

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Januari-Mei 2014 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain , neraca analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, Erlenmeyer, *beaker glass*, cawan petri, bunsen, *stirrer heat*, *vortex mixer*, *mikropipet*, *mikrotipe*, autoklaf, *laminar airflow*, inkubator bakteri, dan alat-alat pendukung lainnya.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 isolat bakteri asam laktat koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung , media *deMan Rogosa and Sharpe (MRS) Broth*, media *Bakteriological Agar*, alkohol 90%, aquades, air kelapa, dan NaCl.

C. Metode Penelitian

Penelitian diawali dengan proses peremajaan lima isolat bakteri asam laktat dengan kode B1, B2, B3, B4, dan B5. Isolat bakteri merupakan kandidat

probiotik yang memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella pullorum* (Rahmawati, 2012). Selanjutnya, kelima isolat tersebut akan diuji ketahanannya dalam media preparasi air minum unggas.

Uji ketahanan terhadap media penyimpanan dilakukan dengan perlakuan penyimpanan dalam akuades, garam fisiologis, dan air kelapa. Sedangkan variasi waktu yang digunakan pada masing-masing media dilakukan selama 0 jam (kontrol), 24 jam, dan 48 jam. Ketahanan hidup isolat bakteri ditunjukkan berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh pada cawan petri dengan menggunakan metode cawan tuang. Data yang diperoleh adalah data jumlah CFU/mL yang selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

D. Prosedur Kerja

1. Peremajaan Bakteri

Sebanyak 1 ml suspensi isolat bakteri asam laktat diambil dengan menggunakan pipet volumetri steril dan dimasukkan ke dalam 9 ml MRS Broth steril, kemudian diinkubasi pada anaerobik jar selama 3x24 jam.

2. Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat Pada Beberapa Media Preparasi

Bakteri uji diinokulasi sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml untuk masing-masing media preparasi yaitu akuades, air kelapa, dan garam fisiologis lalu dihomogenkan dan diinkubasi pada 0 jam (kontrol), 24 jam dan 48 jam dalam anaerob jar. Ketahanan bakteri uji ditentukan berdasarkan perhitungan jumlah koloni yang tumbuh pada media tumbuh dengan menggunakan metode cawan tuang.

3. Perhitungan jumlah koloni bakteri

Masing-masing kultur dibuat seri pengenceran lagi 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} .
dari hasil pengenceran diambil 1 ml dan dimasukkan secara aseptik ke dalam cawan petri steril dan ditambahkan 25 ml media MRS agar. Cawan petri digoyangkan membentuk angka delapan agar bakteri menyebar merata. Setelah media memadat, kemudian diinkubasi dalam anaerobic jar selama 48-72 jam. Setelah diinkubasi hitung jumlah koloni yang tumbuh dari masing-masing cawan petri.