

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian deskriptif. Metode deskriptif merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan peristiwa yang sedang berlangsung sebagaimana mestinya pada saat penelitian berlangsung. Penggunaan metode ini dimaksudkan untuk mendapat informasi mengenai jenis bakteri apa saja yang terdapat pada usus ikan sidat (*Anguilla bicolor*) dan potensinya sebagai probiotik.

#### **3.2 Populasi dan Sampel**

Populasi yang digunakan yaitu seluruh bakteri yang berada pada saluran pencernaan ikan sidat sedangkan sampel yang digunakan yaitu bakteri yang berasal dari usus ikan sidat yang selanjutnya diidentifikasi dan diuji kriterianya sebagai bakteri kandidat probiotik.

#### **3.3 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2018 sampai Juni 2018 di Laboratorium Riset Bioteknologi, Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.

#### **3.4 Alat dan Bahan**

##### **3.4.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, autoklaf, oven, shaker, timbangan analitik, spektrofotometer, *centrifuge*, *magnetic stirrer with hot plate*, *colony counter*, *vortex*, mikroskop, mikropipet, *tips*, pipet tetes, lemari pendingin dan peralatan laboratorium mikrobiologi seperti *beaker glass*, papan miring, erlenmeyer, cawan petri, gelas ukur, tabung reaksi, sumbat, rak tabung, bak pewarnaan, *object glass*, *cover glass*, tabung durham, kuvet, bunsen, jarum inokulasi dan mortar.

##### **3.4.2 Bahan**

Canthika Trinaya, 2018

*ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (Anguilla bicolor ) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah usus ikan sidat (*Anguilla bicolor*), medium *de Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), *MRS broth* (MRSB),

**Canthika Trinaya, 2018**

***ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK***

Universitas Pendidikan Indonesia | [repository.upi.edu](http://repository.upi.edu) | [perpustakaan.upi.edu](http://perpustakaan.upi.edu)

*Tryptic Soy Agar (TSA)* , medium MRSB+HCl, medium MRSB + 0.05 % , 0.1 % dan 0.3% garam empedu, medium Sulfide *Indole* Motility (SIM), medium *simmons citrate*, medium lipid, medium pati, medium gelatin, medium MR-VP dan medium fermentasi karbohidrat berupa fermentasi glukosa, sukrosa, laktosa dan dextrosa. Larutan fisiologis NaCl 0,85%, larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lugol, larutan KOH 4% dan KOH 40%, Alkohol 70%, alkohol 96%, *Methyl Red*, kristal violet, safranin, larutan alphanaphthol, reagen kovac's, akuades, pH universal, *aluminium foil*, kapas, plastik tahan panas, kertas label, dan plastik *wrap*.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 1.5.1 Tahap Persiapan

##### 1. Penentuan lokasi dan sampel penelitian

Lokasi pengambilan ikan sidat dilakukan. Ikan sidat yang sesuai dengan kriteria dipilih 5 ikan sidat yang sehat dan berukuran relatif besar dan dewasa yang telah melewati fase larva sampai fase *elver eel*.

##### 2. Persiapan alat dan bahan

Seluruh alat dan bahan yang dibutuhkan selama penelitian berlangsung dipersiapkan, diperiksa ketersediaann dan keberfungsianannya. Alat dan bahan kemudian dibungkus menggunakan plastik tahan panas, kemudian disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121<sup>0</sup>C, tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

##### 3. Pembuatan reagen dan media

Persiapan teknik pengenceran, teknik pewarnaan, persiapan berbagai medium diantaranya medium MRSA sebagai medium selektif terhadap bakteri asam laktat, medium uji fermentasi karbohidrat, uji sulfur, uji *Indole*, uji motilitas, uji simmons citrate, uji MR-VP, uji lipid, uji pati, uji gelatin dan uji katalase sebagai medium untuk uji biokimia. Sedangkan medium untuk menguji kandidat probiotik yaitu medium MRSB+ HCl untuk uji toleransi pH , medium MRSB + 0.05%, 0.1%

dan 0.3 % garam empedu untuk uji toleransi garam empedu.

**Canthika Trinaya, 2018**

*ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK*

Universitas Pendidikan Indonesia | [repository.upi.edu](http://repository.upi.edu) |  
[perpustakaan.upi.edu](http://perpustakaan.upi.edu)

## 1.5.2 Tahap Penelitian

### 1. Ekstraksi saluran usus ikan sidat

Ikan disterilkan di dalam larutan alkohol 70%, kemudian ikan dibedah dan diambil bagian saluran ususnya secara aseptik. Bagian usus kemudian dicuci dengan larutan fisiologis 0,85% NaCl kemudian dihomogenkan menggunakan hand homogenizer di dalam tube.

### 2. Teknik Pengenceran dan isolasi bakteri pada media

Ekstrak usus dihomogenkan dengan larutan 0,85% NaCl. Sampel yang telah dihaluskan, kemudian dilakukan pengenceran berseri  $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$ . Metode seri pengenceran yang dilakukan yaitu dengan mengambil sebanyak 1 ml sampel, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades steril lalu dihomogenisasi menggunakan *vortex stirrer* selama 1-3 menit sehingga didapat pengenceran  $10^{-1}$ , untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$  dilakukan dengan mengambil 1 ml dari pengenceran  $10^{-1}$  dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades steril, demikian seterusnya dilakukan seri pengenceran hingga  $10^{-6}$ . Pengenceran  $10^{-6}$  diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam cawan Petri yang telah berisi medium MRSA dan TSA dengan menggunakan metode cawan tuang (*pour plate*), kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Koloni dengan penampakan morfologi berbeda kemudian diambil dan dimurnikan pada media MRSA miring menggunakan metode odlcawan gores, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Untuk membuat medium bakteri stock, masing-masing isolat dari medium MRSA miring diperbanyak kembali ke dalam medium baru MRSA miring untuk penyimpanan.

**Tabel 3.1**

*Format Tabel Hasil Morfologi Koloni Campuran dari Isolasi Bakteri*

Kode isolat	Morfologi Koloni			
	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna

Canthika Trinaya, 2018

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

--	--	--	--	--

**Canthika Trinaya, 2018**

*ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (Anguilla bicolor ) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |  
perpustakaan.upi.edu

### 3. Teknik Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan salah satu teknik pewarnaan yang digunakan untuk mengidentifikasi morfologi sel bakteri. Teknik pewarnaan ini termasuk *differential stain* atau pewarnaan bertingkat yang menggunakan lebih dari satu jenis pewarna. Isolat dari berbagai kultur murni yang telah tumbuh pada medium selanjutnya dilakukan pewarnaan. Jenis pewarnaan yang dilakukan adalah pewarnaan Gram, yaitu dengan membersihkan kaca objek dengan alkohol dan disterilkan pada api bunsen, kemudian diambil isolat bakteri dengan jarum ose dan dioleskan pada object glass. Isolat bakteri kemudian ditetesi kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi kembali dengan larutan iodine dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Selanjutnya isolat bakteri ditetesi alkohol 96% selama 30 detik, kemudian dialiri air dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi pewarna safranin selama 30 detik dan dicuci dengan air mengalir dan dibiarkan mengering, kemudian dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu sedangkan bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah muda. Bakteri yang tumbuh kemudian diamati bentuk selnya secara mikroskopik pada kaca preparat sehingga dapat diketahui bentuknya (kokus, batang atau spiral) (Syulasm, 2017). Bakteri yang menampilkan hasil pewarnaan Gram positif dipilih untuk masuk ke tahap pengujian selanjutnya.

**Tabel 3.2**

*Format Tabel Hasil Pewarnaan Gram*

Kode Isolat	Morfologi sel		
	Gram	Bentuk	Dokumentasi

Canthika Trinaya, 2018

*ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (Anguilla bicolor ) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu


**Canthika Trinaya, 2018**

*ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (Anguilla bicolor ) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |  
perpustakaan.upi.edu



#### 4. Uji Aktivitas Biokimia

##### a. Uji Motilitas dan Uji H<sub>2</sub>S

Uji Motilitas dan Uji H<sub>2</sub>S dilakukan secara bersamaan dalam satu medium uji yaitu medium *Sulfide Indole Motility* (SIM). Medium ini terdiri dari *peptone*, agar, *beef extract*, ferro ammonium sulfat dan sodium thiosulfat dalam aquades. Sebanyak satu ose isolat bakteri ditusukkan ke medium uji SIM dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Hasil positif ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar baik ke kiri,kanan atau ke bawah, maka dapat diartikan bahwa bakteri tersebut bergerak (motil) dan bila pertumbuhan bakteri tidak menyebar, maka bakteri tersebut tidak bergerak (non motil). Sedangkan untuk hasil positif uji H<sub>2</sub>S ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna hitam.

##### b. Uji Hidrolisis Pati

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan pada medium agar pati dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Setelah masa inkubasi, tetesi medium agar pati tersebut dengan larutan iodium. Hasil positif ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar koloni bakteri (Syulasm, 2017).

##### c. Uji Hidrolisis Kasein

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan pada medium agar kasein dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Setelah masa inkubasi, hasil positif ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar koloni bakteri (Syulasm, 2017).

##### d. Uji Hidrolisis Lipid

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan pada medium agar lipid dan diinkubasi selama 1-2 x 24 jam pada suhu 35°C. Setelah masa inkubasi. Hasil positif ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar koloni bakteri (Syulasm, 2017).

##### e. Uji Hidrolisis Gelatin

Medium gelatin terdiri dari pepton, *beef extract* dan gelatin dalam larutan aquades. Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan pada media cair gelatin dan

diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Pada suhu di bawah 25°C medium akan berbentuk padat, sedangkan pada temperatur diatas 25°C gelatin berbentuk cair. Hasil

**Canthika Trinaya, 2018**

*ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (Anguilla bicolor ) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |  
perpustakaan.upi.edu

positif ditandai dengan gelatin yang tetap mencair meski disimpan pada suhu 4°C (Syulasma, 2017).

**f. Uji *Indole***

Medium yang digunakan pada uji *Indole* yaitu medium SIM. Bakteri yang akan diuji ambil sebanyak satu *loop* dengan jarum ose dan inokulasikan pada media kaldu tryptone. Inkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Tambahkan 1-2 tetes reagen Kovac's ke dalam tabung medium dan kocok selama 10 menit. Hasil positif ditandai dengan adanya berupa cincin berwarna merah pada permukaan medium. (Volk dan Wheeler, 1993).

**g. Uji *Methyl Red* dan *Voges Proskauer***

Inokulasikan satu ose bakteri dengan menggunakan jarum ose ke dalam media *Methyl Red* (MR). Inkubasikan pada suhu 35°C selama 48 jam. Tambahkan 5 ml reagen *Methyl Red* kedalam tabung MR kemudian Inkubasi selama 48 jam. Uji positif ditandai dengan perubahan warna medium menjadi merah, artinya terbentuk asam dan uji negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media (Sudarsono, 2008). Bakteri yang hendak diuji di inokulasi ke dalam kaldu medium MR-VP, diinkubasi dalam suhu 35°C selama 48 jam. Setelah masa inkubasi diteteskan 0,6 ml alpha-naphthol ke dalam medium tersebut dan dikocok dan 0,2 ml KOH 40% ditambahkan selanjutnya. Warna merah yang terjadi menunjukkan hasil tes yang positif.

**h. Uji *Simmons citrate***

Medium *simmons citrate* terdiri dari agar, sodium citrat  $K_2HPO_4$ , NaCl,  $(NH_4) H_2PO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  dan *Bromothymol blue* dalam larutan aquades. Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi secara zig-zag pada permukaan agar miring media *simmons citrate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi biru dan uji negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media (Sudarsono, 2008).

**i. Uji Fermentasi Karbohidrat**

Medium laktosa terdiri dari pepton, NaCl, beef extract, laktosa dan *bromcresol purple* (bcp) dalam larutan aquades. Medium dekstrosa terdiri dari pepton, NaCl, *beef extract*, dekstrosa dan *bromcresol purple* (bcp) dalam

**Canthika Trinaya, 2018**

*ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (Anguilla bicolor ) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |  
perpustakaan.upi.edu

larutan aquades. Medium glukosa terdiri dari pepton, NaCl, beef extract, glukosa dan *bromcrescol purple* (bcp) dalam larutan aquades. Sedangkan medium sukrosa terdiri dari pepton, NaCl, beef extract, dekstrosa dan *bromcrescol purple* (bcp) dalam larutan aquades. Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam tabung-tabung reaksi yang berisi medium fermentasi laktosa, glukosa, dekstrosa dan sukrosa diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi kuning dan apabila dalam tabung terdapat gelembung, berarti fermentasi tersebut menghasilkan gas (CO<sub>2</sub>) (Syulamsi, 2017).

**Tabel 3.3**

*Format Tabel Hasil Uji Biokimia untuk Identifikasi Bakteri*

j. Uji Biokimia	Kode Isolat Bakteri		
	.....	.....	.....
Katalase			
Motilitas			
Produksi H <sub>2</sub> S			
Hidrolisis Pati			
Hidrolisis Lipid			
Hidrolisis Gelatin			
Hidrolisis Kasein			
<i>Indole</i>			
<i>Sinmons Citrate</i>			
<i>Methyl Red</i>			
Voges Proskauer			
Fermentasi Karbohidrat			

b

anyak 2 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% diletakkan pada object glass steril. Isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian dipindahkan ke atas kaca objek dan dicampurkan. Hasil uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung-gelembung oksigen dan

uji negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan atau gelembung-gelembung oksigen pada isolat bakteri (Syulasmis, 2017).

**Canthika Trinaya, 2018**

*ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK*

Universitas Pendidikan Indonesia | [repository.upi.edu](https://repository.upi.edu) |  
[perpustakaan.upi.edu](https://perpustakaan.upi.edu)

## 5. Pembuatan Kurva Tumbuh

Kurva tumbuh dari masing-masing isolat bakteri dibuat dengan cara menginokulasikan satu ose isolat bakteri pada medium MRSB 10 ml sebagai starter dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selanjutnya starter dimasukkan ke dalam media MRSB 90 ml. Kemudian nilai absorbansi dihitung menggunakan spektrofotometer di jam pertama bakteri menyentuh medium. Selanjutnya setiap interval waktu 2 jam sekali selama 24 jam, setiap isolat bakteri dihitung absorbansinya pada panjang gelombang ( $\lambda = 600$  nm). Data hasil absorbansi akan dituangkan ke dalam bentuk kurva.

## 6. Uji Toleransi pH asam

Uji toleransi terhadap asam menggunakan metode Brashear (dalam Sarkono, 2009). Beberapa isolat yang diperoleh dari isolasi di atas ditanam pada media MRSB untuk digunakan sebagai starter dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya media MRSB dimasukkan masing-masing ke dalam labu erlenmeyer sebanyak 90 mL. pH media diatur menurut perlakuan yaitu pH 2; pH 3; pH 4; pH 5 dan pH 6,5 (Kontrol) menggunakan pH meter. Masing masing perlakuan diinokulasi dengan 10 mL bakteri kandidat probiotik. Kemudian diinkubasi di waterbath dengan suhu 37°C Pertumbuhan isolat diamati setiap interval waktu 2 jam pada jam ke 2,4,6 dan 24 jam dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang ( $\lambda = 600$  nm). Data hasil absorbansi akan dituangkan ke dalam bentuk kurva. Format tabel nilai absorbansi toleransi pH asam dapat dilihat pada tabel 3.4 berikut.

**Tabel 3.4**

Jam ke-	Isolat (.....)				
	Nilai absorbansi pH 2	Nilai absorbansi pH 3	Nilai absorbansi pH 4	Nilai absorbansi pH 5	Nilai absorbansi pH 6,5
0					
2					
4					
6					

Canthika Trinaya, 2018

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

24					
----	--	--	--	--	--

*Format Tabel Hasil Uji Toleransi pH Asam*

**Canthika Trinaya, 2018**

*ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (Anguilla bicolor ) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |  
perpustakaan.upi.edu



## 7. Toleransi Garam Empedu

Uji toleransi terhadap empedu dilakukan dengan menggunakan metode yang digunakan oleh Gilliland (dalam Sarkono, 2009). Kultur segar dari isolat terpilih diinokulasikan kedalam tabung yang mengandung MRSB 10 ml untuk digunakan sebagai starter dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya 90 mL media MRSB disiapkan dengan mengatur kadar garam empedu menurut perlakuan yaitu 0 (kontrol), 0,05 %, 0,1 % dan 0,3 %. Masing-masing perlakuan diinokulasikan dengan 10 mL starter yang sebelumnya telah disiapkan. Kemudian diinkubasi di *water bath* dengan suhu 37°C. Pertumbuhan isolat diamati setiap interval waktu 2 jam pada jam ke 2,4,6 dan 24 jam dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang ( $\lambda = 600 \text{ nm}$ ). Data hasil absorbansi akan dituangkan ke dalam bentuk kurva.

**Tabel 3.5**  
*Format Tabel Hasil Uji Toleransi Garam Empedu*

Isolat (.....)			
Jam ke-	Absorbansi Garam empedu 0,05 %	Absorbansi Garam empedu 0,1 %	Absorbansi Garam empedu 0,3 %
0			
2			
4			
6			
24			

## 8. Uji Antagonis Isolat Bakteri Potensi Probiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Uji antagonis merupakan suatu uji yang dilakukan untuk membuktikan dapat atau tidaknya mikroorganismenya yang bersifat antagonis menghambat aktivitas hidup mikroorganismenya lain yang berada pada tempat yang sama. Bakteri uji antagonistik yaitu *Staphylococcus aureus* (ATCC 25953) dan *Pseudomonas*

Canthika Trinaya, 2018

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

*aeruginosa* (ATCC 27853) yang didapatkan dari Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) di Bandung. Uji antagonistik ini dilakukan berdasarkan metode Widowati (dalam

**Canthika Trinaya, 2018**

***ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK***

Universitas Pendidikan Indonesia | [repository.upi.edu](http://repository.upi.edu) |  
[perpustakaan.upi.edu](http://perpustakaan.upi.edu)

Risma, 2016) yaitu dengan menggunakan metode inokulasi titik. Masing-masing isolat bakteri patogen uji ditumbuhkan kembali ke dalam medium *Nutrient Broth* (NB), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi, 1 ml suspensi bakteri patogen uji dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 9 ml medium NB dengan teknik *pour plate*. Suspensi bakteri dan medium NB tadi dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Kemudian dilakukan metode inokulasi titik yaitu dengan cara mengambil satu ose bakteri kandidat probiotik yang telah dikultur ulang pada media MRSA miring selama 24 jam yang kemudian diinokulasikan pada cawan petri yang telah berisi bakteri patogen uji tadi. Selanjutnya inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi diamati adanya zona bening pada sekeliling isolat bakteri kandidat probiotik.

**Tabel 3.6**

*Format Tabel Hasil Uji Antagonis Bakteri Probiotik*

Isolat Bakteri	Zona Hambat	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

## 1.6 Analisis Data

Data yang telah diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan mendeskripsikan secara sistematis dan akurat secara ilmiah. Hasil uji terhadap isolat-isolat yang diperoleh, dilakukan upaya identifikasi bakteri berdasarkan karakter biokimia sesuai dengan tabel biokimia dengan berpedoman pada buku "*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*"

Canthika Trinaya, 2018

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |  
perpustakaan.upi.edu

\

**Canthika Trinaya, 2018**

***ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK***

Universitas Pendidikan Indonesia | [repository.upi.edu](https://repository.upi.edu) |  
perpustakaan.upi.edu

**Canthika Trinaya, 2018**

***ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAL USUS IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) DAN POTENSINYA SEBAGAI PROBIOTIK***

Universitas Pendidikan Indonesia | [repository.upi.edu](https://repository.upi.edu) |  
[perpustakaan.upi.edu](https://perpustakaan.upi.edu)