

Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Limbah Kangkung (*Ipomoea aquatica*) sebagai Penghasil Bakteriosin Alami

*Identification of Lactic Acid Bacteria (LAB) from Fermented Water Spinach (*Ipomoea aquatica*) Waste as Natural Bacteriocin Producers*

Mirza Lena^{1,3*}, Baiq Arriyadul Badi'ah², Andi Ikhsan Wijaya¹, & Ryzal Satria Aditama^{1,4}

¹ Program Studi Peternakan, Fakultas Sains dan Terapan, Universitas Pendidikan Muhammadiyah Sorong, Indonesia

² Program Studi Kehutanan, Fakultas Sains, Teknologi, dan Terapan, Universitas Pendidikan Mandalika, Indonesia

³ Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Indonesia

⁴ Program Studi Teknologi Pakan Ternak, Politeknik Negeri Tanah Laut, Indonesia

*Corresponding author: mirzalena99@gmail.com

• Diterima: 09 Januari 2025 • Direvisi: 14 Juli 2025 • Disetujui: 21 Juli 2025

ABSTRAK. Probiotik merupakan salah satu alternatif yang aman untuk digunakan sebagai pengganti antibiotik. Namun, produksi probiotik umumnya memerlukan biaya yang relatif tinggi. Oleh karena itu, perlu dikembangkan probiotik alami dari bahan baku yang mudah dibudidayakan dan berharga terjangkau, seperti limbah kangkung yang difermentasi dengan bakteri asam laktat (BAL) dalam yoghurt. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui jenis dan potensi BAL hasil fermentasi limbah kangkung serta kemampuan antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif. Parameter yang diukur yaitu uji morfologi makroskopis BAL, jumlah koloni, aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*, dan uji bakteriosin BAL. Hasil penelitian menunjukkan jenis BAL yang teridentifikasi adalah *Lactobacillus* dengan total BAL $12,6 \times 10^5$ CFU/mL yang memenuhi jumlah standar minimum probiotik (minimal 10^6 CFU/mL untuk aktivitas probiotik yang efektif). Kesimpulan penelitian adalah limbah kangkung memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) sebagai probiotik alami.

Kata kunci: Antibakteri, limbah kangkung, probiotik, unggas

ABSTRACT. Probiotics are a safe alternative to antibiotics. However, probiotic production generally requires relatively high costs. Therefore, it is necessary to develop natural probiotics from raw materials that are easy to cultivate and affordable, such as water spinach waste fermented with lactic acid bacteria (LAB) in yogurt. The purpose of this study was to determine the type and potential of BAL from fermented kale waste and antibacterial ability against *Salmonella typhi* and *Escherichia coli*. The type of research used was descriptive. Parameters measured were macroscopic morphology test of BAL, number of colonies, antibacterial activity against *Salmonella typhi* and *Escherichia coli*, and BAL bacteriocin test. The results showed that the type of BAL identified was *Lactobacillus* with a total LAB of 12.6×10^5 CFU/mL which met the minimum standard amount of probiotics (at least 10^6 CFU/mL for effective probiotic activity). Therefore, it can be concluded that kale waste has the potential to be developed as a growth medium for lactic acid bacteria (BAL) as a natural probiotic.

Keywords: Antibacterial, water spinach waste, probiotic, poultry

PENDAHULUAN

Penggunaan Antibiotic Growth Promotor (AGP) pada hewan ternak sudah dilarang oleh pemerintah karena dapat menyebabkan efek samping berupa resistensi pada mikroba jahat.

Langkah utama untuk menghindari penggunaan antibiotik adalah meningkatkan bobot unggas melalui peningkatan kesehatan pencernaan unggas. Sistem cerna yang sehat menyebabkan penyerapan nutrisi pada pakan

lebih optimal dan meningkatkan bobot unggas (Mirsalami & Mirsalami, 2024), tetapi saluran pencernaan unggas memiliki mikroba patogen yang menghambat peningkatan bobot unggas.

Mikroba patogen yang sering dijumpai di dalam saluran cerna unggas, seperti *Clostridium*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus*, dan *Escherichia coli*, menyebabkan penyerapan nutrisi pakan tidak optimal dan menyebabkan penurunan bobot ayam (Khasanah *et al.*, 2024; Prasetyo dkk., 2020). Salah satu alternatif yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan produktivitas unggas tanpa AGP adalah menggunakan probiotik. Probiotik merupakan bakteri baik yang dapat melawan bakteri jahat di saluran cerna. Probiotik yang umum dimanfaatkan adalah Bakteri Asam Laktat (BAL).

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan bakteri fermentasi yang dapat mengubah karbohidrat atau gula menjadi asam laktat. Selain produksi utama asam laktat, BAL memproduksi metabolit antimikroba termasuk asam organik, diasetil, etanol, hidrogen peroksida, dan bakteriosin. (O'Connor *et al.*, 2020). Genus bakteri asam laktat yang umum digunakan adalah *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Leuconostoc*, dan *Lactococcus* (Aqil dkk., 2015). Ciri umum BAL adalah memiliki reaksi positif terhadap pewarnaan gram, tidak membentuk spora, dan memiliki reaksi negatif terhadap katalase serta menghasilkan asam laktat (Tanjung dkk., 2023).

Kendala saat ini adalah harga probiotik yang mahal menyebabkan para peternak tidak dapat menggunakan probiotik untuk mengganti AGP. Penelitian yang dilakukan oleh Du *et al.* (2023) probiotik meningkatkan metabolisme karbohidrat dan menghambat mikroorganisme berbahaya, sehingga mengoptimalkan proses fermentasi. Isolasi BAL juga telah dilakukan pada nira siwalan (Falakh & Asri, 2022), cabai, sawi, bawang putih (Aleman *et al.*, 2024), dan limbah sayur (Yunilas *et al.*, 2022). Penelitian ini

memanfaatkan limbah kangkung yang difermentasi oleh BAL dari yoghurt. Bakteri yoghurt umumnya terdiri dari *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Keduanya saling mendukung pertumbuhan dan aktivitas metabolisme satu sama lain dan mampu menghasilkan asam laktat dalam jumlah besar serta berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Kangkung memiliki kemampuan pertumbuhan yang cepat dan mudah dibudidayakan di darat maupun di air. Limbah kangkung difermentasi dengan memanfaatkan BAL pada yoghurt. Penggunaan yoghurt dilakukan karena yoghurt merupakan fermentasi susu yang mengandung BAL dan mudah ditemukan. Probiotik hasil fermentasi dapat berperan sebagai antibakteri dan meningkatkan produktivitas ternak unggas (Puspitaningrum dkk., 2021).

Probiotik dapat meningkatkan respons kekebalan tubuh, penyerapan nutrisi, dan meningkatkan rasio konversi pakan, yang dapat berkontribusi pada peningkatan performa yang lebih baik pada unggas (Jha *et al.*, 2020). Probiotik juga diharapkan mampu menjaga kesehatan dan memacu pertumbuhan, sehingga tersedia pangan produk unggas yang berkualitas, sehat dan terbebas dari residu antibiotik. Oleh karena itu penting dilakukan uji morfologi mikroskopis BAL, jumlah koloni, aktivitas mikroba terhadap *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*, dan uji bakteriosin. Tujuan penelitian adalah mengetahui jenis dan jumlah BAL, serta aktivitas antibakteri BAL dari fermentasi limbah kangkung terhadap *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*.

MATERI DAN METODE

Fermentasi Limbah Kangkung

Metode fermentasi limbah kangkung merujuk pada metode Mulyani dkk. (2021) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan pada jenis bahan baku berupa limbah kangkung, tidak menggunakan gula, namun ditambahkan

yoghurt. Limbah kangkung yang sudah dibersihkan dicacah. Proses fermentasi dilakukan dengan memanfaatkan bakteri *Lactobacillus* dari yoghurt. Air ditambahkan ke dalam substrat dengan perbandingan 1:2 (w/v) dan diaduk merata. Setelah tercampur rata, substrat dan air dikukus selama 30 menit dan didinginkan selama 10 menit sebelum proses fermentasi. Substrat ditambahkan yoghurt sebanyak 3 mL/kg dan difermentasi selama 72 jam. Selama fermentasi berlangsung, setiap hari dilakukan pengadukan substrat. Supernatan diambil dari hasil fermentasi limbah kangkung menggunakan gelas ukur 1000 mL. Identifikasi jenis dan jumlah BAL serta uji aktivitas antibakteri dan bakteriosin BAL dilakukan oleh Laboratorium Riset Unggulan (*Biotech Center*) IPB dengan 5 kali ulangan.

Analisis Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolasi BAL dilakukan berdasarkan metode Falakh & Asri (2022). Sebanyak 10 mL probiotik limbah kangkung dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel diambil 1,0 mL menggunakan mikropipet. Kemudian dimasukkan ke dalam media MRS *broth* pada tabung reaksi pertama yang sudah berisi media MRS *broth*. Pada pengenceran $10^{(2)}$ ini dilakukan dengan mengambil 1,0 mL sampel pada pengenceran 10 mL. kemudian dimasukkan ke media MRS *broth* dalam tabung reaksi kedua. Pengenceran ini dilakukan hingga diperoleh pengenceran $10^{(3)}$ (Hadioetomo, 1985). Pengenceran 10^{-10} yang diperoleh diambil dengan menggunakan ose bulat sebanyak 1 ose. Kemudian dilakukan inokulasi ke dalam medium MRS agar dengan membagi cawan Petri ke dalam empat kuadran yaitu kuadran 1, kuadran 2, kuadran 3, dan kuadran 4 dilakukan metode gores (*streak plate method*) membentuk zig zag bersambung tiap kuadran. Diinkubasi cawan petri selama 7 hari pada suhu 37 °C.

Uji Aktivitas Bakteriosin

Uji Aktivitas Bakteriosin menggunakan metode difusi sumur agar (Sari dkk., 2011) . Isolat BAL ditumbuhkan dalam media MRS cair

5,0 mL, kemudian divortex hingga homogen, dan setelah itu diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam. Kultur cair disentrifugasi dengan kecepatan 1600 xg pada suhu 4°C selama 15 menit. Filtrat dinetralkan hingga pH 6,0 menggunakan pH meter dengan menambahkan larutan NaOH 1 N. Filtrat disterilkan dengan *filter millipore* untuk memperoleh supernatan antibakteri. Media dipersiapkan yaitu media NA yang telah dicampur dengan bakteri indikator. Bakteri indikator yang akan diujikan yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*. Setelah media memadat cakram-cakram kertas saring berdiameter 6 mm diletakkan di atas permukaan agar, sebanyak 50 µm supernatan antibakteri dimasukkan ke dalam sumur, kemudian diletakkan selama 1 jam agar supernatan antibakteri dapat berdifusi ke dalam agar. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C (Sidabutar dkk., 2015). Hasil pengamatan positif jika menghasilkan zona jernih berdasarkan uji aktivitas yang dilakukan. Isolat BAL yang dapat memberikan hambatan terhadap bakteri indikator dilanjutkan dengan uji konfirmasi menggunakan enzim Proteinase K. Hasil pengamatan positif jika menghasilkan zona jernih berdasarkan uji aktivitas yang dilakukan. Isolat BAL yang dapat memberikan hambatan terhadap bakteri indikator dilanjutkan dengan uji konfirmasi menggunakan enzim Proteinase K. Beberapa strain BAL secara alami menghasilkan enzim protease sebagai bagian dari metabolisme mereka.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Total BAL

Variasi jumlah BAL berada dalam rentang $11,4 \times 10^5$ hingga $13,3 \times 10^5$ CFU/mL. Rentang ini menunjukkan stabilitas proses fermentasi dengan tingkat pertumbuhan bakteri yang konsisten. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Wea dkk. (2021) yang memfermentasi pakan cair dengan jumlah BAL berkisar $4,58 - 5,59 \times 10^4$ CFU/mL. Perbedaan kecil pada nilai dapat dipengaruhi

oleh kondisi fermentasi, seperti homogenitas substrat, suhu, pH, dan durasi fermentasi. Limbah kangkung memiliki kandungan nutrisi, seperti karbohidrat, serat, dan mineral, yang mendukung pertumbuhan BAL. Kandungan ini

menjadi substrat yang efisien untuk metabolisme bakteri, menghasilkan produk fermentasi seperti asam laktat yang memberikan manfaat mikrobiologis.

Tabel 1. Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Total Bakteri Asam Laktat (CFU/mL)					
1	2	3	4	5	Rata-rata
$13,3 \times 10^5$	$11,4 \times 10^5$	$12,7 \times 10^5$	$13,0 \times 10^5$	$12,8 \times 10^5$	$12,6 \times 10^5 \pm 0,7$

Jumlah total BAL sebesar 10^5 CFU/mL atau lebih memenuhi standar jumlah minimum untuk aplikasi probiotik maupun fermentasi pangan. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Flach *et al.* (2018), yang menyebutkan untuk mendapatkan efektivitas terapeutik pada produk probiotik, dosis optimal adalah 10^6 - 10^7 CFU/g, atau total harian sebesar 10^8 - 10^9 CFU dalam 100 g/mL produk. Penelitian Mulyani *dkk.* (2021) pada lama waktu fermentasi belimbing manis menyebabkan total BAL yang berbeda secara signifikan. Lama fermentasi 12 jam menghasilkan 7.102 Log CFU/mL, sedangkan lama fermentasi 48 jam menghasilkan 8.784 Log CFU/mL. Adapun total BAL yang dihasilkan pada penelitian ini mencapai rata-rata $12,6 \times 10^5$ CFU/mL (Tabel 1). Total BAL dari fermentasi limbah kangkung menunjukkan adanya potensi pemanfaatannya dalam produksi probiotik, dimana produk fermentasi dari limbah kangkung dapat

digunakan sebagai sumber probiotik untuk meningkatkan kesehatan saluran pencernaan ternak.

Fisiologis BAL

Uji fisiologis dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui karakteristik fenotip dari isolat bakteri yang didapat, sehingga dapat disimpulkan genus dan spesies isolat bakteri dari sampel probiotik fermentasi limbah kangkung, selain untuk mengetahui genus dan spesies dari isolat bakteri yang didapatkan, uji fisiologis juga bertujuan untuk melihat ketahanan isolat bakteri asam laktat (BAL) pada kondisi pH, suhu, dan kadar garam. Bakteri dapat dikatakan tumbuh jika pada media terlihat koloni yang berwarna putih (Madigan *et al.*, 2015). Hasil pengujian suhu pada sampel probiotik fermentasi limbah kangkung menunjukkan isolat hanya dapat tumbuh pada suhu 38°C.

Tabel 2. Sifat fisiologi dan morfologi mikroskopik Bakteri Asam Laktat (BAL)

Kode Sampel	1	2	3	4	5
Sifat Gram	Positif	Positif	Positif	Negatif	Negatif
Bentuk Sel	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Tepi	Halus	Halus	Halus	Halus	Halus
Elevasi	Convex	Convex	Convex	Convex	Convex
Warna	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih susu
Ukuran	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang

Pengujian pH pada isolat bakteri asam laktat bertujuan untuk melihat pengaruh isolat terhadap kondisi pH 3, 5, 7, 6, dan 9. Menurut

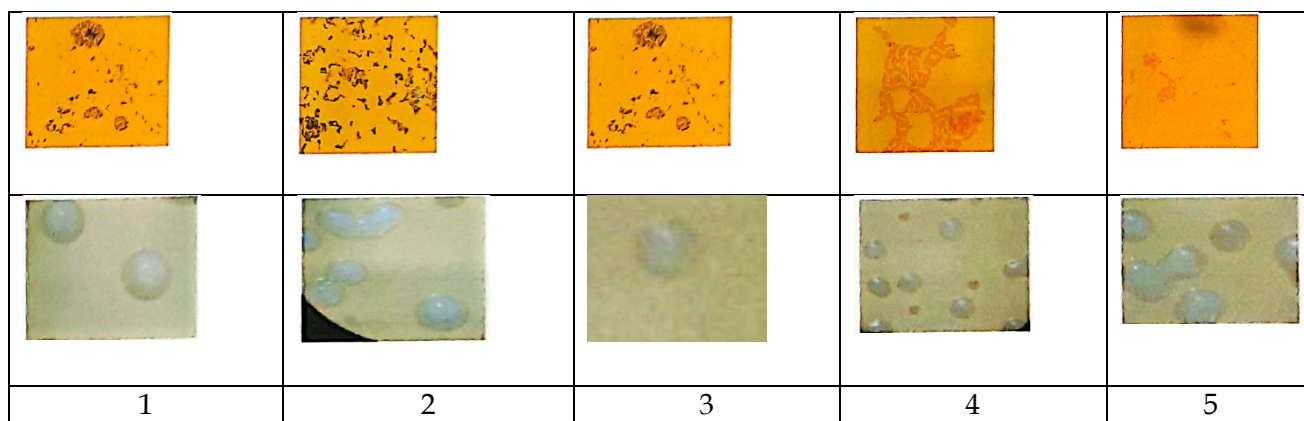
Vera-Peña & Rodriguez (2020), pH merupakan salah satu faktor lingkungan yang penting bagi BAL. BAL dapat tumbuh pada pH di bawah 5,

namun masing-masing spesies memiliki pH optimum. Bakteri dapat dikatakan tumbuh jika pada media berubah menjadi keruh. Hasil pengujian pH pada sampel probiotik fermentasi limbah kangkung menunjukkan isolat dapat tumbuh pada semua kondisi pH yang diujikan. Pada rentang pertumbuhan yang luas, BAL dapat hidup di dalam saluran cerna. Beberapa bakteriosin yang diproduksi oleh *Lactobacillus plantarum* dilaporkan hanya aktif dalam rentang pH yang sempit dan kehilangan aktivitas penghambatannya, yang memiliki aktivitas antibakteri hanya pada pH 2,5-5,5 (Lv dkk., 2018). Pengujian kadar garam isolat bakteri asam laktat bertujuan untuk melihat pengaruh isolat terhadap kondisi kadar NaCl 2%, 4%, dan 6%. Bakteri dapat dikatakan tumbuh jika pada media terjadi perubahan warna. Hasil pengujian kadar garam pada sampel probiotik fermentasi limbah kangkung

menunjukkan isolat dapat tumbuh pada semua kondisi kadar garam yang diujikan.

Morfologi Makroskopis BAL

Bakteri gram positif dengan bentuk basil merupakan karakteristik yang umum pada genus *Lactobacillus*. Ciri ini ditandai oleh dinding sel yang tebal dan kandungan peptidoglikan tinggi, yang mempertahankan warna ungu setelah pewarnaan gram. *Lactobacillus* dikenal sebagai salah satu bakteri utama dalam proses fermentasi karena kemampuannya menghasilkan asam laktat dari karbohidrat melalui metabolisme homofermentatif atau heterofermentatif (Ardilla *et al.*, 2022; Finanda dkk., 2021). Tabel 2 menunjukkan hasil uji gram pada ulangan 1, 2, dan 3 menunjukkan isolat yang diambil dari hasil fermentasi limbah kangkung merupakan bakteri gram positif.



Gambar 1. Morfologi makroskopis Bakteri Asam Laktat (BAL).

Bakteri gram positif, terutama *Lactobacillus*, memiliki peran dominan dalam fermentasi limbah kangkung karena kemampuannya menghasilkan asam laktat yang menurunkan pH medium. Penurunan pH ini menciptakan kondisi asam yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan mikroorganisme patogen atau pembusuk. Kehadiran bakteri gram negatif berbentuk basil dalam fermentasi limbah kangkung dapat bersifat oportunistik atau kontaminan. Jika bakteri ini berasal dari genus seperti *Leuconostoc*, mereka mungkin turut berkontribusi dalam

fermentasi melalui produksi metabolit tambahan seperti asam asetat. Analisis lebih lanjut diperlukan untuk memastikan perannya.

Ulangan 4 dan 5 menunjukkan isolat ulangan merupakan bakteri gram negatif. Hal ini diduga merupakan kontaminan atau bakteri lain. Meskipun jarang, terdapat bakteri gram negatif berbentuk basil yang dapat ditemukan dalam fermentasi, seperti anggota genus *Leuconostoc* atau kontaminan. Bakteri ini memiliki dinding sel tipis dengan lapisan lipopolisakarida, yang menyebabkan

pewarnaan merah muda setelah pewarnaan gram. Sifat ini umumnya dimiliki oleh kelompok *Shigella* sp. (Stanley *et al.*, 2017). Karakter fisiologis lain dari isolat bakteri yang dapat diisolasi adalah menggunakan media *Simmon's Citrate Agar*. Pengujian sitrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon utamanya. Uji sitrat umumnya dilakukan untuk identifikasi bakteri Gram-negatif, seperti *Salmonella* sp. *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, dan *Bacteroides fragilis* (Washington II dan Timm 1976; Rahman *et al.*, 2019).

Koloni bakteri dengan bentuk bulat dan tepi halus merupakan ciri khas dari beberapa genus BAL seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus*, dan *Streptococcus* (Holt dkk., 1994). Koloni yang memiliki tepi halus menunjukkan pertumbuhan yang terorganisir, mencerminkan kemampuan bakteri untuk mendominasi substrat fermentasi. Elevasi koloni berbentuk cembung (*convex*) menunjukkan pembentukan biofilm dan metabolisme aktif, yang sering ditemukan pada BAL selama fermentasi. Hal ini juga mengindikasikan koloni muda dengan pertumbuhan sehat. Warna putih susu merupakan salah satu ciri khas koloni BAL karena akumulasi metabolitnya, terutama asam laktat, yang dihasilkan selama fermentasi (Zalila-Kolsi *et al.*, 2023).

Morfologi koloni yang khas mengkonfirmasi kehadiran BAL aktif pada fermentasi limbah kangkung. Limbah kangkung mengandung nutrisi seperti karbohidrat sederhana yang menjadi sumber energi utama bagi BAL, mendukung pertumbuhan optimal dan metabolisme asam laktat. Warna dan elevasi koloni memberikan indikasi visual yang penting dalam identifikasi awal BAL, misalnya, warna putih susu mengisyaratkan tidak adanya pigmentasi, yang merupakan karakteristik khas BAL dibandingkan bakteri lain yang mungkin terlibat dalam fermentasi.

Aktivitas Antibakteri

Pengujian sifat antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri bakteriosin dari isolat bakteri asam laktat (BAL). Bakteri dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri bakteriosin ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar cakram yang berarti isolat BAL memberikan aktivitas dalam menghambat bakteri patogen. Bakteriosin yang diproduksi oleh BAL umumnya memiliki aktivitas antibakteri yang kuat, stabilitas termal yang sangat baik, dan toleransi terhadap asam dan basa (Ahmad *et al.*, 2017). Pengujian uji aktivitas antibakteri bakteriosin disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Aktivitas antibakteri isolat BAL terhadap bakteri *E. coli* dan *S. typhi*

Bakteri Indikator	Zona Hambat (mm)					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
<i>E. coli</i>	17,3	17,5	18,2	17,8	17,9	17,7 ± 0,3
<i>S. typhi</i>	16,8	16,9	17,3	17,1	16,9	17,0 ± 0,2

Tabel 3 menunjukkan rata-rata diameter zona bening probiotik hasil fermentasi limbah kangkung terhadap bakteri *E. coli* dan *Salmonella typhi* yang diperoleh pada penelitian berkisar 17,3-18,2 mm dan 16,8-17,3 mm. Hal ini menunjukkan isolat yang teridentifikasi *Lactobacillus* memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Hal ini sesuai dengan pendapat Soeharsono (2010)

metabolisme yang dihasilkan oleh BAL memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Aktivitas penghambatan terhadap bakteri indikator setelah inkubasi 1 hari ditandai dengan timbulnya zona jernih disekitar koloni yang tumbuh di media lapisan bawah. Zona jernih timbul karena bakteri indikator tidak tumbuh yang berarti bakteriosin dari *Lactobacillus* memberikan efek penghambatan

terhadap pertumbuhan bakteri indikator. Zona jernih yang timbul sangat bervariasi.

Penelitian Falakh dan Asri (2021) menunjukkan kontrol positif menggunakan *amoxicillin* 10 µg/mL menyebabkan adanya zona bening (zona hambat) sepanjang 11,50 mm terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, zona hambat menggunakan isolat limbah kangkung menunjukkan panjang zona bening rata-rata adalah 17 mm terhadap bakteri *Salmonella typhi* (Tabel 3). Hal ini menunjukkan aktivitas BAL lebih luas dibandingkan aktivitas *amoxicillin*.

Metabolisme yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri asam laktat dapat memproduksi komponen yang berperan sebagai antibakteri (Ardilla *et al.*, 2022; Finanda dkk., 2021; Utomo *et al.*, 2022). Bangar *et al.* (2022) melaporkan komponen asam tersebut dapat menurunkan pH media pertumbuhan bakteri sehingga kondisi tersebut dapat merugikan bagi pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen. Penelitian Hamidah dkk. (2019) menunjukkan bakteri asam laktat mampu menghambat bakteri patogen saluran pencernaan yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* dimana hasil aktivitas yang dihasilkan terhadap kedua bakteri patogen ini berbeda-beda. Isolat BAL memiliki kemampuan penghambatan yang berbeda-beda berkisar 6,5–11,0 mm dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Shigella dysenteriae* (Rahmiati & Mumpuni, 2017). Hasil penelitian Mirsalami & Mirsalami (2024) juga menunjukkan pemberian probiotik dapat mengurangi perut kembung, mengatur populasi mikroba tinja, dan mengatasi gejala diare pada ayam. Probiotik juga dapat meningkatkan produksi enzim pencernaan (protease, amilase, lipase, dan tripsin) dan potensi antioksidan (SOD, MDA, dan katalase) serta meningkatkan panjang vili usus dari ayam pedaging. Peningkatan panjang vili usus dan kerja enzimatik saluran cerna menyebabkan

peningkatan yang signifikan pada laju pertumbuhan spesifik, tingkat kelangsungan hidup, dan penambahan berat badan serta menurunkan rasio konversi pakan ayam.

Uji Aktivitas Bakteriosin terhadap Enzim Proteolitik

Bakteriosin merupakan peptide kecil yang stabil terhadap panas dan diproduksi banyak bakteri, terutama BAL. Bakteriosin yang dihasilkan BAL dapat mencegah pembusukan dengan cara menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen. Bakteriosin efektif meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Ismael *et al.*, 2024; Pujato *et al.*, 2024).

Pada uji aktivitas bakteriosin digunakan enzim proteolitik dengan tujuan untuk uji konfirmasi untuk memastikan substansi antibakteri yang dihasilkan oleh *Lactobacillus* merupakan bakteriosin sebagai antibakteri. Enzim proteolitik yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim Protease K. Hasil Protease K yang diamati berupa hilangnya zona jernih sebagai akibat penambahan enzim Protease K pada supernatan antibakteri. Pada isolat BAL terlihat tidak terbentuk zona jernih pada media di sekitar cakram. Zona jernih yang hilang akibat perlakuan dengan enzim proteolitik seperti Protease K membuktikan karakteristik umum dari bakteriosin sebagai protein alami. Bakteriosin merupakan ikatan disulfida dengan penambahan enzim proteolitik maka ikatan tersebut rusak sehingga aktivitas bakteriosin menjadi hilang yang ditandai dengan hilangnya zona jernih. Percobaan yang dilakukan Zangeneh *et al.* (2020) mengungkapkan bakteriosin ini sangat resisten terhadap enzim protease. Sehingga dapat disimpulkan bahwa antibakteri yang dihasilkan isolat *L. brevis* merupakan aktivitas bakteriosin.

SIMPULAN

Jenis BAL yang teridentifikasi adalah *Lactobacillus* dengan total BAL $12,6 \times 10^5$ CFU/mL yang memenuhi jumlah standar

minimum probiotik (minimal 10^6 CFU/mL). Pemanfaatan limbah kangkung yang difermentasi menggunakan BAL berpotensi menyediakan probiotik bagi pakan.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan yang berhubungan dengan keuangan, pribadi, atau lainnya dengan orang atau organisasi lain yang terkait dengan materi yang dibahas dalam naskah ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat (DRTPM) yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, V., M. S. Khan., Q., M. S. Jamal., M. A. Alzohairy., M. A. Al Karaawi, & M. U. Siddiqui. 2017. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *Inter. J. Antimicrob. Agents.* 49(1):1-11.
- Aleman, R. S., I. Montero-Fernández., J. A. Marcía., S. A. S. Maldonado, & D. Martín-Vertedor. 2024. Application of fermentation as a strategy for the transformation and valorization of vegetable matrices. *Fermentation.* 10(3):124.
- Ardilla, Y. A., K. W. Anggreini, & T. P. D. Rahmani. 2022. The role of indigenous lactic acid Bacteria Genus *Lactobacillus* in the fermentation process of Durian (*Durio zibethinus*) for Tempoyak production. *Berkala Ilmiah Biologi.*13(2):42-52.
- Aqil, H., D. Risdianto, & I. Hartati. 2015. Isolasi dan pengayaan bakteri *Lactobacillus* dari rumen Sapi. *Momentum.* 11(2):93-98.
- Bangar, S. P., S.Suri., M. Trif, & F. Ozogul. 2022. Organic acids production from lactic acid bacteria: A preservation approach. *Food Bioscience.* 46(1):1-16.
- Du, Z., S. Yamasaki., T. Oya, & Y. Cai. 2023. Cellulase-lactic acid bacteria synergy action regulates silage fermentation of woody plants. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts.*16(1): 125.
- Falakh, M. F, & M. T. Asri. 2022. Uji potensi isolat bakteri asam laktat dari nira siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. *LenteraBio.* 11(3):514-524.
- Finanda, A., Mukarlina, & Rahmawati. 2021. Isolasi dan karakterisasi genus bakteri asam laktat dari fermentasi daging buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.). *Jurnal Protobiont.* 10(2): 37-41.
- Flach, J., M. B. van der Waal, M. van den Nieuwboer, E. Claassen, & O. F. Larsen. 2018. The role of underexposed food matrices in probiotic products: Reviewing the relationship between carrier matrices and product parameters. *Critic. Rev. Food Sci. Nutrit. Res.* 58(15):2570-2584.
- Hamidah, M. N., L. Rianingsih, & Romadhon. 2019. Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan.* 1(2):11-21.
- Ismael, M., M. Huang, & Q. Zhong. 2024. The bacteriocins produced by lactic acid bacteria and the promising applications in promoting gastrointestinal health. *Foods.* 13(23): 1-26.
- Jha, R., R. Das., S. Oak, & P. Mishra. 2020. Probiotics (direct-fed microbials) in poultry nutrition and their effects on nutrient utilization, growth and laying performance, and gut health: a systematic review. *Animals.* 10(10):1863.
- Khasanah, H., D. E. Kusbianto., L. Purnamasari., J. F. dela Cruz, D. C. Widianingrum, & S. G. Hwang. 2024. Modulation of chicken gut microbiota for enhanced productivity and health: A review. *Vet. World.* 17(5):1073-1083.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko., K. S. Bender., D. H. Buckley, & D. A. Stahl. 2015. *Brock Biology of Microorganisms.* 14th Ed. Pearson, Boston. 143-182
- Mirsalami, S. M, & M. Mirsalami. 2024. Effects of duo-strain probiotics on growth, digestion, and gut health in broiler chickens. *Vet. Anim. Sci.* 24(4):1-13.
- Mulyani, S., K. M. F. Sunarko, & B. E. Setiani. 2021. Pengaruh lama fermentasi terhadap total asam, total bakteri asam laktat dan warna kefir belimbing manis (*Averrhoa carambola*). *Jurnal Ilmiah Sains.* 21(2):113-118.
- Lv, X., Y. Lin., Y. Jie., M. Sun., B. Zhang., F. Bai, & J. Li. 2018. Purification, characterization, and action mechanism of plantaricin DL3, a novel bacteriocin against *Pseudomonas aeruginosa* produced by *Lactobacillus plantarum* DL3 from

- Chinese Suan-Tsai. *European Food Res. Technol.* 244(2):323-331.
- O'Connor, P. M., T. M. Kuniyoshi., R. P. Oliveira., C. Hill., R. P. Ross, & P. D. Cotter. 2020. Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. *Curr. Opi. Biotechnol.* 61 (1): 160-167.
- Prasetyo, A. F., M. Y. M. Ulum., B. Prasetyo, & J. I. Sanyoto. 2020. Performa pertumbuhan broiler pasca penghentian antibiotic growth promoters (AGP) dalam pakan ternak pola kemitraan di kabupaten jember. *Jurnal Peternakan.* 17(1):25-30.
- Pujato, S. A., D. J. Mercanti., M. B. Marcó., M. L. Capra., A. Quiberoni, & D. M. Guglielmotti. 2024. Bacteriocins from lactic acid bacteria: strategies for the bioprotection of dairy foods. *Front. Food Sci. Technol.* 4(8):1-8.
- Puspitaningrum, T., L. D. Mahfudz, & M. H. Nasoetion 2021. Potensi bawang putih (*Allium sativum*) dan *Lactobacillus acidophilus* sebagai Sinbiotik untuk meningkatkan performans ayam broiler. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia.* 16(2):210-214.
- Rahman, M. A., A. Haque., T. Ahmad., S. Mahmud., S. N. Sohana., M. R. Hossain., MR, N. C. Barman., M. Badiruzzaman., T. Hossain., M. S. Haque., M. E. Uddin, & R. Ahmed. 2019. Isolation, identification and antibiotic sensitivity pattern of *Salmonella* spp. from locally isolated egg samples. *American J. Pure Appl. Biosci.* 1 (2): 1-11.
- Rahmiati, R, & M. Mumpuni. 2017. Eksplorasi bakteri asam laktat kandidat probiotik dan potensinya dalam menghambat bakteri patogen. *Elkawanie: J. Islamic Sci. Technol.* 3(2):141-150.
- Soeharsono, & L. Andriani. 2010. Tinjauan saintifik probiotik. In. *Probiotik: Basis Ilmiah, Aplikasi dan Aspek Praktis.* Soeharsono (ed). Widya Padjajaran. Bandung. 47-58.
- Stanley, P. L., T. A. Winslow, & I. Pillay. 2017. Detection of presumptive pathogens in ground beef from supermarket and farmers' market sources. *Georgia J. Sci.* 75(2):1-11.
- Tanjung, M. T., R. Fevria., D. Handayani, & L. Advinda. 2023. Jumlah bakteri asam laktat (BAL) pada sauerkraut dari kubis ungu (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.f. Rubra) dengan konsentrasi garam yang berbeda. *Biocelebes.* 17(1):38-45.
- Utomo, G. S. M., S. Hidanah., M. A. Al Arif., W. P. Lokapirnasari, & W. M. Yuniarti. 2022. Business analysis of probiotic administration of lactic acid bacteria on the performance of kampung super chicken. *Jurnal Medik Veteriner.* 5(1):87-93.
- Vera-Peña, M. Y, & W. L. R. Rodriguez. 2020. Effect of pH on the growth of three lactic acid bacteria strains isolated from sour cream. *Universitas Scientiarum.* 25(2):341-358.
- Wea, R., B. B. Koten, & E. V. Mohamad. 2021. Jumlah total bakteri asam laktat dan pH pakan cair berbahan biji asam utuh pada lama fermentasi berbeda. *Partner.* 26(1): 1544-1549.
- Yunilas, Y., A. Zulyanti., E. Mirwandhono, & T. Malvin. 2022. Potensi dan karakteristik larutan mikroorganisme lokal (MOL) berbasis limbah sayur sebagai bioaktivator dalam fermentasi. *J. Livestock Anim. Health.* 5(2):53-59.
- Zangeneh, M., S. Khorrami, & M. Khaleghi. 2020. Bacteriostatic activity and partial characterization of the bacteriocin produced by *L. plantarum* sp. isolated from traditional sourdough. *Food Sci. Nutrit.* 8(11):6023-6030.
- Zalila-Kolsi, I., A. Ben-Mahmoud, & R. Al-Barazie. 2023. *Bacillus amyloliquefaciens*: Harnessing Its Potential for Industrial, Medical, and Agricultural Applications – A Comprehensive Review. *Microorganisms.* 11(9):1-19.