

**UJI PERTUMBUHAN DAN KARAKTERISASI PROBIOTIK DARI
KAWASAN HUTAN MANGROVE PADA MEDIUM DENGAN
SUMBER NITROGEN DAN KARBON ALTERNATIF**

(TESIS)

Oleh

Rizka Oktavia

1927021010



**MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG**

2022

ABSTRAK

UJI PERTUMBUHAN DAN KARAKTERISASI PROBIOTIK DARI KAWASAN HUTAN MANGROVE PADA MEDIUM DENGAN SUMBER NITROGEN DAN KARBON ALTERNATIF

Oleh

Rizka Oktavia

Probiotik adalah mikroba yang menguntungkan karena dapat memperbaiki keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan dan memberikan pengaruh positif terhadap fisiologis dan kesehatan inangnya. Karbon dan nitrogen merupakan komponen utama dalam suatu media kultur yang dibutuhkan bakteri untuk pertumbuhannya. Penelitian ini bertujuan mengetahui pertumbuhan probiotik *Bacillus* sp. 1P121, *Bacillus* IBK3, *Lactobacillus* sp., bakteri AOB, bakteri BFA pada media dengan sumber karbon dari gula aren dan sumber nitrogen dari urea dan amonium sulfat, serta karakter bakteri probiotik hasil uji pertumbuhan tersebut pada kondisi lingkungan pH dan suhu tertentu. Penelitian ini dilaksanakan menggunakan rancangan acak kelompok lengkap (RAKL) dengan 2 perlakuan yaitu jenis media yang terdiri dari media *Sea Water Complete* (SWC) sebagai kontrol (M1), media gula aren + urea (M2), media gula aren + amonium sulfat (M3), media gula aren + urea + amonium sulfat (M4). Perlakuan kedua yaitu jenis probiotik terdiri dari: bakteri *Lactobacillus*(L), bakteri *Bacillus* sp.(IP121, IBK3), bakteri pengoksidasi amonia (AOB) dan Bakteri Fotositetik Anoksigenik (BFA). Setiap unit percobaan diulang 4 kali dalam bentuk kelompok. Data dianalisis menggunakan uji statistik ANOVA dengan $\alpha= 0,05$. Apabila ada perbedaan hasil perlakuan, dilakukan uji lanjut untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa kelima isolat bakteri dapat tumbuh pada semua media alternatif, kelima isolat dapat tumbuh pada pH 2,5 yang sama dengan pH lambung, dan juga dapat tumbuh pada suhu 45 °C dan suhu ruang. Sumber karbon dan nitrogen yang paling baik bagi pertumbuhan bakteri probiotik adalah gula aren dan urea.

Kata kunci: Probiotik, pertumbuhan, karbon, nitrogen

ABSTRACT

PROBIOTIC GROWTH AND CHARACTERIZATION TEST FROM MANGROVE FOREST AREAS IN MEDIUM WITH ALTERNATIVE NITROGEN AND CARBON SOURCES

By

Rizka Oktavia

Probiotics are beneficial microbes because they can improve the balance of microbes in the digestive tract and have a positive influence on the physiology and health of the host. Carbon and nitrogen are the main components in a culture medium that bacteria need for their growth. This study aims to determine the growth of probiotic *Bacillus sp.* 1P121, *Bacillus sp.* IBK3, *Lactobacillus sp.*, AOB bacteria, BFA bacteria on media with a carbon source from palm sugar and a nitrogen source from urea and ammonium sulfate, as well as the character of probiotic bacteria as a result of the growth test at a certain pH and temperature environmental conditions. This research was carried out using a completely randomized block design (RAKL) with 2 treatments, namely the type of media consisting of Sea Water Complete (SWC) media as control (M1), palm sugar + urea (M2) media, palm sugar + ammonium sulfate (M3) media.), palm sugar + urea + ammonium sulfate (M4) media. The second treatment was a type of probiotic consisting of: *Lactobacillus sp.*(L) bacteria, *Bacillus sp.*(1P121, IBK3) bacteria, ammonia oxidizing bacteria (AOB) and Anoxygenic Photosites Bacteria (BFA). Each experimental unit was repeated 4 times in the form of groups. Data were analyzed using ANOVA statistical test with $\alpha = 0.05$. If there are differences in treatment results, further tests are carried out to determine the differences between treatments using the Duncan Multiple Range Test (DMRT). The results showed that the five bacterial isolates could grow on all alternative media, the five isolates could grow at a pH of 2.5 which was the same as the gastric pH, and could also grow at 45 0C and room temperature. The best sources of carbon and nitrogen for the growth of probiotic bacteria are palm sugar and urea.

Keywords: Probiotics, growth, carbon, nitrogen

**UJI PERTUMBUHAN DAN KARAKTERISASI PROBIOTIK DARI
KAWASAN HUTAN MANGROVE PADA MEDIUM DENGAN SUMBER
NITROGEN DAN KARBON ALTERNATIF**

**Oleh
Rizka Oktavia**

**Tesis
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS**

**Pada
Program Pascasarjana Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Tesis : **UJI PERTUMBUHAN DAN
KARAKTERISASI PROBIOTIK
DARI KAWASAN HUTAN
MANGROVE PADA MEDIUM
DENGAN SUMBER NITROGEN
DAN KARBON ALTERNATIF**

Nama Mahasiswa : **Rizka Oktavia**

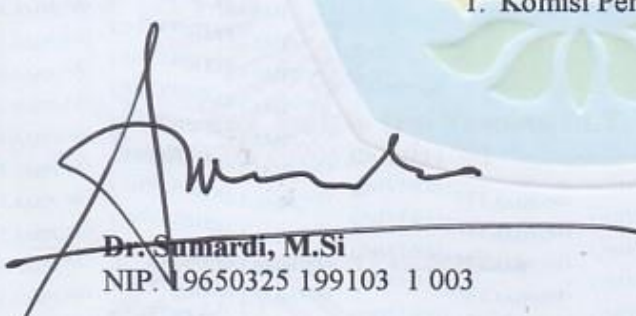
NPM : 1927021010

Jurusan / Program Studi : **Magister Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

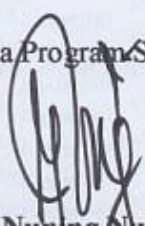
MENYETUJUI,

1. **Komisi Pembimbing**


Dr. Sumardi, M.Si
NIP. 19650325 199103 1 003


Rochmah Agustrina, S.U., Ph.D
NIP. 19610803 198903 2002

2. **Ketua Program Studi Magister Biologi**


Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 19660305 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Sumardi, M.Si.**

Sekretaris : **Rochmah Agustrina, S.U., Ph.D.**

Penguji
Bukan Pembimbing 1: **Dr. Bambang Irawan, M.Sc.**

Bukan Pembimbing 2: **Dr. Endang Nurcahyani, M.Si**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Satripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP. 197407052000031001

3. Direktur Program Pascasarjana

Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.
NIP. 197104151998031005

Tanggal Lulus Ujian Tesis: **08 Juni 2022**

LEMBAR PERNYATAAN

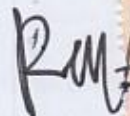
Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul “Uji Pertumbuhan dan Karakterisasi Probiotik dari Kawasan Hutan Mangrove pada Medium dengan Sumber Nitrogen dan Karbon Alternatif” adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan ataskarya orang lain dengan cara yang tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar akademik serta bersedia menerima tuntutan hukum yang berlaku.

Bandarlampung, 08 Juni 2022

Yang menyatakan,



Rizka Oktavia
NPM. 1927021010



RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 08 Oktober 1996, di Bukit Kemuning Lampung Utara Provinsi Lampung. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara oleh pasangan Bapak Aston dan Ibu Pispaneti.

Penulis mengawali pendidikan di Taman Kanak-kanak Dharma wanita Bukit Kemuning pada tahun 2001. Penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 3 Bukit Kemuning, Lampung Utara pada tahun 2002 dan diselesaikan pada tahun 2008, dilanjutkan dengan pendidikan menengah di SMP Negeri 1 Bukit Kemuning, Lampung Utara. Pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 3 Kotabumi, Lampung Utara.

Pada tahun 2014 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dan meraih gelar Sarjana Sains (S.Si) pada tahun 2018. Pada tahun 2019 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan program studi magister Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dan meraih gelar Magister Sains (M.Si) pada tahun 2022.

MOTTO

**Barang siapa keluar untuk mencari ilmu maka dia berada di
jalan Allah
(HR.Turmudzi)**

**Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik
bagi kamu. Dan boleh jadi kamu mencintai sesuatu,
padahal ia amat buruk bagi kamu. Allah Maha mengetahui
sedangkan kamu tidak mengetahui”
(Al-Baqarah: 216)**

**"Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan,
sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan."
(Asy Syarh ayat 5-6)**

**"Bagian terbaik dari hidup seseorang adalah perbuatan-
perbuatan baiknya dan kasihnya yang tidak diketahui
orang lain."
(William Wordsworth)**

PERSEMBAHAN

*Alhamdulillahirabbil Alamin Pujī syukur kepada Allah SWT
berkat rahmat dan hidayah nya Tesis ini dapat terselesaikan
dengan baik.*

Kupersembahkan karya sederhana ini kepada :

*Kedua Orangtuaku, mama dan papa tercinta yang selalu
memberikan motivasi dan dukungan dalam semua hal dan
tidak pernah lelah mendoakanku.*

*Kakak , adik dan keponakan tersayang yang selalu
menghibur, menyemangati dan memotivasiku.*

*Sahabat yang selalu menjadi penyemangat dalam
menyelesaikan perkuliahanku*

Untuk almamater kebanggaanku Universitas Lampung

SANWACANA

Assalamualaikum Wr.Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul “Uji Pertumbuhan Dan Karakterisasi Probiotik dari Kawasan Hutan Mangrove Pada Medium Dengan Sumber Nitrogen dan Karbon Alternatif” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains di Universitas Lampung.

Dalam penyelesaian tesis ini Penulis mendapatkan banyak sekali bantuan dari beberapa pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
4. Bapak Dr. Sumardi, M.Si., selaku pembimbing I, sekaligus Pembimbing Akademik atas semua ilmu, nasihat, bimbingan, arahan dan bantuan selama masa perkuliahan maupun dalam penyelesaian tesis ini.
5. Ibu Rochmah Agustina, S.U., Ph.D., selaku pembimbing II yang dengan sabar membimbing, memberi perhatian, memberi nasihat dan membagi ilmu serta membantu penulis menyelesaikan tesis ini.
6. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc. selaku pembahas I yang telah memberi masukan, kritik, nasihat, arahan dan saran, kepada penulis hingga terselesainya tesis ini.
7. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku pembahas II yang telah memberikan bimbingan, masukan, saran, nasihat, arahan, dan ilmu, kepada penulis sehingga tesis ini dapat diselesaikan dengan baik.

8. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Program Studi Magister Biologi Universitas Lampung.
9. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Lampung.
10. Bapak Ir. Salam Farisi. M.Si., selaku kepala Laboratorium Mikrobiologi serta Mba Oni Mastuti yang sudah mengizinkan penulis melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi serta selalu memberikan motivasi dan dukungan moril kepada penulis selama melaksanakan penelitian.
11. Kedua orang tua, Papa (Aston) dan Mama (Pispaneti) yang selalu kebersamaian serta memberi dukungan baik moril, maupun materil, kasih sayang, dan doa yang diberikan dengan keikhlasan selama hidup
12. Ketiga saudara , kakak (Anestia Wulandari), kakak ipar (Dimas Bowo Leksono) dan adik (Muhamad Ilham Rajab) dan keponakan (Mohammad Yahya Alfatih) yang telah memberikan perhatian, motivasi dan kebahagiaan serta selalu mendengarkan keluh kesah penulis.
13. Sahabat-sahabat yang selalu bersedia menampung semua keluh kesah, memberi dukungan moral dan mendoakan. Yuni, Azni, Kak Ros, Jashinda, Komang, Benny, Agung, Theo, Mba Di, Titin, ketut, Bunci dan Bunlik.
14. Team penelitian Probiotik yang selalu memberi semangat dan membantu, Kak Ken, Irma, Mba kiki dan Krishna.
15. Teman-teman Mikrobiologi yang selalu menghibur dan membantu, Suminta, Moza, dan Sesti.
16. Teman-teman magister Biologi 2019, terimakasih atas kebersamaannya.
17. Serta almamater Universitas Lampung yang tercinta.

Demikianlah, semoga tesis ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan bagi setiap yang membacanya.

Bandarlampung, 8 Juni 2022

Rizka Oktavia

DAFTAR ISI

	Hal.
DAFTAR TABEL	Vi
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Kerangka Fikir	4
1.5 Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Probiotik	7
2.2 Jenis-jenis Probiotik	8
2.2.1 <i>Bacillus</i> sp	8
2.2.2 <i>Lactobacillus</i> sp	9
2.2.3 Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA)	10
2.3 Kebutuhan Nutrisi Bakteri	10
2.3.1 Air	11
2.3.2 Mineral Penting	11
2.3.3 Nitrogen	11
2.3.3.1 Urea	12
2.3.3.2 Amonium Sulfat	12
2.3.4 Sumber Karbon	13
2.3.4.1 Gula Aren	13
III. METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu	14
3.2. Alat dan Bahan	14
3.2.1. Alat Penelitian	14
3.2.2. Bahan penelitian	14
3.3. Rancangan Penelitian	14
3.4. Pelaksanaan Penelitian	16
3.4.1. Peremajaan biakan	16
3.4.2. Pembuatan Media	16
3.4.2.1. Pembuatan Media SWCB	16
3.4.2.2. Pembuatan Media Gula Aren + Urea	17
3.4.2.3. Pembuatan Media Gula Aren + Amonium Sulfat	17

3.4.2.4. Pembuatan Media Gula Aren + Urea + Amonium Sulfat	17
3.4.3. Uji Pertumbuhan	17
3.4.4. Pengukuran Jumlah Sel Bakteri	18
3.4.5. Perhitungan Total Asam	19
3.4.6. Uji Karakterisasi Bakteri	20
3.4.6.1. Uji Ketahanan Terhadap Keasaman Lambung (pH)	20
3.4.6.2. Uji Ketahanan Terhadap Temperatur (Suhu)	20
3.4.7. Uji Reduksi Gula Aren	20
3.4.7.1. Pembuatan Pereaksi DNS	20
3.4.7.2. Pembuatan Kurva Standar Glukosa	21
3.4.7.3. Pembuatan Kurva Standar Fruktosa	21
3.4.7.4. Penentuan Kandungan Gula Reduksi	21
3.5. Analisis Data	21
IV. Hasil dan Pembahasan	
4.1. Hasil Penelitian	22
4.1.1. Uji Pertumbuhan Bakteri	22
4.1.2. Nilai Total Asam Pertumbuhan Bakteri Probiotik	24
4.1.3. Karakterisasi Bakteri Probiotik	25
4.1.4. Uji Reduksi Gula Aren	25
4.2. Pembahasan	26
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	30
5.2 Saran	30

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel		Hal.
1.	Rancangan Percobaan	15
2.	Nilai Total Asam Media Setelah Inkubasi Bakteri	25
3.	Karakterisasi Bakteri Probiotik pada PH dan Suhu	26
4.	Kandungan Glukosa dan Fruktosa Pada Gula Aren	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
1. Tahapan Penelitian	16
2. Tahapan Uji Pertumbuhan Bakteri	18
3. Hasil Uji Pertumbuhan Bakteri pada Media SWC	23
4. Hasil Uji Pertumbuhan Bakteri pada Media Aren Urea	24
5. Hasil Uji Pertumbuhan Bakteri pada Media Aren Amonium	24
6. Hasil Uji Pertumbuhan Bakteri pada Media Aren Urea Amonium	25
7. Hasil Uji Ketahanan Terhadap Suhu	30

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ekosistem mangrove adalah ekosistem yang bersifat kompleks dan dinamis, namun labil karena ekosistemnya dipenuhi oleh vegetasi mangrove yang merupakan habitat bagi berbagai satwa dan biota perairan. Menurut Anwar dan Gunawan (2007) hutan mangrove menjadi tempat berkembangnya komunitas bakteri. Bakteri mengisi sejumlah pori-pori tanah dan menjadi komponen dasar fungsi ekologis lingkungan (Wijiyono, 2009). Bakteri pada budidaya udang dapat dikembangkan untuk menghasilkan probiotik. Probiotik merupakan mikroba yang menguntungkan untuk memperbaiki keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan, fisiologis, dan kesehatan inangnya. Senyawa-senyawa racun hasil dari metabolisme bakteri probiotik seperti asam laktat, hidrogen peroksida, bakteriosin bersifat antimikroba atau antibiotik sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen (Yulvizar, 2013).

Terdapat berbagai jenis bakteri di kawasan hutan mangrove yang berpotensi sebagai probiotik diantaranya bakteri *Bacillus coagulans* dan *Bacillus sp.* Hasil penelitian Sumardi dkk. (2019) membuktikan bahwa bakteri *Bacillus sp.* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada hari keempat. Sementara hasil kajian aktivitas enzim *xilanase* dari isolat *Bacillus sp.*, UJ131 dapat menjadi kandidat probiotik karena menghasilkan enzim *xilanase* (Sumardi dkk., 2020). Selain menghasilkan *xilanase* isolat bakteri *Bacillus* IP121 menghasilkan enzim *protease* tertinggi ketiga dari 4 isolat bakteri yang ditemukan pada kultur dengan berbagai substrat yang berbeda (Sumardi dkk., 2019).

Hasil penelitian lainnya juga membuktikan bahwa isolat bakteri IBK3 dan ID2K1 dapat menjadi kandidat probiotik, karena mampu memproduksi *mananose*

terutama IBK3 (Sumardi dkk., 2020). Bakteri *ammonia-oxidizing bacteria* (AOB) hasil penelitian Putri (2021) membuktikan bahwa bakteri pengoksidasi amonia berperan dalam menjaga kualitas lingkungan dengan membantu proses penguraian di alam. Sedangkan bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) diketahui berpotensi menjadi kandidat probiotik, karena dapat menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. setelah 2 hari masa inkubasi (Sumardi dkk., 2019). Sumardi dkk. (2021) juga menemukan bahwa bakteri *Lactobacillus* sp. berpotensi sebagai kandidat probiotik karena dapat meningkatkan tingkat kelangsungan hidup udang sebesar 86,67%.

Kelangsungan hidup bakteri sangat dipengaruhi oleh ketersediaan sumber karbon dan nitrogen. Menurut Muharni (2007), penggunaan sumber nitrogen dan sumber karbon yang tepat pada media kultur dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme. Pada penelitian sebelumnya sumber karbon dan nitrogen yang dipakai berasal dari bahan kemasan siap pakai yang harganya cukup mahal. Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian sumber karbon dan nitrogen alternatif yang lebih murah untuk menumbuhkan bakteri probiotik yang berasal dari kawasan hutan mangrove, setelah berhasil ditumbuhkan bakteri tersebut akan digunakan kembali pada habitat aslinya.

Hasil penelitian Doresti dkk. (2018) membuktikan bahwa senyawa sumber karbon dan nitrogen yang terbaik sebagai ko-substrat media pertumbuhan *Pseudomonas* sp. masing-masing adalah glukosa dan urea. Sumber nitrogen dalam bentuk amonium sulfat pada media bakteri asam laktat juga diketahui merupakan sumber nitrogen terbaik kedua setelah sumber karbon kemasan siap pakai untuk pertumbuhan bakteri (Safitri, 2016). Sementara Susilowati (2014) membuktikan bahwa gula aren dapat meningkatkan jumlah total bakteri asam laktat sebesar 7,19% selama proses fermentasi.

Pertumbuhan bakteri pada suatu media juga dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan diantaranya: pH dan suhu. Mikroba tumbuh dengan baik pada kisaran suhu sekitar 20 °C - 45 °C. Beberapa bakteri mampu tumbuh dan menyesuaikan

diri untuk bertahan hidup dan berkembang pada suhu yang lebih tinggi, bakteri-bakteri yang demikian disebut bakteri termofilik (Stuart, 2005).

Dalam penelitian ini, dilakukan kajian untuk mendapatkan sumber karbon dan nitrogen alternatif untuk media pemeliharaan probiotik yang mudah di dapat dan murah harganya. Gula aren akan dicobakan sebagai sumber karbon dan urea serta amonium sulfat yang akan dicobakan sebagai sumber nitrogen. Baik sumber karbon maupun sumber nitrogen yang diuji cobakan dalam media probiotik ini harganya murah dan mudah didapatkan di sekitar. Bakteri yang dihasilkan dari media percobaan di atas kemudian akan diamati karakternya pada kondisi lingkungan pH dan suhu tertentu.

1.2. Tujuan

Tujuan penelitian ini sebagai berikut.

1. Mengetahui jumlah pertumbuhan sel bakteri probiotik *Bacillus* sp. 1P121, *Bacillus* IBK3, *Lactobacillus* sp., Bakteri AOB, Bakteri BFA pada media dengan sumber karbon dari gula aren dan sumber nitrogen dari urea serta amonium sulfat.
2. Mengetahui karakter bakteri probiotik hasil uji pertumbuhan pada media dengan sumber karbon dari gula aren dan sumber nitrogen dari urea serta amonium sulfat pada kondisi lingkungan pH dan suhu tertentu

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah didapatkan metode untuk membuat media pertumbuhan probiotik dengan sumber karbon dari gula aren dan sumber nitrogen dari amonium sulfat dan urea yang mudah didapat. Media yang didapatkan dapat diproduksi massal sehingga dapat dijual dengan harga murah kepada para petambak.

Manfaat lainnya adalah setelah diketahui karakteristik bakteri probiotik yang ditumbuhkan dengan kondisi lingkungan pH dan suhu tertentu pada media uji dapat menjadi acuan untuk menumbuhkan bakteri probiotik pada kondisi lingkungan yaitu pH dan suhu yang optimum

1.4. Kerangka Fikir

Probiotik merupakan bakteri yang dapat memperbaiki metabolisme inang atau memperbaiki kualitas lingkungan. Penelitian sebelumnya berhasil mendapatkan bakteri yang berpotensi sebagai probiotik. Bakteri *Bacillus* IP121 yang diisolasi dari ikan pirit diketahui dapat memproduksi enzim *protease*. *Protease* dapat meningkatkan mikroflora normal dalam usus hewan. Bakteri *Bacillus* IBK3 yang diisolasi dari sedimen hutan mangrove mampu menghasilkan enzim *mananase*. Enzim *mananase* adalah enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis manan menjadi mannose dan *mannooligosaccharide*. *Mannose* dan *mannooligosaccharide* merupakan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan IBK3. Juga diperlukan untuk pertumbuhan udang.

Bakteri AOB yang diisolasi dari sedimen hutan mangrove dapat dimanfaatkan dapat untuk menjaga kualitas lingkungan karena dapat meningkatkan proses dekomposisi di alam. Bakteri BFA mampu menekan pertumbuhan *Vibrio* sp. pada waktu 2 hari inkubasi. Bakteri *Lactobacillus* sp. dapat menjadi probiotik karena dapat meningkatkan laju pertumbuhan udang sebesar 86,67%.

Pertumbuhan probiotik sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi yang optimum dalam media. Ketersediaan sumber karbon dan nitrogen yang optimum dalam media mempercepat produksi metabolit bakteri, karena nitrogen dan karbon merupakan komponen utama untuk pertumbuhan bakteri. Pada penelitian-penelitian sebelumnya digunakan sumber karbon dan nitrogen dari bahan komersil yang harganya mahal, sehingga perlu dilakukan pencarian sumber karbon dan nitrogen alternatif yang lebih murah.

Hasil penelitian sebelumnya membuktikan bahwa penambahan sumber karbon dari fruktosa dan sumber nitrogen dari urea pada medium kultur dapat meningkatkan pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dan bakteri asam laktat yang juga merupakan bakteri probiotik. Penambahan gula aren pada medium kultur dapat meningkatkan jumlah total bakteri asam laktat sebesar 7,19% selama proses fermentasi.

Faktor lingkungan seperti suhu dan pH merupakan faktor penting bagi pertumbuhan bakteri. Umumnya bakteri tumbuh optimal pada suhu sekitar 20 °C - 45 °C. Beberapa bakteri mampu beradaptasi dan tumbuh pada kondisi suhu yang ekstrim seperti bakteri *Lactobacillus casei* yang tumbuh optimum pada suhu 30 °C – 37 °C, meskipun masih mampu tumbuh pada suhu 15 °C. pH lingkungan juga sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Umumnya bakteri akan tumbuh secara optimum pada lingkungan dengan pH netral, namun spesies BAL toleran terhadap kondisi lingkungan yang asam.

Kajian pada penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan sumber karbon dan nitrogen alternatif. Dalam penelitian ini digunakan sumber karbon berupa gula aren dan sumber nitrogen berupa urea dan amonium sulfat yang murah dan mudah didapatkan. Bakteri yang dihasilkan dalam kajian ini dikarakterisasi dalam kondisi lingkungan pH dan suhu tertentu.

1.5.Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini sebagai berikut.

1. Bakteri probiotik *Bacillus* sp. IP121, *Bacillus* sp. IBK3, *Lactobacillus* sp. AOB dan BFA dapat tumbuh pada media yang mengandung gula aren, urea dan amonium sulfat
2. Bakteri probiotik yang ditumbuhkan pada media dengan kandungan gula aren, urea dan amonium sulfat memiliki karakter tumbuh pada kondisi lingkungan pH dan suhu tertentu

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Probiotik

Kata probiotik berasal dari bahasa latin yang berarti untuk kehidupan dan secara harfiah merujuk pada bakteri yang menguntungkan atau bakteri baik, atau bakteri sehat. Probiotik adalah mikroba atau pakan alami mikroskopis yang bersifat menguntungkan dan memberikan dampak bagi peningkatan keseimbangan mikroba dalam saluran usus hewan inangnya (Irianto, 2003). Pada budidaya ikan pemberian probiotik secara teratur dapat meningkatkan kesehatan, karena bakteri probiotik yang hidup dalam usus dapat menyeimbangkan mikroba normal usus. Mekanisme probiotik di dalam menormalkan keseimbangan mikroba usus adalah melalui kompetisi nutrisi, kompetisi reseptor untuk menempel pada sel epitel, produksi anti mikrobia, dan stimulasi imunitas pada ekosistem endogenus (Lamprecht dkk., 2012).

Salah satu mekanisme kerja bakteri probiotik untuk bertahan hidup dalam saluran pencernaan inang adalah menempel pada usus inang. Kemampuan menempel yang kuat pada usus inang akan menyebabkan probiotik berkembang dengan baik dan mereduksi mikroba-mikroba patogen dari usus inang, sehingga perkembangan organisme-organisme patogen dalam saluran pencernaan akan terhambat. Mikroorganisme probiotik diketahui mampu mempengaruhi beberapa aspek sistem kekebalan hewan inang (Subagiyo dan Ali, 2011). Probiotik mampu mengeksresi toksin berupa antibiotik bagi mikroba patogen, sehingga penyakit yang ditimbulkan oleh mikroba patogen tersebut akan berkurang dan dapat hilang atau sembuh dengan sendirinya. Dengan demikian, keberadaan probiotik di dalam saluran pencernaan memberikan keuntungan terhadap kesehatan hewan tersebut karena menjadi tahan terhadap serangan penyakit (Yulvizar dkk., 2014).

Pada saat memilih mikroorganisme yang akan dijadikan probiotik, persyaratan yang harus dimiliki oleh mikroba calon probiotik untuk budidaya ikan dan udang

- 1) tidak bersifat patogen atau mengganggu ikan dan udang yang dibudidayakan dan tidak bersifat patogen bagi konsumennya maupun hewan lainnya,
- 2) tidak mengganggu keseimbangan ekosistem setempat,
- 3) mikroba tersebut hendaknya dapat dengan mudah dipelihara dan diperbanyak,
- 4) dapat bertahan hidup serta berkembang biak di dalam usus ikan dan udang yang dibudidayakan,
- 5) dapat dipelihara dalam media yang memungkinkan untuk diintroduksi ke dalam usus ikan, dan
- 6) dapat hidup dan berkembang di dalam air tempat pemeliharaan ikan atau udang (Feliatra dkk., 2004).

2.2. Jenis-jenis Probiotik

Dalam kajian ini yang akan diteliti adalah bakteri kandidat probiotik antara lain bakteri *Lactobacillus*, *Bacillus* (IP121), *Bacillus* (IBK3), *Ammonia-Oxidizing Bacteria* (AOB) dan Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA).

2.2.1. *Bacillus* sp.

Bacillus sp. masuk ke dalam golongan kelas bakteri heterofilik, yaitu protista yang bersifat uniseluler dan termasuk ke dalam golongan mikroorganisme dekomposer. Marga *Bacillus* termasuk kelompok bakteri berbentuk batang yang bisa kita jumpai di tanah dan air termasuk pada air laut. Beberapa jenis *Bacillus* menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks. *Bacillus* spp. membentuk endospora, merupakan gram positif, memiliki flagel peritrikus sebagai alat gerak, dapat bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif, serta bersifat katalase positif (Grauman, 2010).

Bacillus sp. merupakan bakteri antagonis yang dapat menekan beberapa penyakit pada tanaman. *Bacillus* berukuran antara $0,3-22 \times 1,27-7 \mu\text{m}$. Sebagian *Bacillus* bersifat motil yang disebabkan oleh flagel. Jika *Bacillus* dipanaskan akan membentuk endospora, yaitu bentuk dorman sel vegetatif sebagai bentuk pertahanan diri yang muncul saat kondisi ekstrim.

Genus *Bacillus sp.* digunakan sebagai agen bio kontrol secara luas, karena menghasilkan zat antimikroba berupa bakteriosin yaitu senyawa peptida atau protein yang diproduksi oleh mikroorganisme yang bersifat bakterisida. Bakteriosin membunuh sel targetnya dengan menyisip kedalam membran target sehingga mengakibatkan fungsi membran sel target menjadi tidak stabil dan mengakibatkan sel lisis (Compant dkk., 2005). *Bacillus sp.* juga diketahui menghasilkan spora dan enzim kitinase yang mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *Aspergillus sp.* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) secara in vivo maupun in vitro. *Bacillus sp.* juga menghasilkan enzim yang banyak digunakan dalam industri diantaranya *Bacillus spp.* penghasil enzim α -amilase yang banyak digunakan dalam industri untuk menghidrolisis ikatan α -1,4 glikosidik pati, glikogen, dan substrat sejenisnya. Fuad dkk. (2004) melaporkan *Bacillus thermoglucosidasius* AF-01 memproduksi parsial protease alkali yang mempunyai daya proteolitik tinggi sehingga banyak digunakan pada industri detergen dan makanan. Klasifikasi bakteri *Bacillus sp.* adalah :

Kingdom : Procaryotae

Divisi : Bacteria

Kelas : Schizomycetes

Bangsa : Eubacteriales

Suku : Bacillaceae

Marga : *Bacillus*

Jenis : *Bacillus sp.* Jawetz dkk. (2005).

2.2.2. *Lactobacillus sp.*

Lactobacillus sp. merupakan bakteri yang berbentuk batang, *non-motile*, gram-positif, dan bersifat negatif pada uji katalase dan oksidase. *Lactobacillus sp.* banyak terdapat dalam makanan fermentasi, susu, keju dan beberapa *Lactobacillus sp.* ditemukan pada buah-buahan. *Lactobacillus sp.* sering disebut juga kelompok bakteri asam laktat, hal ini disebabkan kemampuannya dalam mengubah laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat (Sheeladevi dan Ramanathan, 2011). Kebanyakan dari bakteri ini umumnya tidak berbahaya bagi kesehatan. Produksi asam laktatnya membuat lingkungan sekitarnya bersifat asam

yang dapat mengganggu pertumbuhan beberapa bakteri lain yang merugikan (Nair dan Surendran, 2005).

Sejauh ini diketahui bahwa keberadaan bakteri ini tidak bersifat patogen dan aman bagi kesehatan sehingga sering digunakan dalam industri pengawetan makanan, minuman, dan dapat berpotensi sebagai probiotik. Sifat yang menguntungkan dari bakteri *Lactobacillus sp.* sebagai probiotik adalah dapat digunakan untuk mendukung peningkatan kesehatan. Bakteri tersebut berperan sebagai mikroba normal dalam sistem pencernaan. Fungsinya adalah untuk menjaga keseimbangan asam dan basa sehingga pH dalam usus konstan.

2.2.3. Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA)

Bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) secara morfologi adalah bakteri bersel tunggal, mayoritas berbentuk batang, spiral, bulat dan koma. BFA bersifat gram negatif dan memiliki flagel sebagai alat geraknya berwarna merah, jingga atau hijau yang disebabkan oleh adanya kandungan foto pigmen bakteri klorofil-a dari senyawa karotenoid antara lain lycopene, spirilloxantin, okenon dan hidroksisferoidenon. Selain itu BFA juga mengandung protein, vitamin B2, vitamin B6, vitamin B12 dan vitamin E (Ardia,2019).

BFA merupakan bakteri yang dapat ditemukan di wilayah perairan tercemar logam berat. BFA dapat berfotosintesis dengan menggunakan H₂S sebagai sumber donor elektron dan CO₂ sebagai sumber karbonnya. BFA bersifat menguntungkan diantaranya sebagai kandidat probiotik, biofertilizer, agen bioremediasi, dan menurunkan konsentrasi H₂S di perairan (Sumardi dkk., 2019)

2.3. Kebutuhan Nutrisi Bakteri

Sama seperti makhluk hidup lainnya, bakteri juga memerlukan energi untuk pertumbuhannya. Suatu organisme sangat bergantung pada pasokan hormon eksogen untuk tumbuh, berkembang, dan mempertahankan hidupnya. Dengan demikian itu nutrisi dalam media tumbuhnya harus mengandung unsur sumber energi, karbon, nitrogen, dan unsur anorganik lainnya seperti : molekul organik

kompleks, asam – asam lemak, asam – asam amino, dan vitamin – vitamin (Haribi, 2008)

Berbagai sumber nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri diantaranya :

2.3.1. Air

Air yang berada di dalam media diperlukan oleh sel-sel untuk membantu nutrien-nutrien dengan bobot molekul rendah melintasi membran sel atau sebagai pelarut dan alat pengangkut dalam metabolisme (Capuccino dkk., 2014).

2.3.2. Mineral penting

Selain C, H, O dan N, mikroba memerlukan mineral-mineral lainnya sebagai nutrisi untuk menyusun selnya. Mineral utama penyusun sel selain unsur-unsur diatas adalah P, K, Ca, Mg, Na, S, Cl. Sedangkan unsur-unsur mineral yang diperlukan dalam jumlah yang sangat sedikit adalah Fe, Mn, Co, Cu, Bo, Zn, Mo dan Al. Unsur-unsur mineral tersebut selain penting untuk menyusun sel juga berfungsi sebagai pengatur tekanan osmosis, kadar ion hidrogen, permeabilitas membran, dan potensial oksidasi reduksi suatu medium (Sumarsih, 2003).

2.3.3. Nitrogen

Sumber nitrogen merupakan nutrisi yang sangat dibutuhkan oleh mikroba untuk sintesis protein, sintesis asam nukleat, pertumbuhan sel dan biosintesis mikroba. Asam nukleat (DNA dan RNA) fungsinya sebagai informasi genetik dalam sel. Fosfor berfungsi untuk sintesis ATP, asam nukleat dan membran sel (Sumarsih, 2003)

Mikroba dapat menggunakan nitrogen dalam bentuk ammonium, nitrat, asam amino, protein dan sebagainya. Beberapa mikroba dapat menggunakan nitrogen dalam bentuk gas N₂ (zat lemas) udara. Mikroba ini disebut mikrobia penambat nitrogen (Puspitasari dan Sidik, 2009)

2.3.3.1. Urea

Urea atau biasa disebut karbamida adalah senyawa organik yang terdiri dari unsur karbon, hidrogen, oksigen dan nitrogen dengan rumus molekul $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ serta mengandung 46,7% nitrogen. Secara fisik urea berbentuk kristal padat berwarna putih, mudah larut dalam air, dan bersifat higroskopis. Sifat higroskopis tersebut mengakibatkan metode penyimpanannya harus sedemikian rupa untuk menghindari kerusakan. Temperatur penyimpanan urea supaya tidak mudah rusak berkisar antara $10\text{ }^\circ\text{C}$ – $30\text{ }^\circ\text{C}$ dengan kelembaban relatif kurang dari 70% (Yanuartono dkk., 2017).

Urea merupakan sumber nitrogen bagi mikroorganisme sehingga proses fermentasinya berjalan dengan baik. Penambahan urea mampu meningkatkan kandungan protein secara optimal. Diketahui kandungan nitrogen yang terdapat dalam urea sebanyak 42% - 45% atau setara dengan protein kasar antara 262% - 281% (Permata, 2012). Urea juga berfungsi sebagai substrat pertumbuhan mikroorganisme, karena selama proses fermentasi kandungan gizi dalam urea dimanfaatkan mikroorganisme untuk mensintesis protein selnya. Dalam sel yang berguna dalam proses pewarisan sifat secara genetis kepada keturunannya (Irawan dan Utama, 2012). Sintesis protein yang baik mengakibatkan mikroorganisme seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus casei* dan *Rhodopseudomonas palustris* akan berkembang biak dengan optimal.

2.3.3.2. Amonium Sulfat

Amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) merupakan salah satu sumber nitrogen anorganik yang memiliki beberapa kelebihan yaitu tidak higroskopis, tahan disimpan dalam waktu lama, mudah larut dalam air, serta harga yang ekonomis. Penambahan amonium sulfat dalam substrat fermentasi meningkatkan aktivitas enzim sehingga mencapai aktivitas tertinggi dibandingkan dengan sumber nitrogen lainnya seperti amonium nitrat, amonium klorida, dan pepton. Pemanfaatan amonium sulfat dapat digunakan untuk menggantikan pepton untuk menekan biaya produksi probiotik (Mukhopadhyay, 1999).

2.3.4. Sumber Karbon

Mikroba dalam melakukan metabolismenya memerlukan energi. Sumber energi tersebut berasal dari senyawa karbon organik seperti. Menurut Sumarsih (2003) sumber karbon untuk mikroba dapat berbentuk senyawa organik maupun anorganik. Senyawa organik meliputi karbohidrat, lemak, protein, asam amino, asam organik, garam asam organik, polialkohol, dan sebagainya. Senyawa anorganik misalnya karbonat dan gas CO₂.

Sumber karbon merupakan salah satu komponen yang paling penting dalam media fermentasi sebagai sumber energi, karena komponen sel mikroba sebagian besar terdiri dari unsur-unsur karbon (Trismilah dan Wahyuntari, 2009). Berdasarkan atas kebutuhan karbon, bakteri dibedakan menjadi bakteri autotrof dan heterotrof. Bakteri autotrof ialah bakteri yang memerlukan sumber karbon dalam bentuk anorganik, misalnya CO₂ dan senyawa karbonat. bakteri heterotrof ialah bakteri yang memerlukan sumber karbon dalam bentuk senyawa organik (Kurnia dkk., 2016).

2.3.4.1. Gula Aren

Tanaman aren atau enau (*Arrenga pinnata* Merr.) merupakan tanaman hutan yang tumbuh subur di seluruh wilayah Indonesia. Habitat tanaman ini adalah di daerah-daerah pengunungan terutama di pinggiran sungai atau di tebing-tebing (Widyantara, 2019). Produk tanaman aren banyak, diantaranya yaitu sapu ijuk, sapu lidi, tetapi yang paling dominan adalah nira yang diolah menjadi gula aren (gula merah). Gula aren sudah sejak dahulu digunakan sebagai pemanis di masyarakat pedesaan, baik sebagai pemanis minuman ataupun dalam pembuatan kue (Widyantara, 2019). Nira aren yang kaya nutrisi adalah sumber media yang sangat baik untuk pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme menggunakan gula dalam nira sebagai sumber energi yang diubah melalui fermentasi (Naknean dkk., 2010).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret sampai Agustus 2021 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Oven, *laminar airflow*, *autoclave*, inkubator, tabung reaksi, erlenmeyer, *hotplate*, spiritus, timbangan digital, *hot plate*, *orbital shaker* dan volumetri, labu ukur, kertas saring, pipet tetes, spektrofotometer dan mikroskop.

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah suspensi bakteri, media SWC dengan komposisi (air laut 750 ml, akuades 250 ml, bacto peptone 5 g, yeast ekstrak 1 g, *glycerol* 3 ml dan bacto agar 15 g.), aquadest, gula aren, urea, indikator phenolphthalein, asam asetat, gliserol, amonium sulfate, agar batang, larutan fenol dan asam sulfat.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian faktorial yang dilaksanakan menggunakan rancangan acak kelompok lengkap (RAKL) dengan dua faktor. Faktor pertama yaitu jenis media yang terdiri dari media *Sea Water Complete* (SWC) sebagai kontrol (M1), gula aren + urea (M2), gula aren + amonium sulfat (M3), gula aren

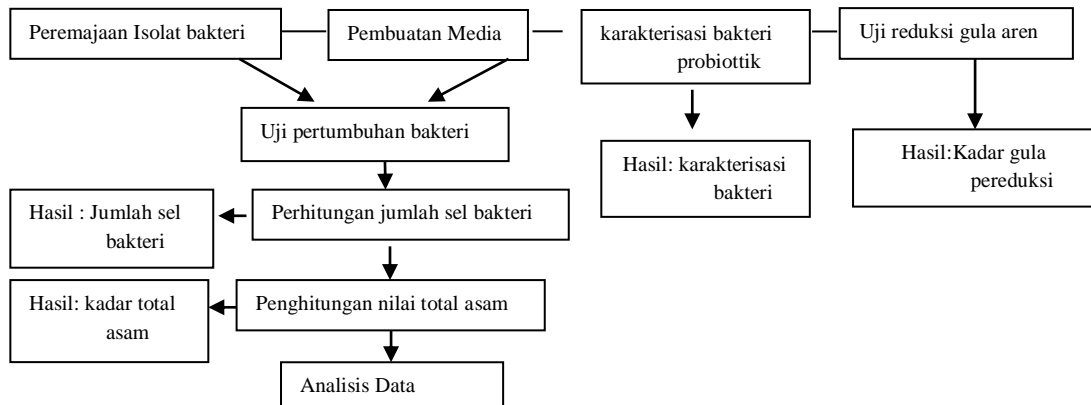
+ urea + amonium sulfat (M4). Faktor kedua yaitu jenis probiotik terdiri dari: *Lactobacillus* sp. dari fermentasi ubi jalar (L), *Bacillus* sp. (IP121) dari ikan pirit IP121, *Bacillus* sp. (IBK3) dari sedimen hutan mangrove, *ammonia-oxidizing bacteria* (AOB) dari sedimen hutan mangrove, dan Bakteri Fotositetik Anoksigenik (BFA) dari lumpur hutan mangrove. Dengan demikian diperoleh 20 unit percobaan dan setiap unit percobaan diulang 4 kali. Ulangan dianggap sebagai kelompok. Rancangan percobaan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rancangan percobaan

Bakteri	Media			
	M1	M2	M3	M4
L	LM1	L M2	LM3	LM4
IP121	IP121M1	IP121M2	IP121M3	IP121M4
IBK3	IBK3M1	IBK3M2	IBK3M3	IBK3M4
AOB	AOBM1	AOBM2	AOBM3	AOBM4
BFA	BFAM1	BFAM2	BFAM3	BFAM4

Keterangan M1 = Media *Sea Water Complete* (SWC)
M2 = Media gula aren + urea
M3 = Media gula aren + amonium sulfat
M4 = Media gula aren + urea + amonium sulfat
L = Bakteri *Lactobacillus* sp.
IP121 = Bakteri *Bacillus* sp. IP121
IBK3 = Bakteri *Bacillus* sp. IBK3
AOB = Bakteri *ammonia-oxidizing bacteria*
BFA = Bakteri Bakteri Fotositetik Anoksigenik

Tahapan penelitian dalam bentuk bagan alir seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan alir penelitian

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Peremajaan biakan bakteri

Isolat bakteri yang digunakan adalah isolat *Bacillus* sp. IBK3 dan IP121, *Lactobacillus* sp., bakteri Fotosintetik (BFA), dan bakteri pengoksidasi amonia (AOB) yang merupakan isolat koleksi Laboratorium Mikrobiologi jurusan biologi FMIPA Universitas Lampung. Peremajaan isolat dilakukan dengan cara mengambil satu jarum ose biakan murni bakteri. Isolat kemudian digoreskan pada media agar dengan permukaan miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam

3.4.2. Pembuatan Media

3.4.2.1. Pembuatan Media Sea Water Completed Broth (SWCB)

Medium SWCB dibuat dengan menimbang 1,25 g bactopectone; 0,25g yeast ekstrak; 0,75 ml gliserol kemudian dilarutkan dalam 62,5 mL akuades dan 187,5 ml air laut. Media dipanaskan di atas *hotplate* hingga homogen, sebelum disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121 °C selama 15 menit (Sumardi dkk., 2019).

3.4.2.2. Pembuatan Media Gula Aren + Urea (AU)

Media dibuat dengan cara melarutkan 0,25gr urea dan 1,25gr gula aren dalam campuran 63,5 ml aquades dan 18,5 ml air laut. Media disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121 °C selama 30 menit (Subagyo, 2015).

3.4.2.3. Pembuatan Media gula aren + amonium sulfat (AA)

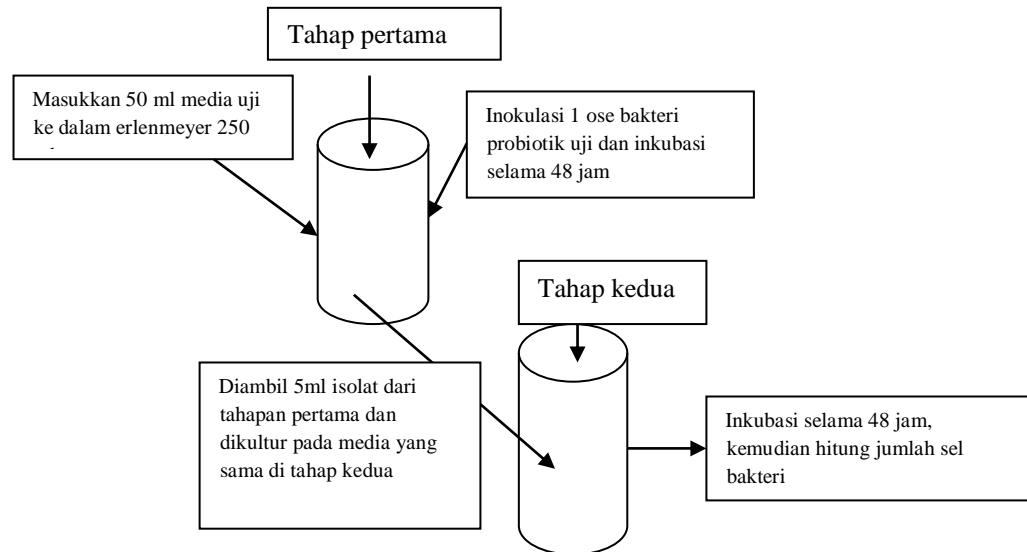
Pembuatan media diawali dengan menimbang 0,5 gr amonium sulfat, 1,25gr gula aren, kemudian dilarutkan dalam 63,5 ml aquades dan 18,5 ml air laut. Media disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121 °C selama 30 menit untuk menghindari tumbuhnya mikroorganisme yang tidak diinginkan (Doresti, 2018).

3.4.2.4. Pembuatan Media gula aren + urea + amonium sulfat (AUA)

Pembuatan media dilakukan dengan cara menimbang 0,125 gr urea, 0,25 gr amonium sulfat, 1,25gr gula aren dan dilarutkan ke dalam 63,5 ml aquades dan 18,5 ml air laut. Media yang telah larut disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121 °C selama 30 menit untuk menghindari tumbuhnya mikroorganisme yang tidak diinginkan (Subagiyo, 2015) .

3.4.3. Uji Pertumbuhan Bakteri

Uji pertumbuhan bakteri dilakukan dengan dua tahapan dengan media uji yang sama. Tahapan pertama dilakukan dengan cara menuangkan 50 ml media pengujian steril ke dalam erlenmeyer 250 ml. Ke dalam media tersebut diinokulasikan 1 ose bakteri probiotik yang diuji, kemudian diinkubasi menggunakan *orbital shaker* selama 48 jam. Tahapan kedua dilakukan dengan cara mengambil 5 ml bakteri hasil uji pertumbuhan tahap pertama dan dikultur ke dalam media baru yang sama seperti tahap pertama. Kultur kemudian diinkubasi dalam *orbital shaker* selama 48 jam. Setelah 48 jam dihitung jumlah sel bakteri dengan hitungan langsung dibawah mikroskop (Setyawati dkk., 2019). Tahapan uji pertumbuhan dapat dilihat pada gambar dibawah (Gambar 2).



Gambar 2. Tahapan Uji Pertumbuhan Bakteri

3.4.4. Pengukuran Jumlah Sel Bakteri

Pengukuran jumlah sel bakteri dilakukan secara langsung di bawah mikroskop dengan cara menambahkan 0,1 ml suspensi bakteri ke dalam 0,9 ml aquades steril yang dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* selama 1-2 menit, sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Sebanyak 0,1 ml hasil dari pengenceran 10^{-1} diambil dan diletakkan di atas gelas objek berukuran 1 mm x 1 mm, kemudian dilakukan pengecatan Gram.

Setelah pengecatan gram, gelas objek diletakkan dibawah mikroskop untuk dilakukan penghitungan jumlah sel bakterinya. Jumlah sel bakteri dihitung secara langsung dengan menghitung jumlah sel pada luas lapang pandang mikroskop. Penentuan luas lapang pandang mikroskop dilakukan dengan mengukur diameter areal pandang mikroskop menggunakan mikrometer objektif berskala 25 skala terkecil 0,01 mm. Setelah nilai diameter areal pandang mikroskop diketahui, kemudian di bagi 2 untuk menentukan jari-jari luas lapang pandang mikroskop dan dimasukkan ke dalam rumus berikut:

$$\begin{aligned} \text{Luas areal pandang mikroskop} &= \pi r^2 \text{ mm}^2 \\ &= \pi r^2 \times 10^{-2} \text{ mm}^2 \end{aligned}$$

Dimana r = jari-jari areal pandang mikroskop dalam cm (Sutrisna, 2012).

Perhitungan jumlah sel bakteri secara langsung ditentukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Konsentrasi sel} = \frac{x}{\text{Luas lapang pandang mikroskop (mm}^2\text{) x t (mm)}}$$

Keterangan : x = rata-rata jumlah sel bakteri yang dapat dihitung

t = tinggi isolat bakteri pada gelas objek (Sutrisna, 2012).

3.4.5. Perhitungan Total Asam

Pengukuran total asam media pertumbuhan dilakukan untuk menentukan nilai asam yang terbentuk pada media setelah terjadi pertumbuhan bakteri (Aisyah, 2019). Pengukuran total asam media pertumbuhan bakteri dilaksanakan setelah bakteri diinkubasi selama 48 jam. Sebanyak 10 ml biakan dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas. Biakan pada labu ukur dihomogenkan dan disaring menggunakan kertas saring. Sebanyak 10 ml filtrat hasil penyaringan dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 2 tetes indikator *Phenolphthalein* sebelum dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N. Titrasi dilakukan sampai terbentuk warna merah muda.

Kadar total asam media (%) dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan :

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times 0,09 \times \text{FP}}{\text{Volume Sampel}} \times 100$$

Keterangan :

N NaOH = Normalitas larutan NaOH (0,0981 N)

FP = Faktor Pengenceran

BM asam laktat = 0,09 (bobot setara asam laktat)

Standarisasi larutan NaOH 0,1 N (Djide dan Wahyuddin, 2008).

3.4.6. Uji Karakteristik Bakteri Probiotik

3.4.6.1. Uji Ketahanan Terhadap Keasaman Lambung (pH)

Uji ketahanan probiotik terhadap keasaman lambung dilakukan dengan cara membuat simulasi. Simulasi dilakukan dengan menguji probiotik pada pH 2,5-3 yang sama dengan pH lambung ikan. HCL 0,1N ditambahkan pada medium uji

sehingga didapatkan pH 2,5-3. Sebanyak 1 ose isolat bakteri uji dari stok kultur kemudian diinokulasikan ke dalam medium uji-HCl dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Bakteri yang tumbuh pada media uji-HCL dinyatakan dengan tanda positif dan bakteri yang tidak tumbuh dinyatakan dengan tanda negatif Djide dan Wahyuddin (2008).

3.4.6.2. Uji Ketahanan Terhadap Temperatur(Suhu)

Sebanyak 1 ose (ose bulat) isolat bakteri yang diuji dari stok kultur diinokulasikan pada medium SWCB dalam tabung reaksi. Tabung berisi isolat diinkubasi pada suhu 45 °C dan suhu ruang selama 2 x 24 jam. Bakteri yang tumbuh pada uji ketahanan terhadap temperatur dinyatakan dengan tanda positif dan bakteri yang tidak tumbuh dinyatakan dengan tanda negatif (Djide dan Wahyuddin, 2008).

3.4.7. Uji Reduksi Gula Aren

Uji reduksi gula aren dilaksanakan dengan menggunakan metode asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS)yaitu

3.4.7.1. Pembuatan pereaksi DNS

Sebanyak 1 g DNS (3,5-dinitrosalisilic acid) dilarutkan dalam 20 mL larutan NaOH 2N dan 50 mL aquadest. Ke dalam larutan tersebut kemudian ditambahkan 30 gram K-Na tartrat kemudian diaduk dengan magnetik stirer dan ditambahkan aquadest kembali hingga volume akhir 100 mL (Hasanah dan Iwan, 2015).

3.4.7.2. Pembuatan kurva standar glukosa

Sebanyak 1,5 mL larutan standar glukosa (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2) mg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 1,5 mL aquadest. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 1,5 mL reagen DNS dihomogenkan. Larutan kemudian dipanaskan selama 5 menit dan didinginkan (Hasanah dan Iwan, 2015). Setelah dingin, diukur absorbannya pada panjang gelombang (λ) 540 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Putri, 2016).

3.4.7.3. Pembuatan kurva standar fruktosa

Kurva standar fruktosa dibuat dengan memasukkan 1,5 mL larutan standar fruktosa (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2) mg/mL ke dalam tabung reaksi yang berisi 1,5 mL aquadest, kemudian ditambahkan sebanyak 1,5 mL reagen DNS dihomogenkan. Larutan kemudian dipanaskan selama 5 menit dan didinginkan (Hasanah dan Iwan, 2015). Setelah dingin, diukur absorbannya pada panjang gelombang (λ) 540 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Putri, 2016).

3.4.7.4. Penentuan Kandungan Gula Reduksi

Penetapan konsentrasi gula total yang terkandung dalam sampel dilakukan pada 1 mL sampel yang telah diencerkan dalam tabung reaksi dengan cara yang sama seperti pada pembuatan larutan standar. Menurut Pujiati dan Novi (2016) kandungan gula reduksi dihitung dengan mensubstitusi nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva standar glukosa dan fruktosa.

3.5. Analisis Data

Data yang diperoleh diuji varian menggunakan uji statistik ANOVA dengan $\alpha=0,05$. Apabila ada perbedaan pada hasil perlakuan, dilanjutkan dengan uji perbandingan perbandingan antar perlakuan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Tidak adanya perbedaan pengaruh media yang diuji terhadap jumlah sel bakteri yang tumbuh. Kelima isolat bakteri dapat tumbuh pada masing-masing media alternatif yang diuji. Sumber karbon dan nitrogen yang paling baik bagi pertumbuhan bakteri probiotik adalah gula aren dan urea.
2. Bakteri probiotik yang tumbuh baik pada media gula aren dan urea memiliki karakteristik dapat tumbuh pada media dengan sumber karbon gula aren dan sumber nitrogen urea serta amonium sulfat dengan pH 2,5 dan suhu 27 °C serta suhu 40 °C kecuali bakteri BFA.

5.2. Saran

Perlu dilakukan adanya pencarian lagi terhadap media alternatif lain dan jumlah konsentrasi yang berbeda pada media alternatif untuk menumbuhkan bakteri yang berpotensi sebagai probiotik

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, C. dan Gunawan, H. 2007. Peranan Ekologis dan Sosial Ekonomis Hutan Mangrove dalam Mendukung Pembangunan Wilayah Pesisir. *Prosiding Ekspose Hasil-Hasil Penelitian*. hal 1-12.
- Ardia, D., P. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Fotosintetik Anoksigenik Pada Hutan Mangrove Hanura Lampung Sebagai Kandidat Agen Bioremediasi Dan Probiotik. *Tesis*. Universitas Lampung. Lampung
- Atlas, R., M. 2004. *Handbook of Microbiological Media fourth Edition Volume 1*. United States Of America: CRC Press
- Azizah, N., Al-Baarri, A., N., dan Mulyani, S. (2012). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1(2): 72-77.
- Basir, B. dan Surianti. 2013. Penggunaan Prebiotik dan Probiotik pada Pakan Buatan terhadap Efisiensi Pakan dan Kualitas Air Media Pemeliharaan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Balik Diwa*. 4(1): 32-37
- Cappuccino, J. G., dan Sherman, N. 2013. *Manual Laboratorium biologi; alih bahasa, Nur Miftahurrahmah*. Jakarta: EGC.
- Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Clément, C., dan Barka, E., A. 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (4): 1685 – 1693.
- Djide, M. N., dan Wahyudin E. 2008. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu, dan Potensinya dalam Menurunkan Kadar Kolesterol secara In Vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 12(3)
- Doresti, L., Willis, A.S., dan Widiowati, I. 2018. Optimasi Sumber Karbon Dan Nitrogen Sebagai Co-Substrat Untuk Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Pseudomonas* sp. *Journal of Marine Research* Vol.7(3) : 178-184
- Feliatra., Efendi, I., dan Suryadi, E. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia* Vol.6(2): 75-80

- Fitri., Rizki, S., Rusmarilin, H., dan Ridwansyah. 2016. Pengaruh Pemberian Polisakarida Larut Air Bengkuang (*Pachyrhizus erosus* L.) terhadap Mencit Penderita Diabetes Mellitus. *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*. 4(3): 1-9.
- Fuad, A., M., Rahmawati, R., dan Mubarik, N.R. 2004. Produksi dan Karakterisasi Parsial Protease Alkali Termotabil *Bacillus thermoglucosidasius* AF-01. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. Vol. 9:29-35.
- Graumann, P. 2007. *Bacillus: Cellular and Molecular Biology*. Caister Academic Press.
- Haribi, R. 2008. *Mikrobia*. Semarang : Universitas Muhammadiyah Semarang
- Hasanah, N. dan Iwan, S. 2015. Aktivitas Selulase Isolat Jamur dari Limbah Media Tanam Jamur Merang. *PSNMBI*. 1(5): 1110-1115.
- Heprer, G., Fried, R., dan Jean, S. 1979. Hypocholesterolemic effect of yoghurt and milk. *American Journals of Clinical Nutrition*. 32 :19-24.
- Irawan, S. dan Utama. 2012. Komponen proksimat pada jerami padi dan jerami jagung yang difermentasi dengan berbagai aras isi rumen kerbau. *Animal Agriculture Journal Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro*. 1 (2): 17–30.
- Irianto, A. 2003. *Probiotik Akuakultur*. Cetakan I. Penerbit Gadjah Mada University Press. Bulaksumur Yogyakarta.
- Irmayuni, B., Nurmilah, Setiawan, A. 2018. Efektivitas Air Nira Lontar (*Borossus flabellifer*) Sebagai Bahan Pengembang Adonan Kue Apem. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*. 2(2018): 170-183.
- Jawetz, E., Melnick, J., L., dan Adelberg, E., A. 2005. Synergism and Antagonism Among Antimicrobial Drugs. *The Western Journal of Medicine*. 123: 87-91
- Kurnia, K., N., H., Sadi., dan Jumianto, S. 2016. Isolasi Bakteri Heterotrof di Situ Cibuntu, Jawa Barat dan Karakteristik Resistensi Asam dan Logam. *Journal of Biologi*. 9(2): 75-79.
- Koesoemawarda, D., Marniza., Rizal, S., dan Sella, N. 2016. Penambahan Konsentrasi Gula Aren pada Joruk (Produk Ikan Fermentasi). *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian* 12(2): 36 –39
- Lamprecht, M., Simon, B., Schippinger, G., Steinbauer, K., Fankhauser, F., Seth, H., Burkhard, S., and Joachim, F., G. 2012. Probiotic supplementation affects markers of intestinal barrier, oxidation, and inflammation in trained

- men; a randomized, doubleblinded, placebo-controlled trial. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 9(2) : 37-45.
- Madigan, M., T., Martinko, J. M., dan Parker, J. 2009. *Biology Of Microorganisms*. New York : Prentice Hall International.
- Moat, G., A., Foster, W., J., dan Spector, P., M. 2002. *Microbial Physiology*. fourth edition. Wiley-Liss. United States of Amerika.
- Muharni, E. dan Nurnawati, 2007. Pengujian aktivitas kitinase *Bacillus circulans* untuk dikembangkan sebagai agen biokontrol pada penyakit tanaman, *J. Penelitian Sains*. 1(2): 144-150.
- Mukhopadhyay, S. dan Nandi, B. 1999. Optimization of Cellulase Production by *Trichoderma reesei* ATCC 26921 Using a Simplified Medium on Water Hyacinth Biomass. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 58: 107-111.
- Nair, P., S. dan Surendran, P., K. 2005. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from fish and prawn. *Journal of Culture Collections*. Vol.4 :48-52.
- Naknean, P., M., Meenune., dan Roudaut, G. 2009. Changes in physical and chemical properties during the production of palm sugar syrup by open pan and vacuum evaporator. *Asian Journal Of Food And Agro-Industry*. 2(04): 449
- Najgebauer-Lejko, D., E., Sade, M., Grega, T., dan Walczycka, M. 2011. The Impact of Tean Supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of Yoghurt. *Journal Intern Dairy*. 21: 568-574
- Nanen, N., L. dan Hutkins, R., W. 2011. Proton-translocating adenosin triphosphate activity in lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci*. 74:747-751.
- Naufalin, R., Tri, Y., dan Anna, S. 2013. Pengaruh dan Konsetrasi Pengawet Alalmi Terhadap Mutu Gula Kelapa Yang dihasilkan. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 14 (3) : 165 – 174.
- Nyoyoko, Veronica, F., dan Anyanwu, C. 2019. *Isolation and Screening of Heavy MetalResistant Ammonia 2 Oxidizing Bacteria from Soil and Waste Dump: A Potential 3 Candidates forBioremediation Of Heavy Metals*. Research Scholar. University of Nigeria. Nigeria.
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S. 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 1. Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL, Penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: Elements Of Microbiology

- Permata, A., T. 2012. Pengaruh amoniasi dengan urea pada ampas tebu terhadap kandungan bahan kering, serat kasar dan protein kasar untuk penyediaan pakan ternak. *Artikel Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Prescott, L., M., Harley, J., P., dan Klein D., A. 2008. *Microbiology 7th Edition*. McGraw-Hill Book. USA.
- Pujiati, C., dan Novi, P. 2016. Analisis Kadar Gula Reduksi pada Fermentasi Kacang Gude (*Cajanus cajan*) oleh *Aspergillus niger*. *Proceeding Biology Education Conference (ISSN: 2528-5742)*, Vol 13(1): 832-835
- Puspitasari, N. dan Sidik, M. 2009. Pengaruh Jenis Vitamin B dan Sumber Nitrogen dalam Peningkatan Kandungan Protein Kulit Ubi Kayu melalui Proses Fermentasi. *Seminar Tugas Akhir S1 Teknik Kimia Universitas Diponegoro*. 1-8.
- Putri, D.A. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Fotosintetik Anoksigenik pada Hutan Mangrove Hanura Lampung sebagai Kandidat Agen Bioremediasi dan Probiotik. (*Tesis*). Universitas Lampung.
- Ruth, S., H. 2018. Pengaruh Penambahan Gula Aren (*Arengapinnata*) Terhadap Mutu Bekasam Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Agritech* 33(3): 265-271
- Safitri, N., Titi, C., S., dan Anja, M. 2016. Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu. *Jurnal Sumber Daya Hayati*. 2 (2): 31-38
- Setyawati, D., Nur, M., H., dan Irmawaty, 2019. Ketahanan Bakteri Asam Laktat Asal Saluran Pencernaan Broiler Terhadap pH dan Garam Empedu. *Jurnal Ilmu dan Industri Peternakan*. 5(1): 27-37.
- Sheeladevi, A. dan Ramanathan, N. 2011. Lactic Acid Production Using Lactic Acid Bacteria under Optimized Conditions. *Intern. J. Pharm. Biol. Arch*. 2(6): 1686-1691.
- Stuart, H. 2005. *Essential Microbiology*. England: John Wiley dan Sons Inc.
- Subagiyo., Sebastian, M., dan Triyanto. 2015. 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.
- Sumardi, Farisi, S., Agustrina, R., dan Yunita. 2019. Pengaruh Medan Magnet dan Ion Logam (Cu, Pb, Al dan Fe) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA). *Biospecies*. 12(2). :42-50.

- Sumardi, Farisi, S, Ekowati, C., dan Oktavia, R. 2019. Uji Tantang Bakteri *Bacillus* Kandidat Probiotik Secara *In Vitro* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Penyebab Penyakit pada Udang. *Jurnal Biologi Papua* 11(2). : 57-63.
- Sumardi, Farisi, S., Ekowati, C., dan Rismayanti. 2019. The Activity Assay Of Protease, Cellulase, Amylase, Xylanase And Mannanase From *Bacillus* Sp. As A Candidate Of Probiotics. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*. 5(3). : 88-93
- Sumardi, Farisi, S., Ekowati, C., dan Frida. S. 2019. Karakterisasi Enzim Xilanase dari Isolat *Bacillus* sp. UJ131 di Hutan Mangrove Margasari Lampung Timur sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*. 4(3). : 167-174.
- Sumardi, Farisi, S., Ekowati, C., dan Solva, M. 2019. Aktivitas dan Karakterisasi Enzim Protease Isolat *Bacillus* Sp. (Uj132) Secara Kualitatif dan Kuantitatif. *Jurnal Riset Akuakultur*. 14(3). : 193-199.
- Sumardi, Farisi, S., Ekowati, C., dan Arifiyanto, A. 2020. halotolerant *Basil*. sp. untuk Degradasi Mannan yang diisolasi dari ekosistem Mangrove di Pantai Hanura Lampung. *Journal Of Pure Appl Microbiol*. 14(2): 1237-1244.
- Sumardi, Farisi, S., Ekowati, C., Linirin, E., Rohmawati, A. dan Sarno. 2021. Innovation of Sinbiotic Formula for the Growth of White Shrimp Larvae (*Litopenaeus vannamei*). *Biological Research Journal*. 7(2): 2477-1392.
- Sumarsih, S., Sulistiyanto, B., Sutrisno, C.I., dan Rahayu, E., S. 2003. Peran Probiotik Bakteri Asam Laktat Terhadap Produktivitas Unggas. *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*. 10(1)
- Susilowari, R., Koesoemawardani, D., dan Rizal, S. 2014. Profil Proses Fermentasi Rusip Dengan Penambahan Gula Aren Cair. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. (2): 137-148.
- Sutrisna, R. 2013. *Karakterisasi isolat Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik (Anas domestica) Terhadap Escherichia coli dan Salmonella pullorum*. Makalah Seminar Nasional Sains & Teknologi V, Lembaga Penelitian Universitas Lampung
- Widanarni, Lidaenni, M., A., dan Wahjuningrum, D. 2010. Pengaruh pemberian bakteri probiotik *Vibrio* SKT-b dengan dosis yang berbeda terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva udang windu *Penaeus monodon*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 9: 21-29.
- Widyantara, W. 2019. Risiko dan Faktor Faktor Yang Mempengaruhi Produksi Gula Aren Cetak Di Desa Belimbing, Kabupaten Tabanan. *Jurnal Manajemen Agribisnis*. 7(1)

- Wijiyono. 2009. Keanekaragaman Bakteri Serasah Daun *Avicenia marina* yang Mengalami Dekomposisi pada Berbagai Tingkat Salinitas di Teluk Tapian Naupli. *Tesis*. Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara. Medan. hal 1-3.
- Yanuartono, H., Purnamaningsih, S., Indarjulianto., dan Nururrozi, A. 2017. Potensi jerami sebagai pakan ternak ruminansia. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 7(1): 40-62.
- Yulvizar. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *Biospecies*. 6(2): 1-7
- Zhang, H. dan Hu, Q. (2015). Isolation, Identification And Physiological Characteristics of High Carotenoids Yield *Rhodopseudomonas Faecalis* PSB-B. *Int J Recent Sci Res*, 6(5): 3893-3899.