewan (silase). Penambahan biopreservatif pada bahan pangan maupun pakan pada hewan diharapkan mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen yang dapat mempengaruhi kualitas dan kuantitas pakan serta mampu memperpanjang masa simpan pakan. BAL mampu menghasilkan senyawa-senyawa tertentu selain asam laktat dan asam asetat (asam organik) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain. Senyawa-senyawa antimikroba yang dihasilkan BAL meliputi produksi asam laktat dan penurunan pH, produksi asam asetat, diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin (Ravindran *et al.*, 2016).

Hasil penelitian yang dilaporkan oleh Suardana dan Suarsana (2007) menyatakan bahwa dari cairan rumen ditemukan sekitar 100 isolat BAL yang memiliki kemampuan antimikroba yang cukup luas baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Namun, informasi terkait aktivitas antimikroba BAL dari cairan rumen terhadap bakteri patogen masih sangat minim, hal ini yang mendasari peneliti dalam melakukan penelitian yang berjudul “ **Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Cairan Rumen terhadap**



Pertumbuhan *Salmonella* Enteritidis, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Metode Difusi Sumur Agar”

MATERI DAN METODE

Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan antara lain cawan petri, ose, lampu spritus, tabung duram, gelas ukur, aluminium foil, mikroskop, cover gelas, objek gelas, timbangan digital, gelas *beaker*, batang L, mikropipet, pipet, kertas label, masker, dan sarung tangan, *autoclav*, rak tabung, kapas, kulkas, inkubator, *sentrifuge*, kertas saring (membran milipore), corong, perfolator steril, jangka sorong, batang pengaduk.

Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan antara lain cairan rumen, media MRS (*De Man-Rogosa-Sharpe*) agar, media MRS (*De Man-Rogosa-Sharpe*) broth, larutan PBS (*phosphate buffer saline*), media Nutrien Agar (NA), Media *Muller Hinton* Agar (MHA), larutan *buffer*, larutan kristal violet, NaCl fisiologis, alkohol 96%), Aquades, standar 0,5 *Mc Farland*, Larutan Iodin, Safranin, minyak emersi, H₂O₂ 3% (Hidrogen peroksida), cakram antibiotik chloramphenicol.

Metodologi Penelitian

Peremajaan Bakteri Asam Laktat

Peremajaan BAL dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL isolat BAL dari larutan prebiotik yang telah ada diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisikan 9 mL MRS Broth, lalu dicampurkan sehingga diperoleh pengenceran 10⁻¹ hingga 10⁻⁵. Selanjutnya sebanyak 1 mL sampel dari pengenceran 10⁻⁵ diambil menggunakan mikropipet, lalu disebar ke dalam cawan petri yang telah berisi media MRS agar menggunakan batang L kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 48 jam. Setelah 48 jam koloni isolat BAL yang tumbuh dari diambil dan ditanam dalam cawan petri serta agar miring yang berisi media MRS agar menggunakan teknik gores. Cawan petri dan media agar miring kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh dan menunjukkan hasil positif diambil menggunakan ose steril dan dimasukkan dalam MRS Broth yang disimpan dalam tabung duram steril 250 mL. Media MRS Broth yang telah berisi bakteri asam laktat kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 48 jam.

Uji Konfirmasi Isolat Bakteri Asam Laktat

Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Pewarnaan Gram

Isolat dari agar miring diambil satu ose, dibuat preparat ulas pada gelas objek, lalu difiksasi di atas api bunsen. Preparat ditetesi dengan larutan kristal ungu, didiamkan selama 60 detik dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.



Preparat ditetesi dengan larutan iodin dan didiamkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan alkohol 96% sampai warna ungu hilang. Preparat ditetesi safranin dan didiamkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat ditetesi dengan minyak emersi. Preparat diamati dengan mikroskop, uji gram positif jika sel berwarna ungu dan negatif jika sel berwarna merah (Ismail *et al.*, 2017).

Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Pengujian Katalase

Bakteri yang tumbuh pada isolat dari agar miring diambil satu ose, kemudian dioleskan pada gelas objek yang telah diberi alcohol. Objek *glass* ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3%. Diamati terbentuknya gelembung gas pada preparat. Jika terdapat gelembung gas berarti uji katalase tersebut positif. (Ismail *et al.*, 2017).

Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Pengujian Motilitas

Bakteri yang tumbuh pada isolat dari agar miring diambil dengan menggunakan *needle* kemudian ditusuk pada agar tegak semi solid (medium SIM tegak) kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Hasil positif (motil) jika terdapat rambatan-rambatan disekitar bekas tusukan jarum pada medium dan hasil negatif (non motil) bila tidak terdapat rambatan-rambatan di sekitar bekas tusukan jarum ose pada medium (Ismail *et al.*, 2017).

Uji Aktivitas Antimikroba Metode Standar 0,5 McFarland

Menurut Pro-Lab Diagnostics (2012), Standar *McFarland* digunakan untuk standarisasi perkiraan jumlah bakteri dalam cairan suspensi. Standar kekeruhan *McFarland* ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba. Jumlah standar *McFarland* 0,5 setara dengan 1,5 x 10⁸ sel bakteri.

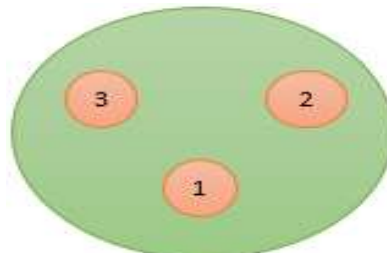
Langkah pertama yang dilakukan adalah menyiapkan tabung reaksi dan dituang akuades ke dalam masing- masing tabung reaksi yang diberi label bakteri *Salmonella* Enteritidis, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Mengambil masing-masing bakteri menggunakan ose dan memasukkannya ke dalam tiap tabung reaksi yang telah diberi label sesuai jenis bakteri dan homogenkan. Kemudian mengamati kekeruhan dari larutan pengenceran dan menyetarakan dengan standar 0,5 *McFarland* yang sudah ada sampai kekeruhannya sama.

Pembuatan Filtrat Bakteri Asam Laktat

Sebanyak 1 mL suspensi BAL aktif cairan rumen dari MRS Broth diambil menggunakan mikropipet lalu dituang ke dalam tabung reaksi. Sentrifuge tabung reaksi pada 3000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan cairan dengan filtratnya (supernatan). Kemudian saring dengan membran milipore ukuran 0,45 mikrometer. Filtrat (asam laktat) disimpan dalam cawan petri (Sulistijowati dan Mile, 2015).

Pengujian Eektivitas Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri Patogen

Membuat media Media MHA (*Muller Hinton Agar*) dengan menimbang sebanyak 7,2 gram dan ditambahkan 250 mL aquades kemudian dihomogenkan dan dipanaskan hingga jernih. Media MHA dituang ke dalam 12 cawan petri yang akan digunakan dan media dibiarkan hingga padat. Cakram antibiotik (kontrol positif) kloramfenikol dan cakram *blank* disiapkan untuk uji aktivitas antibakteri. Setiap koloni bakteri uji (Bakteri patogen) yang telah diencerkan sesuai standar McFarland diambil 0,1 mL (10 μ L) menggunakan mikropipet dan disebar menggunakan batang L pada media MHA (*Muller Hinton Agar*). Pada 12 media MHA (*Muller Hinton Agar*) dibuat lubang (sumur) dengan menggunakan perforator steril, setiap media dibuat 2 lubang. Cakram antibiotik kloramfenikol diambil menggunakan pinset steril dan diletakkan pada permukaan tengah media MHA (*Muller Hinton Agar*) sebagai kontrol positif. Semua sampel yang telah siap lalu diinkubasi dengan posisi cawan tidak terbalik pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, akan muncul zona hambat. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong pada 24 jam dan 48 jam.



Keterangan : 1=Cakram Antibiotik, 2= Sumur dan Filtrat BAL, 3= Sumur dan Non- Filtrat

Gambar 1. Letak sumur agar pada media MHA pada uji aktivitas antimikroba BAL.

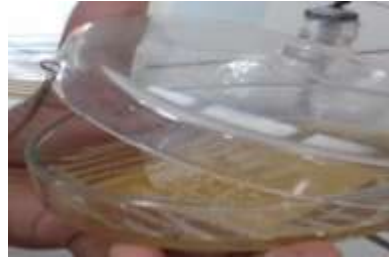
Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peremajaan Bakteri Asam Laktat Isolat Cairan Rumen (BAL)

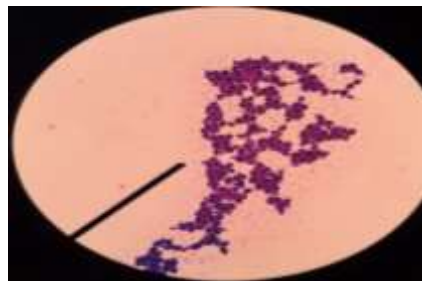
Peremajaan isolat bakteri asam laktat (BAL) isolat cairan rumen bertujuan untuk memurnikan bakteri dan memberikan penyegaran pada nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Hasil pengamatan terhadap karakteristik morfologi BAL isolat cairan rumen berbentuk bulat, berwarna putih susu dan bertepi rata. Hasil pengamatan ini sejalan dengan hasil penelitian Ismail *et al.* (2017) dan Mala (2018) yang menyatakan bahwa isolat bakteri asam laktat cairan rumen membentuk koloni berwarna putih pada media MRS Agar (Gambar 2).



Gambar 2. Morfologi koloni BAL isolat cairan rumen pada media MRS Agar

Uji Konfirmasi Bakteri Asam Laktat Isolat Cairan Rumen (BAL) Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui bentuk sel dan sifat gram bakteri (Mala, 2018). Pewarnaan gram ini dilakukan dengan mewarnai koloni yang tumbuh pada media MRS agar yang telah diisolasi menjadi koloni murni. Pada penelitian ini pewarnaan gram dilakukan satu kali dan hasil pemeriksaan menunjukkan bentuk sel bakteri bulat dan berwarna ungu. Hal ini sesuai dengan pendapat Fachrial *et al.* (2018) dan Mala (2018) bahwa BAL isolat cairan rumen merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk bulat. Hal ini disebabkan karena, dinding sel bakteri Gram positif mengandung lebih banyak peptidoglikan dan sedikit lemak dibandingkan bakteri Gram negatif sehingga mampu mengikat zat warna pertama (kristal violet) (Syulasmis *et al.*, 2005).



Gambar 3. Hasil pengamatan BAL isolat cairan rumen Gram positif dan berbentuk bulat yang diamati pada mikroskop binokular dengan perbesaran 100x.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Pengujian Katalase

Uji katalase bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen. Uji katalase ini dilakukan dengan meneteskan 1 tetes H₂O₂ 3% pada isolat BAL cairan rumen dan menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak adanya gelembung gas yang terlihat. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Mala (2018) yang melaporkan bahwa BAL isolat cairan rumen termasuk bakteri dengan katalase negatif (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil pengujian katalase negatif terhadap isolat BAL cairan rumen

Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Pengujian Motilitas

Motilitas merupakan kemampuan suatu mikroba bergerak sendiri (Agus, 2016). Sifat motilitas suatu bakteri dapat dilihat dengan pertumbuhan yang menyebar disekeliling tempat penusukan kultur atau adanya pergerakan yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi, yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagel (Fardiaz 1993 dalam Agus 2016).

Hasil pengujian yang dilakukan terhadap isolat BAL cairan rumen menunjukkan tidak adanya pergerakan atau rambatan di daerah disekitar tusukan *needle* (Gambar 5). Hasil uji motilitas ini sesuai dengan hasil penelitian Mala (2018) yang mencatat bahwa isolat BAL cairan rumen non motil dimana tidak terbentuknya daerah rambatan di sekitar bekas tusukkan *needle*.



Gambar 5. Hasil pengujian motilitas BAL laktat isolat cairan rumen pada media SIM tegak menunjukkan motilitas negatif

Uji Aktivitas Bakteri Asam Laktat terhadap Bakteri Patogen Bakteri Asam Laktat terhadap Bakteri Patogen

Pengujian aktivitas antimikroba isolat BAL isolat cairan rumen terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Enteritidis serta antibiotik Kloramfenikol sebagai kontrol positif. Penelitian ini menggunakan metode difusi sumur serta menggunakan filtrat BAL maupun non filtrat. Metode ini menjadi pilihan untuk tujuan penelitian dengan mempertimbangkan kesederhanaan teknik, ketelitian, metode serbaguna bagi semua bakteri patogen yang tumbuh cepat dan sering digunakan dalam uji aktivitas antimikroba (Mujipradhana *et al.*, 2018).



Aktivitas antimikroba kloramfenikol sebagai kontrol positif dikatakan resisten apabila diameter hambat pertumbuhan bakteri yang dihasilkan <20 mm dan sensitif apabila hasil diameter hambat >21 mm (Andrews and Howe, 2011).

Sementara menurut Morales *et al.* (2003), aktivitas zona hambat antimikroba dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu : aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5- 10 mm), kuat (>10- 20 mm), sangat kuat (>20- 30 mm). Aktivitas daya hambat antimikroba dinyatakan berdasarkan zona bening yang dihasilkan di sekitar kertas cakram. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm (Kusumawati *et al.*, 2008).

Pengukuran Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Isolat Cairan Rumen terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

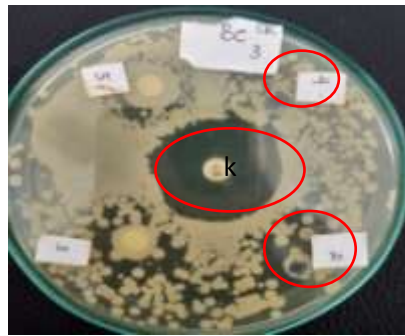
Bacillus cereus merupakan bakteri Gram positif dan tersebar luas di alam pada berbagai sumber makanan baik hewani, nabati, telur, susu, dan air, dan ditemukan di tanah sebagai organisme saprofit (Villain *et al.*, 2006). *Bacillus cereus* dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit terkait makanan (*foodborne*) yang mengakibatkan terjadinya muntah dan diare (Fratamico *et al.*, 2005). Aktivitas antimikroba BAL cairan rumen terhadap bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat dari adanya pembentukkan zona hambat dengan berbagai ukuran baik pada daerah sekitar sumur agar. Pembentukkan zona hambat BAL terhadap bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Bakteri Asam Laktat terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

Ulangan	Diameter Zona Hambat 24 Jam (mm)			Diameter Zona Hambat 48 Jam (mm)		
	AB	SF	SNF	AB	SF	SNF
1	31,5	-	-	29,2	16,1	26,1
2	28,7	-	-	27,2	-	-
3	28,3	16,1	-	29,5	23,8	-
Rata-rata	29,6	16,1	-	28,6	19,95	26,1

Keterangan : AB=Cakram Antibiotik, SF= Sumur dan Filtrat BAL, SNF= Sumur dan Non-Filtrat, (-) += tidak/belum terdapat zona hambat.

Berdasarkan Tabel. 2 dapat dilihat bahwa rata-rata diameter zona hambat yang dibentuk oleh antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif sebesar 29,5 mm pada waktu 24 jam setelah inkubasi dan mengalami penurunan ukuran diameter zona hambat menjadi 28,6 mm setelah 48 jam inkubasi. Pada sumur agar yang ditambahkan filtrat BAL memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 16,1 mm pada waktu 24 jam setelah inkubasi dan mengalami peningkatan ukuran diameter zona hambat setelah 48 jam inkubasi menjadi 19,95 mm. Sumur agar yang ditambahkan isolat cairan non filtrat BAL menunjukkan bahwa tidak terbentuk zona hambat setelah 24 jam inkubasi, namun zona hambat sebesar 26,1 mm muncul setelah 48 jam inkubasi. (Gambar 6).



Keterangan : 1=Cakram Antibiotik, 2= Sumur + Filtrat BAL, 3= Sumur + Non-Filtrat,,(-)=tidak/belum terdapat zona hambat

Gambar 6. Zona hambat BAL isolat cairan rumen terhadap *Bacillus cereus*

Aktivitas daya hambat antibiotik kloramfenikol terhadap bakteri *Bacillus cereus* masuk dalam kategori sensitif dimana zona hambat yang dihasilkan pada waktu 24 dan 48 jam >21 mm (Andrews dan Howe, 2011). Sementara itu, zona hambat BAL cairan rumen pada sumur agar terhadap bakteri *Bacillus cereus* digolongkan dalam kategori hingga sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* (Morales *et al.*, 2003). Hal sesuai dengan Desniar *et al.* (2011); Rosari (2011) yang menyatakan bahwa BAL mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*.

Pengukuran Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Isolat Cairan Rumen terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang menjadi penyebab infeksi dengan memproduksi enterotoksin yang menyebabkan pangan tercemar dan mengakibatkan keracunan pada manusia dan hewan serta menyebabkan gastroenteritis atau radang lapisan saluran usus (Amanati, 2014). Aktivitas antimikroba BAL cairan rumen terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat dari adanya pembentukan zona hambat dengan berbagai ukuran baik pada daerah sekitar sumur agar. Pembentukan zona hambat BAL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 3.

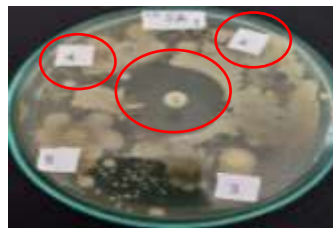
Tabel 3. Diameter Zona Hambat Bakteri Asam Laktat terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Ulangan	Diameter Zona Hambat 24 Jam (mm)			Diameter Zona Hambat 48 Jam (mm)		
	AB	SF	SNF	AB	SF	SNF
1	32,4	-	-	29,1	-	-
2	30,7	-	-	31,7	-	20,1
3	27,5	-	-	28,1	20,6	22,5
Rata-rata	30,2	-	-	29,6	20,6	21,3

Keterangan : AB=Cakram Antibiotik, SF= Sumur dan Filtrat BAL, SNF= Sumur dan Non-Filtrat, (-) += tidak/belum terdapat zona hambat.

Berdasarkan Tabel. 3 dapat dilihat bahwa rata-rata diameter zona hambat yang dibentuk oleh antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif 30,2 mm pada waktu 24 jam setelah inkubasi dan mengalami penurunan rata-rata diameter zona hambat menjadi 29,63 mm pada waktu 48 jam setelah inkubasi. Pada sumur yang ditambahkan filtrat BAL tidak terbentuk zona hambat pada 24 jam setelah inkubasi, namun setelah 48 jam inkubasi terbentuk zona hambat sebesar 20,6 mm, sementara itu pada sumur yang ditambahkan isolat cairan non filtrat BAL belum terdapat diameter zona hambat pada waktu 24 jam setelah inkubasi, namun diameter zona hambat muncul sebesar 24,2 mm pada 48 jam setelah inkubasi.

Aktivitas daya hambat antibiotik kloramfenikol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* masuk dalam kategori sensitif dimana zona hambat yang dihasilkan pada waktu 24 dan 48 jam >21 mm (Andrews dan Howe, 2011). Sementara itu, zona hambat BAL cairan rumen pada sumur agar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* digolongkan dalam kategori kuat hingga sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Morales *et al.*, 2003). Hasil ini sesuai dengan penelitian Rosari (2011) ; Nuryani (2009) yang menyatakan bahwa *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang paling sensitif terhadap antimikroba BAL, jika dibandingkan dengan *Bacillus cereus*. Kasi *et al.* (2017) juga melaporkan bahwa isolat BAL limbah cair sagu mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan membentuk zona hambat.



Gambar 7. Zona hambat BAL isolat cairan rumen terhadap *Staphylococcus aureus*

Keterangan : AB=Cakram Antibiotik, SF= Sumur dan Filtrat BAL, SNF= Sumur dan Non-Filtrat, (-) += tidak/belum terdapat zona hambat



Pengukuran Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Isolat Cairan Rumen terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif dan merupakan flora normal di saluran pencernaan hewan serta manusia, namun kadang dapat menimbulkan penyakit (Hujja, 2018). *Escherichia coli* yang berifat patogen dapat mengakibatkan gangguan intestinal dan infeksi saluran kemih (Prescott *et al.*, 2008). Aktivitas antimikroba BAL cairan rumen terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat dari adanya pembentukkan zona hambat dengan berbagai ukuran baik pada daerah sekitar sumur agar. Pembentukkan zona hambat BAL terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Tabel Hasil Pengukuran Zona Hambat Bakteri Asam Laktat terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Ulangan	Diameter Zona Hambat 24 Jam (mm)			Diameter Zona Hambat 48 Jam (mm)		
	AB	SF	SNF	AB	SF	SNF
1	25,7	-	-	36,2	-	-
2	32,4	14,4	09,2	33,3	20,3	17,3
3	15,7	-	-	26,1	-	-
Rata-rata	24,6	14,4	09,2	31,86	20,3	17,3

Keterangan : AB=Cakram Antibiotik, SF= Sumur dan Filtrat BAL, , SNF= Sumur dan Non-Filtrat, (-) += tidak/belum terdapat zona hambat

Berdasarkan Tabel. 4 dapat dilihat bahwa rata-rata diameter zona hambat yang dibentuk oleh antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif 24,6 mm pada waktu 24 jam setelah inkubasi dan mengalami peningkatan rata-rata diameter zona hambat menjadi 31,86 mm pada waktu 48 jam setelah inkubasi. Pada sumur yang ditambahkan filtrat BAL rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 14,4 mm pada waktu 24 jam setelah inkubasi dan mengalami kenaikan rata-rata diameter zona hambat menjadi 20,3 mm pada 48 jam setelah inkubasi. Sementara itu pada sumur yang ditambahkan isolat cairan non filtrat BAL rata-rata diameter zona hambat sebesar 09,2 mm setelah 24 jam inkubasi dan mengalami penurunan ukuran diameter zona hambat menjadi 17,3 mm pada waktu 48 jam setelah inkubasi.

Aktivitas daya hambat antibiotik kloramfenikol terhadap bakteri *Escherichia coli* masuk dalam kategori sensitif dimana zona hambat yang dihasilkan pada waktu 24 dan 48 jam >21 mm (Andrews dan Howe, 2011). Sementara itu, zona hambat BAL cairan rumen pada sumur agar terhadap bakteri *Escherichia coli* digolongkan dalam kategori sedang hingga sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Morales *et al.*, 2003). Hal ini sesuai dengan penelitian Rofiq dan Bambang (2013) ; Rahmadi *et al.* (2017) menyatakan bahwa BAL memiliki aktivitas antimikroba yang tinggi terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli*.



Gambar 8. Zona hambat BAL isolat cairan rumen terhadap *Escherichia coli*
Keterangan : 1=Cakram Antibiotik, 2= Sumur + Filtrat BAL,3= Sumur + Non-Filtrat, (-) += tidak/belum terdapat zona hambat

Pengukuran Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Isolat Cairan Rumen terhadap Bakteri *Salmonella* Enteritidis

Salmonella Enteritidis merupakan bakteri Gram negatif serta bersifat patogen terhadap manusia dan hewan bila tertelan. *Salmonellosis* ditandai dengan sakit kepala secara mendadak, sakit perut, diare, mual, dan muntah disertai demam (Anjung, 2016). Aktivitas antimikroba BAL cairan rumen terhadap bakteri *Salmonella* Enteritidis dapat dilihat dari adanya pembentukan zona hambat dengan berbagai ukuran baik pada daerah sekitar sumur agar. Pembentukan zona hambat BAL terhadap bakteri *Salmonella* Enteritidis dapat dilihat pada Tabel 5.

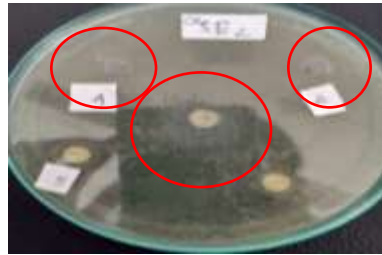
Tabel 5. Diameter Zona Hambat Bakteri Asam Laktat terhadap Bakteri *Salmonella* Enteritidis

Ulangan	Diameter Zona Hambat 24 Jam (mm)			Diameter Zona Hambat 48 Jam (mm)		
	AB	SF	SNF	AB	SF	SNF
1	28,4	-	-	33,5	25,6	-
2	26,2	-	-	28,3	-	-
3	29,4	15,4	17,1	34,2	19,1	20,1
Rata-rata	28	15,3	17,1	32	22,35	20,1

Keterangan : AB=Cakram Antibiotik, SF= Sumur dan Filtrat BAL, SNF= Sumur dan Non-Filtrat, (-) += tidak/belum terdapat zona hambat

Berdasarkan Tabel. 5 dapat dilihat bahwa rata-rata diameter zona hambat yang dibentuk oleh antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif 28 mm pada waktu 24 jam setelah inkubasi dan mengalami peningkatan rata-rata diameter zona hambat menjadi 32 mm pada waktu 48 jam setelah inkubasi. Pada sumur yang ditambahkan filtrat BAL pada waktu 24 jam setelah inkubasi menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 15,3 mm dan mengalami peningkatan ukuran diameter zona hambat menjadi 22,35 mm pada waktu 48 jam setelah inkubasi. Pada sumur yang ditambahkan non filtrat BAL rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 17,1 mm pada 24 jam setelah inkubasi dan

mengalami peningkatan ukuran diameter zona hambat sebesar 20,1 mm pada 48 jam setelah inkubasi.



Gambar 9. Zona hambat BAL isolat cairan rumen terhadap *Salmonella* Enteritidis
Keterangan : 1 =CakramAntibiotik, 2= Sumur + Filtrat BAL,= Sumur + Non-Filtrat,(-) += tidak/belum terdapat zona hambat

Aktivitas daya hambat antibiotik kloramfenikol terhadap bakteri *Salmonella* Enteritidis masuk dalam kategori sensitif dimana zona hambat yang dihasilkan pada waktu 24 dan 48 jam >21 mm (Andrews dan Howe, 2011). Sementara itu, zona hambat BAL cairan rumen pada sumur agar terhadap bakteri *Salmonella* Enteritidis digolongkan dalam kategori kuat hingga sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* Enteritidis (Morales *et al.*, 2003). Hal ini sesuai dengan penelitian Mambang *et al.* (2014) bahwa bakteri asam laktat mampu menekan pertumbuhan bakteri *Salmonella*.

Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Isolat Cairan Rumen Terhadap Bakteri Patogen

Salah satu karakteristik suatu BAL dapat dikategorikan sebagai probiotik adalah memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen. Sifat antimikroba adalah suatu kemampuan antagonistik suatu senyawa kimia untuk menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan (Rosari, 2011). Mekanisme aktivitas antimikroba BAL isolat cairan rumen dapat dilihat berdasarkan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Kemampuan menghambat bakteri patogen ditandai dengan pembentukan zona hambat disekitar sumur agar yang berisi cairan filtrat BAL dan non filtrat BAL. Berdasarkan tabel 2, 3, 4, dan 5 hasil pengukuran zona hambat BAL isolat cairan rumen terhadap bakteri Gram positif (*Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*) dan Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella* Enteritidis) menunjukkan bahwa BAL isolat cairan rumen mampu menghambat bakteri patogen dari Gram positif dan Gram negatif baik dengan metode sumur dan metode difusi agar.

Aktivitas antimikroba BAL isolat cairan rumen terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella* Enteritidis disebabkan karena perbedaan pada senyawa penyusun struktur dinding sel bakteri. Berdasarkan tabel dan gambar zona hambat yang ditampilkan, rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh BAL terhadap bakteri patogen Gram negatif digolongkan dalam kategori kuat dan sangat kuat, sementara rata-



rata diameter zona hambat BAL terhadap bakteri Gram positif masuk dalam kategori lemah hingga sangat kuat. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri uji yang berasal dari golongan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella* Enteritidis) lebih sensitif terhadap aktivitas senyawa antimikroba BAL dibandingkan dengan bakteri uji yang berasal dari golongan Gram positif (*Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*). Theron dan Lues (2011) melaporkan bakteri *E.coli* dan *Salmonella* memiliki kerentanan yang tinggi terhadap asam laktat dan asam asetat. Asam laktat mampu melemahkan permeabilitas bakteri Gram negatif dengan merusak membran luar bakteri Gram negatif sehingga substrat antibakteri yang lain yaitu diasetil, bakteriosin, hidrogen peroksida dan *lactoperidase system* dapat berpenetrasi ke dalam membran sitoplasma (Desniar *et al.*, 2011).

Aktivitas antimikroba BAL cairan rumen terhadap bakteri Gram positif tergolong lemah disebabkan karena bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal sehingga antimikroba akan lebih sulit untuk menembus dinding sel BAL (Yulinery dan Nurhidayat, 2009). Kecilnya kemampuan daya hambat BAL isolat cairan rumen terhadap bakteri gram positif dikarenakan kelompok bakteri gram positif mempunyai daya tahan terhadap kondisi asam (Khikmah, 2015). Cotter and Hill (2003) menyatakan bakteri gram positif mempunyai pertahanan terhadap kondisi asam melalui mekanisme pompa proton sehingga mampu menyeimbangkan pH dalam sel dan substrat antimikroba lainnya tidak dapat berpenetrasi ke dalam membran sitoplasma (Khikmah, 2015). Selain itu, hasil penelitian Gilliland (1990) dalam Hardiningsih *et al.* (2006) menyatakan bahwa bakteri gram positif lebih sensitif terhadap lisozim tetapi *Lactobacillus* dan *Streptococcus* lebih resisten terhadap bakteri gram positif. Nuryani (2009) ; Rosari (2011) menyatakan bahwa *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang paling sensitif terhadap antimikroba bakteri asam laktat, jika dibandingkan dengan *Bacillus cereus*.

Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas antimikroba BAL terhadap bakteri patogen yang ditampilkan pada Tabel 2, 3, 4, dan 5 menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan oleh BAL terhadap bakteri patogen memiliki ukuran yang berbeda tergantung masa inkubasi. Diameter zona hambat yang dihasilkan BAL pada waktu 48 jam setelah inkubasi lebih besar dibandingkan 24 jam setelah inkubasi. Dewi (2011) dalam penelitiannya menyatakan bahwa lamanya waktu inkubasi dapat menentukan besar kecilnya ukuran diameter zona hambat. Peningkatan diameter zona hambat pada waktu 48 jam setelah inkubasi terjadi karena puncak aktivitas enzim selulase bakteri asam laktat dicapai dalam waktu inkubasi 48 jam (Utama *et al.*, 2018). Selain itu Septiani *et al.* (2017) juga menyatakan bahwa hasil pertumbuhan bakteri pada waktu setelah inkubasi 48 jam lebih efektif karena aktivitas antibakteri bersifat bakteriostatik dimana menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Hasil penelitian lain yang dilakukan Sucipto (2009) menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri rata-rata meningkat dari



jam ke 0 sampai mencapai puncak pada jam ke-48 setelah itu mengalami penurunan.

Pada hasil pengamatan dapat juga ditemukan tidak terbentuknya diameter zona hambat serta penurunan ukuran diameter zona hambat. Diameter zona hambat yang tidak terbentuk dimungkinkan karena tidak mampu menghasilkan metabolit yang optimum dalam menghambat bakteri uji (Rinto *et al.*, 2010). Penurunan ukuran diameter zona hambat terjadi karena isolat bakteri sudah masuk fase kematian disebabkan sumber nutrisi pada media terbatas (Dewi 2011). Situmeang *et al.* (2017) menyatakan bahwa penurunan ukuran zona hambat dapat terjadi karena isolat bakteri telah masuk pada fase kematian yang disebabkan karena kurangnya nutrisi pada media. Setianingsih (2010) menjelaskan bahwa selama waktu pertumbuhan jumlah sel akan bertambah karena aktivitas BAL meningkat. Namun, aktivitas BAL akan mengalami penurunan setelah memasuki fase stasioner. Fase stasioner merupakan fase akhir dalam pertumbuhan BAL. Pada fase ini terjadi penumpukkan metabolit beracun dan terjadi penurunan kadar nutrisi dalam media, sehingga jumlah populasi sel menjadi konstan dikarenakan jumlah sel yang membelah diri diimbangi dengan jumlah sel yang mati.

Pertumbuhan bakteri patogen akan terhambat jika total asam semakin meningkat dan mengakibatkan zona bening semakin besar. Terbentuknya diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi dapat diakibatkan karena adanya perbedaan besar kecilnya konsentrasi atau banyak sedikitnya kandungan zat aktif antibakteri yang terkandung didalamnya serta kecepatan difusi dari senyawa antibakteri. Hasil penelitian Lorain (2005) menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi antimikroba, maka semakin cepat terjadi difusi, sehingga daya antibakteri akan semakin besar dan diameter zona hambat yang dihasilkan semakin luas. Semakin banyak BAL yang tumbuh maka semakin banyak produksi asam laktat yang dihasilkan (Afriani *et al.*, 2017).

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antimikroba BAL isolat cairan rumen terhadap 4 bakteri patogen baik Gram positif maupun Gram negatif menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan oleh supernatan (filtrat) lebih kecil dibandingkan non filtrat. Afriani *et al.* (2017) menyatakan bahwa kecilnya zona hambat supernatan disebabkan karena supernatan hanya memiliki metabolit sekunder hasil dari metabolisme bakteri asam laktat yaitu berupa asam organik, bakteriosin, hidrogen peroksida, etanol dan diasetil. Hal ini menyebabkan penghambatan terhadap bakteri patogen yang hanya didukung oleh hasil metabolit sekunder, akan tetapi sel bakteri asam laktat yang menghasilkan metabolit dalam hal ini sudah terpisah. Kasi *et al.* (2017) juga menjelaskan bahwa cairan isolat BAL non filtrat memiliki kandungan senyawa antimikroba yang lengkap yaitu terdiri dari senyawa metabolit primer (asam laktat, etanol, karbondioksida) dan senyawa metabolit sekunder (hidrogen peroksida dan bakteriosin). Hal inilah yang menyebabkan cairan non filtrat BAL rata-rata menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar.



Mekanisme molekuler bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen disebabkan karena bakteri asam laktat mampu menghasilkan senyawa antimikroba seperti asam organik (asam laktat, asam asetat, asam propionat), diasetil, hidrogen peroksida, bakteriosin dan protein bakterisidal selama proses fermentasi laktat (Sivasakthivelan *et al.*, 2013). Asam laktat akan menyebabkan penurunan pH di bawah kisaran pH pertumbuhan bakteri dimana asam dapat berdifusi secara pesat ke dalam sel mikroorganisme dan menyebabkan terjadinya pengasaman sitoplasma, penghambatan transfer substrat, dan sintesis makromolekul yang secara keseluruhan akan menghambat pertumbuhan bakteri (Setianingsih, 2010). Asam laktat juga diketahui berperan sebagai agen pereduksi pH sedangkan asam asetat dan asam propionat adalah agen antimikroba yang sesungguhnya (Ouweland dan Vesterlund dalam Salminen *et al.*, 2004). Efek bakterisidal dari hidrogen peroksida dikarenakan kemampuannya sebagai *oxidizing agent* terhadap sel bakteri yang menyebabkan dinding sel seperti gugus sulfidryl dan lipid membran sel dapat dengan mudah teroksidasi (Salminen *et al.*, 2004). Akibatnya proses metabolisme seperti glikolisis dan kerja enzim terganggu. Umumnya hidrogen peroksida bersifat bakteriostatik terhadap bakteri Gram positif dan bersifat bakteriosidal terhadap bakteri Gram negatif. Aktivitas penghambatan bakteriosin baik yang bersifat bakterisidal, bakteriostatik, maupun bakteriolisis umumnya ditujukan terhadap dinding dan membran sel dari mikroorganisme target. Terhadap dinding sel, bakteriosin dapat menghambat biosintesis peptidoglikan sebagai penyusun utama dinding sel. Bakteriosin juga dapat mengganggu stabilitas membran sel dengan melakukan kontak langsung (Setianingsih, 2010).

Beberapa hal yang mempengaruhi besar kecilnya zona hambat yang dibentuk oleh isolat BAL terhadap bakteri uji antara lain interaksi antara kemampuan bakteri asam laktat dalam menghasilkan senyawa aktif atau enzim hidrolitik, umur biakan bakteri, jumlah senyawa aktif yang dihasilkan, komposisi medium dan waktu inkubasi (Dewi, 2011). Selain itu Ravindran *et al.* (2016) menyatakan bahwa bakteri asam laktat mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan menghasilkan zat hasil metabolisme yang meliputi produksi asam laktat dan penurunan pH, produksi asam asetat, diasetil, hidrogen peroksida, dan bakteriosin. Zona hambat terbentuk karena adanya interaksi antara isolat bakteri asam laktat yang mendesak pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat merusak komponen struktur dinding sel bakteri patogen. Adanya enzim hidrolitik yang dihasilkan oleh isolat bakteri asam laktat mampu mendegradasi komponen dinding sel bakteri patogen (Situmeang *et al.*, 2017). Selain itu besar kecilnya zona hambat yang dihasilkan oleh antimikroba disebabkan oleh faktor aktivitas enzim selulase bakteri, hal ini juga dipengaruhi oleh difusi senyawa antimikroba pada media agar serta jenis dan konsentrasi antimikroba yang mempengaruhi diameter zona hambat pada lama waktu tertentu (Dewi, 2011).



Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antimikroba isolat bakteri asam laktat cairan rumen terhadap bakteri patogen *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella* Enteritidis, maka dapat disimpulkan bahwa:

- Isolat bakteri asam laktat cairan rumen memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif (*Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*) maupun bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella* Enteritidis)
- Waktu optimum bakteri asam laktat mampu menghasilkan diameter zona hambat yang besar terhadap bakteri patogen Gram positif maupun Gram negatif adalah waktu inkubasi 48 jam dibandingkan dengan waktu inkubasi 24 jam.
- Non filtrat bakteri asam laktat menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan filtrat bakteri asam laktat.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani N, Yusmarini, Usman P. 2017. Aktivitas Antimikroba *Lactobacillus Plantarum* Yang Diisolasi Dari Industri Pengolahan Pati Sagu Terhadap Bakteri Patogen *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. *JOM Faperta*. 4(2) : 1-12.
- Afrianto dan Liviawati E. 2005. *Pakan Ikan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Agus NA. 2016. Isolasi Dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat Asal Saluran Pencernaan Broiler Umur Tiga Hari [Skripsi]. Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, Makassar.
- Amanati L. 2014. Uji bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* pada produk mie instant yang beredar di pasaran . *Balai Litbang Industri*, 3 (2) : 73 – 80.
- Andrews JM, Howe RA. 2011. Standardized disc susceptibility testing method (Version 100). *Jurnal Antimicrob Chemotherapy*. 66 (1) : 2726-2757.
- Anjung KUM. 2016. Identifikasi Cemaran *Salmonella sp* dan Isolasi Bakteriofage Sebagai Biokontrol dalam Penanganan pasca Panen Udang Vannamei (*Litopennaus Vannamei*) [TESIS]. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Cotter PD, Hill C. 2003. Surviving the Acid Test : Responses of Gram Positive Bacteria to Low pH. *Microbiology and Molecular Biology Review*. 67 (3) : 429-453.
- Desniar, Iman R, Antonius S, Nisa RM. 2011. Penapisan Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 14 (2) : 124-133.



- Dewi FK. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, *Linnaeus*) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Dewi KA. 2011. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillindari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, 31:2. 140-14.
- Fachrial E, Adrian, Harmileni. 2018. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Nira Kelapa Sawit. *BioLink*, 5 (1) :51-58.
- Fardiaz S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Fratamico PM, Bhunia AK, Smith JL (ed). 2005. *Foodborne Pathogens Microbiology and Molecular Biology*. UK: Caister Academic Press. 2005: 409-419.
- Gilliland SE. 1990. Health and Nutritional benefit from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 87 (1) : 175-188.
- Gorbach SL. 2001. *Microbiology of the Gastrointestinal Tract*. <http://www.gsbs.utmb.edu/microbookch095.htm>.
- Hardiningsih R, Rostiati NFN, Titin Y. 2006. Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah. *Biodiversitas*. 7(1) : 15-17.
- Hujja F. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Sungai Pagesangan Kota Mataram Tahun 2017 [Skripsi]. Mataram: Universitas Islam Negeri (UIN) Mataram.
- Ismail YS, Cut Yulvizar, Putriani. 2017. Isolasi, Karakteristik dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*). *BIOLEUSER*, 1(2):45-53.
- Kasi PD, Ariandi, Heni Mutmainnah. 2017. Uji Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Limbah Cair Sagu terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biotropika*, 5 (1): 97-98.
- Khikmah N. 2015. Uji Antibakteri Susu Fermentasi Komersial Pada Bakteri Patogen. *Jurnal Penelitian Saintek*. 20 (1) : 45-52.
- Kusumawati N, Bettysri LJ, Siswa S, Ratihdewanti, Hariadi. 2008. Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenous sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Menurunkan Kolesterol. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 2(1) :120-128.
- Mala REM. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Starter dalam Pembuatan Silase [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Nusa Cendana.
- Mambang DEP, Rosidah, Suryanti D. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. *J teknol dan Industri Pangan*. 25 (1) : 115-118.



- Morales G, Sierra P, Mancilla, Parades A, Loyola LA, Gallardo O, Borquez J. 2003. Secondary Metabolites from Four Medicinal Plants from Northern Chile, Antimicrobial Activity, and Biototoxicity against *Artemia salina*. *Journal Chile Chem.* 48 (2) :
- Mujipradhana VN, Defni AW, Edi S. 2018. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak *Ascidian Herdmanismomus* pada Mikroba Patogen Manusia. *Jurnal Ilmiah Farmasi.* 7 (3) : 338-347.
- Nuryani P. 2009. Aktivitas antimikroba yogurt asal susu kambing Saanen dan Pesa (persilangan peranakan Etawah dan Saanen) selama penyimpanan. [Skripsi]. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Pratiwi S. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cincau Hijau Rambat (*Cyclea barbata* Miers.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro* Dengan Metode Difusi. [Skripsi]. Jakarta: Universitas Pembangunan Nasional “Veteran”.
- Prayoga E. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Purnama YI. 2011. Produksi Senyawa Antibakteri Isolat Bakteri NS (9) dari Bekasam Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rahmadi RPA, Meiskha B, Yanti H. 2017. Uji Daya Hambat Filtrat Zat Metabolit *Lactobacillus plantarum* Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*. *Biogenesis.* 5 (1) : 34-41.
- Rastina, Sudarwanto M, Wientarsih I. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Kedokteran Hewan.* vol 9 (2): 185-188.
- Ravindran L, Manjunath N, Darshan RP, Manuel SGA. (2016). *In vitro* study analysis of antimicrobial properties of lactic acid bacteria against pathogens. *J.Bio.Innov.* 5(2) : 262-269.
- Rinto, Ade DS, Kusamawati F. 2010. Bakteri Asam Laktat dari pencernaan Nila dan Tongkol yang Berpotensi Menghambat Bakteri Pembusuk, Pembentuk Histamin dan patogen pada Produk Perikanan. Prosiding Seminar Nasional 13-14 Desember. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya.
- Rosari YM. 2011. Karakteristik Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Indigenous* Susu sapi Segar Sebagai Kandidat Bakteri Prebiotik dalam Saluran Pencernaan *in vitro*. [Skripsi]. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor.
- Rofiq S, Bambang M. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Karakteristik Bakteri asam laktat dari Dadih Susu Kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia,* 14 (3) : 228-233.



- Salminen S, Wright AV. 1998. Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects. 2nd Ed. New York: Marcel Dekker, Inc. t r e r.
- Septiani, Eko ND, Ima W. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lammun (*Cymodocea rotundata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Fisheries Science ad Technology*. 3 (1) :1-6.
- Setianingsih S. 2010. Kajian Senyawa Antimikroba Bakteri Asam Laktat homofermentatif Isolat Asi. [Skripsi]. Departemen Ilmu Dan Teknologi Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Situmeang SMF, Musthari, Selamat, R. 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.
- Suardana IW, Suarsana IN. 2007. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam laktat dari Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Kandidat Biopreservatif. *Jurnal veteriner*, 8 (4): 155-159.
- Sucipto I. 2009. Biogas Hasil Fermentasi Hidrolisat Bagas Menggunakan Konsorsium Bakteri Termofilik Kotoran Sapi [Skripsi]. Program Studi Biokimia. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sulistijowati R, Mile L. 2015. Efektivitas Peghambatan Filtrat Asam Laktat *Lactobacillus sp.* Hasil Isolasi dari Usus Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) terhadap Bakteri Patogen. *Prosiding Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan V*. ISBN: 978-602-72784-0-0.
- Syulasmı, A., Hamdiyati, Y. Dan Kusnadi. 2005. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*.
- Theron MM, Lues JFR. 2011. *Organic Acids and Food Preservation*. United States: CRC Press. Hlm: 273.
- Utama CS, Zuprizal, Chusnul H, Wihandoyo. 2018. Isolasi dan identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi. *Jurnal aplikasi teknologi pangan*, 7(1) : 1-6.
- Villain S, Luo Y, Hildreth M, Brozel V. 2006. Analysis of the Life Cycle of the Soil Saprophyte *Bacillus cereus* in Liquid Soil Extract and in Soil. *Applied Environmental Microbiology*, 72(7): 4970-4977.
- Yulinery T. Nurhidayat N. 2015. Uji aktivitas antibakteri *Lactobacillus plantarum* terseleksi dari buah markisa (*Passiflora edulis*) dan kaitannya dengan genplantarisin A (*plnA*). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia*. 1 (2) : 273.