

**PENGARUH MEDIA DAN RASIO *LACTOBACILLUS*
PLANTARUM N16 DAN *SACCHAROMYCES CEREVICEAE*
(PROBIOTIK CAMPURAN) TERHADAP VIABILITAS,
BIOMASSA SEL DAN PENURUNAN pH MEDIUM**

SKRIPSI



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PAYAKUMBUH, 2021**

**PENGARUH MEDIA DAN RASIO *LACTOBACILLUS*
PLANTARUM N16 DAN *SACCHAROMYCES CEREVICEAE*
(PROBIOTIK CAMPURAN) TERHADAP VIABILITAS,
BIOMASSA SEL DAN PENURUNAN pH MEDIUM**

SKRIPSI

UNIVERSITAS ANDALAS

Oleh :

AZIZAH

1510622033

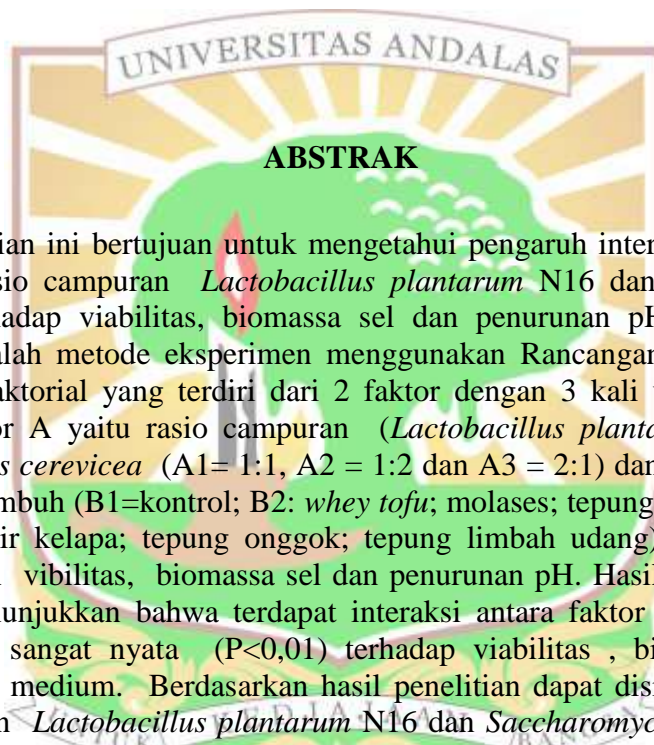
**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Melaksanakan Penelitian
Pada Fakultas Peternakan**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PAYAKUMBUH, 2021**

**PENGARUH MEDIA DAN RASIO *LACTOBACILLUS*
PLANTARUM N16 DAN *SACCHAROMYCES CEREVICEAE*
(PROBIOTIK CAMPURAN) TERHADAP VIABILITAS,
BIOMASSA SEL DAN PENURUNAN pH MEDIUM**

AZIZAH, dibawah bimbingan
Prof. Dr. Ir. Yetti Marlida, MS dan Dr. Ir. Harnentis, MP
Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan
Universitas Andalas Payakumbuh, 2021



Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh interaksi antara jenis media dan rasio campuran *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cereviceae* terhadap viabilitas, biomassa sel dan penurunan pH. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari 2 faktor dengan 3 kali ulangan, dimana sebagai faktor A yaitu rasio campuran (*Lactobacillus plantarum* N16) dan *Saccharomyces cereviceae* (A1= 1:1, A2 = 1:2 dan A3 = 2:1) dan faktor B adalah jenis media tumbuh (B1=kontrol; B2: *whey tofu*; molases; tepung limbah ikan; B3 = campuran air kelapa; tepung onggok; tepung limbah udang). Peubah yang diamati adalah viabilitas, biomassa sel dan penurunan pH. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara faktor A dan faktor B yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap viabilitas, biomassa sel dan penurunan pH medium. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa rasio campuran *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cereviceae* 2:1 dan menggunakan medium limbah air kelapa, tepung onggok dan tepung limbah udang, yang diinkubasi pada inkubator selama 24 jam pada suhu 37⁰C memiliki viabilitas : 2,37; biomassasel : 42.33 mg/ml dan penurunan pH sebesar: 2.37

Kata Kunci : *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces cereviceae*, media, Viabilitas, pH

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“Pengaruh Media dan Rasio *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* (Probiotik campuran) Terhadap Viabilitas, Biomassa Sel dan Penurunan pH Medium”**. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana (S1) pada Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Semoga shalawat dan salam selalu tercurah dan sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Yetti Marlida, MS selaku pembimbing I dan Ibu Dr. Ir. Harnentis, MS selaku pembimbing II yang telah meluangkan banyak pikiran, waktu dan tenaga dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Seterusnya penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dekan, Koordinator Program Studi Peternakan Kampus Payakumbuh dan civitas akademika di Lingkungan Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Penelitian ini jelas takkan terlaksana dengan baik tanpa dukungan keluarga tercinta yang telah memberikan dukungan moril maupun materil sehingga penulisan skripsi ini selesai pada waktunya.

Semoga proposal ini berguna dalam bidang Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan dan bidang ilmu pengetahuan lainnya pada masa yang akan datang.

Payakumbuh, 23 Juni 2021

Azizah

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	6
1.3. Tujuan dan Kegunaan penelitian.....	6
1.4. Hipotesis Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Media Tumbuh Mikroorganisme	7
2.2. Probiotik.....	8
2.3. <i>Lactobacillus plantarum</i> N16 Sebagai Probiotik.....	9
2.4. <i>Sccharomyces cerevisiae</i> Sebagai Probiotik.....	11
2.5. Viabilitas	13
2.6. Biomassa Sel.....	16
2.7. Uji pH.....	16
2.8. Medium Tumbuh Alami Alternatif Mikroorganisme	17
2.8.1. Limbah Cair Tahu Sebagai Medium Alami.....	17
2.8.2. Molases Sebagai Medium	17

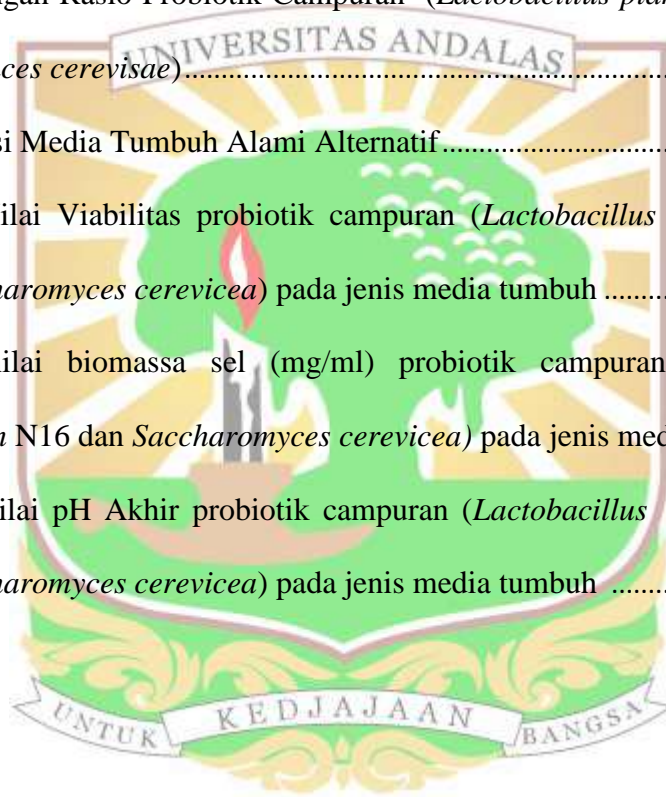
2.8.3. Tepung Limbah Ikan Sebagai Medium	18
2.8.4. Air Kelapa Sebagai Medium	18
2.8.5. Tepung Onggok Sebagai Medium	20
2.8.6. Tepung Limbah Udang Sebagai Medium	20
III. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	22
3.1. Materi Penelitian	22
3.2. Metode Penelitian	22
3.2.1. Rancangan Penelitian	22
3.2.2. Pelaksanaan Penelitian.....	24
3.2.3. Penggabungan <i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan Ragi	25
3.2.4. Inokulas Pada Media Alami	25
3.3. Peubah yang diukur.....	26
3.3.1. pH	26
3.3.2. Nilai Viabilitas	27
3.3.3. Biomassa Sel.....	28
3.4. Analisis Data Menunakan SPSS 26	28
3.5. Skema Penelitian	29
3.6. Tempat dan Waktu Penelitian	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Viabilitas Probiotik Campuran	30
4.2 Biomassa Sel Probiotik Campuran	34
4.3 Penurunan Nilai pH Medium	37

V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	49
RIWAYAT HIDUP.....	76



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai Nutrisi Air Kelapa Menurut Data Nutrisi <i>United States Department of Agriculture</i> (USDA)	19
2. Kombinasi Perlakuan Rasio Probiotik Campuran (<i>Lactobacillus plantarum</i> N16) dan <i>Saccharomyces cerevicea</i> pada Jenis Media Tumbuh Alami	23
3. Perbandingan Rasio Probiotik Campuran (<i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccaromces cerevisae</i>).....	25
4. Komposisi Media Tumbuh Alami Alternatif.....	26
5. Rataan Nilai Viabilitas probiotik campuran (<i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i>) pada jenis media tumbuh	30
6. Rataan nilai biomassa sel (mg/ml) probiotik campuran (<i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i>) pada jenis media tumbuh.....	34
7. Rataan Nilai pH Akhir probiotik campuran (<i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i>) pada jenis media tumbuh	37



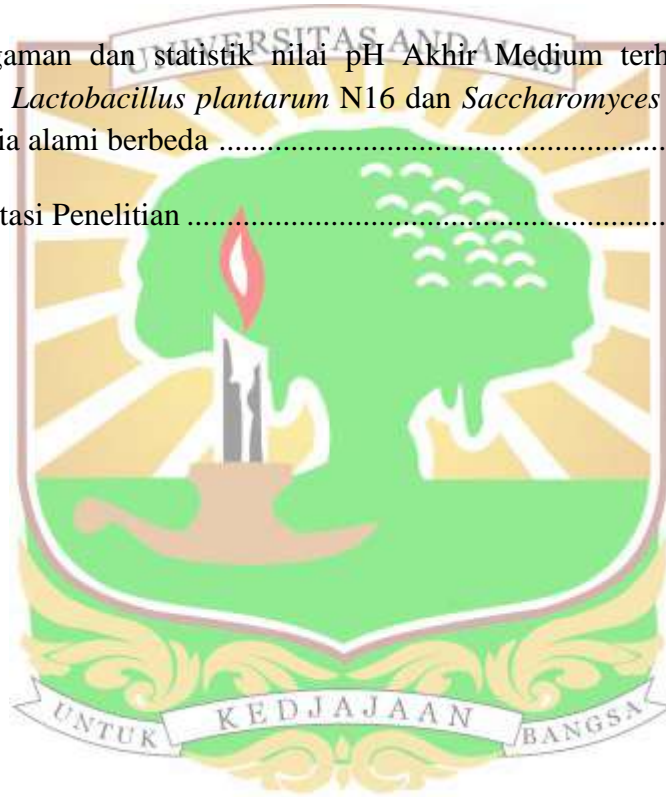
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bentuk fisik khamir <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
2. Skema Penelitian.....	29
3. Grafik Nilai Viabilitas probiotik campuran (<i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i>) pada jenis media tumbuh	30
4. Grafik Nilai Biomassa Sel (mg/ml) probiotik campuran (<i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i>) pada jenis media tumbuh.....	34
5. Grafik Nilai pH Akhir Medium probiotik campuran (<i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i>) pada jenis media tumbuh	37



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Uji keragaman dan statistik nilai Viabilitas terhadap campuran probiotik <i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i> pada jenis media alami berbeda	49
2. Uji keragaman dan statistik nilai Biomassa Sel terhadap campuran probiotik <i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i> pada jenis media alami berbeda	55
3. Uji keragaman dan statistik nilai pH Akhir Medium terhadap campuran probiotik <i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i> pada jenis media alami berbeda	61
4. Dokumentasi Penelitian	71



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup guna memelihara sistem pencernaan manusia dan hewan, pada ternak diberikan sebagai *feed additive*. Salah satu *feed additive* pakan yang digunakan untuk mencapai produktivitas yang efisien dan optimal yaitu dengan pemberian probiotik (Astuti, *et al.*, 2015). Probiotik adalah mikroba hidup dapat berupa kultur tunggal atau campuran yang disuplementasikan secara langsung (*direct-fed microbials*) dan jika diberikan dalam jumlah yang memadai memberikan manfaat kesehatan pada inang (Lee *et al.*, 2009). Alternatif penggunaan probiotik yang dilakukan oleh peternak, karena beberapa negara telah melarang penggunaan antibiotik sebagai pemacu pertumbuhan (*Growth promotor*), dan beberapa bakteri patogen cenderung resisten antibiotik-antibiotik tertentu, yang dapat mempengaruhi manusia sebagai konsumen produk hewani (Revolledo *et al.*, 2006).

Manfaat bakteri probiotik bagi kesehatan manusia di-antaranya adalah meningkatkan sistem imunitas, membantu absorpsi nutrisi, memperpendek durasi sakit diare dan membantu pencernaan laktosa bagi penderita *lactose intolerance* (Endang, 2011). Penggunaan probiotik pada ternak telah dilaporkan dapat menurunkan kadar kolesterol dan berperan sebagai *growth promotor*, meningkatkan konversi pakan, pengendalian kesehatan atau pencegahan mikroba patogen terutama pada ternak usia muda (Depson, 2012). Probiotik dapat menjaga keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan yaitu melalui mekanisme *competitive exclusion* yaitu kompetisi antara bakteri patogen dan

mikroorganisme probiotik, kemudian bakteri patogen tidak akan mampu hidup dalam saluran pencernaan dan akan keluar bersama feses/ ekskreta (Murwani, 2008). Probiotik pada unggas, dapat mencegah kejadian keracunan yang disebabkan oleh aflatoksin atau *aflatoxicosis* (Wahyudi *et al.*, 2007). Haryanto (2000), menambahkan bahwa penambahan probiotik pada pakan konsentrat dapat mengubah kandungan lemak karkas daging domba.

Diantara probiotik asal mikoba yang umum digunakan pada ternak antara lain didapat dari bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus plantarum* N16 dan dari kelompok Ragi/ yeast seperti *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian ini menggunakan bakteri asam laktat yang di isolasi dari dadih bernama *Lactobacillus plantarum* N16 dan ragi roti merk “fermipan” mengandung *Saccharomyces cerevisiae*.

Septiani (2019), menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* N16 merupakan bakteri Gram positif, basil, katalase dan oksidase negatif, yang memiliki daya tahan terhadap pH 2.5 sebesar 88.80% (inkubasi 3 jam) dan 84.31% (inkubasi 6 jam), tahan garam empedu sebesar 55.07% (konsentrasi 0.3%) dan 47.5% (konsentrasi 0.5%), serta daya hambat BAL terhadap *Eschechia.coli* 11.54 mm, *Staphylococcus aureus* 10.27 dan *Salmonella enteritidis* 16.31 mm. *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu species dari bakteri asam laktat (BAL). *L. plantarum* bersifat amilolitik yang secara langsung akan merubah pati menjadi asam laktat, digunakan sebagai starter pada proses fermentasi yang berperan dalam peningkatan produksi asam laktat (Reddy *et al.*, 2008). Produksi asam laktat berkontribusi terhadap penurunan pH dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain selain bakteri asam laktat dan juga menghasilkan

metabolit lain yang berfungsi sebagai anti mikrobia seperti asam asetat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin (Phumkhachorn *et al.*, 2010).

Ahmad (2005), menyatakan bahwa keuntungan penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai probiotik ialah tidak membunuh mikroorganisme namun menambah jumlah mikroorganisme yang menguntungkan, sedangkan antibiotik dapat membunuh baik mikroorganisme menguntungkan maupun merugikan tubuh serta memiliki efek resistensi terhadap obat tertentu. *Saccharomyces cerevisiae* sebagai bahan imunostimulan dengan meningkatkan sistem pertahanan, meningkatkan kesehatan tubuh terhadap penyakit yang disebabkan bakteri, jamur, virus dan lainnya, karena salah satu komponen dasar imunostimulan adalah beta-D glukukan, dan bahan ini terdapat pada *barley* dan khamir (*Saccharomyces cerevisiae*). Beta-D glukukan mampu meningkatkan fungsi imun termasuk antara lain fagositosis yaitu kemampuan untuk menangkap benda asing, partikel yang dilepaskan sitokin yang merupakan hormon interseluler yaitu : IL-1, IL-6, GM-12 CSF, interferon dan pembuatan antigen.

Probiotik kultur campuran dapat bekerja lebih baik dibandingkan probiotik tunggal. Putri *et al.*, (2008) menambahkan bahwa jumlah sel *Lactobacillus* dan *Saccharomyces cereviceae* pada metode pertumbuhan kultur secara campuran lebih tinggi dibandingkan metode pertumbuhan kultur tunggal. Penggunaan probiotik yang dicampur dengan berbagai spesies mikroorganisme, terutama *cellulolytic microorganisms* yang dapat menguraikan komponen serat melalui pakan dapat meningkatkan produktivitas temak (Haryanto, 2000). Sehingga penambahan inokulan *S. cerevisiae* dapat mendukung pertumbuhan bakteri asam

laktat (Hippen *et al.*, 2010). Inokulan *L. plantarum* memiliki kemampuan untuk tumbuh bersama *S. cerevisiae*, penggunaan kombinasi kedua inokulan dapat meningkatkan kualitas fermentasi (Sofyan *et al.*, 2011).

Untuk mendukung pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cereviceae* tersebut, diperlukan nutrisi yang cukup pada media pertumbuhannya. Beberapa nutrisi yang dibutuhkan antara lain karbon, nitrogen dan mineral. Media tumbuh komersial seperti MRS (*de Man Ragosa and Sharpe*), merupakan media spesifik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat namun penggunaannya pada skala industri tidaklah efektif dikarenakan sulit dijangkau dan relatif mahal. Untuk itu diperlukan media pengganti yang ekonomis, ramah lingkungan dengan nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroba. Penelitian ini akan memanfaatkan limbah pangan untuk media tumbuh pengganti juga sebagai upaya pemecahan masalah pencemaran lingkungan.

Media tumbuh alami yang digunakan yaitu limbah cair tahu, molases, tepung limbah ikan, air kelapa dan tepung onggok, dan tepung limbah udang. Budiarti (2008), menyebutkan bahwa dalam 100 g air limbah tahu mengandung 2 g karbohidrat; 1,75 g protein; 1,25 g lemak; 0,001 g serat kasar dan 4,5g kalsium. Molases adaah hasil samping industri gula dengan nama lain yaitu tetes tebu, mengandung senyawa unsur mikro, nitrogen, dan kandungan gula yang cukup tinggi terutama kandungan sukrosa 30-40%, fruktosa 5-12% dan glukosa 4-9%, sangat cocok sebagai sumber karbon untuk fermentasi asam laktat (Hidayat *et al.*, 2006). Menurut Hossain *et al.*, (2015), jeroan ikan mengandung 14,01% protein, 20% lipid, 4,75% kadar abu, 60,62% kadar air.

Menurut *United States Department of Agriculture (USDA)* (2016), dalam 100 gr air kelapa memiliki kandungan elektrolit antara lain kalium (250 mg), fosfor (20 mg), zat besi (0,29 mg), zink (0,1 mg) dan air (94,99 g), serta karbohidrat (3.71 g), gula (2.61 g), protein (0.72 g), vitamin C (2.4 mg), Vitamin B6 (0.032 mg), Asam Pantotenat (0.043 mg), Folat (3 µg), Tiamina/ Vit. B1 (0.03 mg). Untuk kandungan nutrisi pada onggok adalah : energi (TDN) : 77,85 %, protein kasar (PK) : 6,90 %, ekstrak eter (EE) : 0,19 % serat kasar (SK) : 20,19 %, abu : 3,93 %, dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) : 68,69 %, masing-masing atas dasar bahan kering (Rizal, 2010). Kandungan yang dimiliki tepung kulit sangat baik dengan protein yang tinggi sebesar 38,25%, serat kasar 16,67% , kalsium 5,75% dan fosfor 1,59% (Rosidasi *et al.*, 2011).

Maslami *et al.*, (2019) menyatakan bahwa medium alami terbaik untuk *Lactobacillus plantarum* N16 adalah penambahan 9% gula tebu (615,83 mg/L), dan 90% air tahu (840,47 mg/L), 7% stater (124,61 mg/L), 5 µg/L biotin (167,28 mg/L), pH awal medium 5,5 (231,52 mg/L), dengan lama inkubasi 36 jam (260,55 mg/L), suhu 36°C (346,4 mg/L) merupakan optimalisasi yang dapat dilakukan dengan penyesuaian nutrisi dan kondisi lingkungan. Anggraini *et al.*, (2019) menambahkan bahwa media tumbuh alami terbaik untuk bakteri asam laktat golongan *Pediococcus acidilacti* adalah limbah cair tahu dan gula aren, dimana konsentrasi terbaik adalah 100% limbah cair tahu dan 15% gula aren mengakibatkan tingkat produksi *gamma-aminobutyric acid* (GABA) hingga 311.485 mg / L.

Sejauh ini belum banyak riset yang memanfaatkan penggabungan *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai probiotik.

Oleh karena itu, pencarian sumber probiotik yang lebih baik perlu dilakukan sebagai alternatif pengganti antibiotik yang menghasilkan produk-produk bebas residu. Peranan probiotik terhadap pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit telah dibuktikan, namun harganya masih relatif mahal.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian yang berjudul **“Pengaruh Media dan Rasio *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* (Probiotik campuran) Terhadap Viabilitas, Biomassa Sel dan Penurunan pH Medium”**.

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimana interaksi antara rasio probiotik campuran dengan jenis media terhadap viabilitas, biomassa sel dan penurunan pH.

1.3 Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Untuk mengetahui interaksi antara rasio probiotik campuran dengan jenis media terhadap viabilitas, biomassa sel tertinggi dan penurunan pH.

1.4 Hipotesis Penelitian

Terdapat interaksi antara rasio probiotik campuran dengan jenis media terhadap viabilitas, biomassa sel dan penurunan pH.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Media Tumbuh Mikroorganisme

Media merupakan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan secara *in vitro* (Harti, 2014). Media pertumbuhan harus memenuhi persyaratan nutrisi yang dibutuhkan oleh suatu mikroorganisme (Atlas, 2004). mikroorganisme membutuhkan nutrisi untuk pertumbuhannya seperti karbo Zn, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, dan Fe, vitamin, air, dan energi (Cappucino, 2014). Harti (2014), media menurut golongannya berdasarkan sifat dan fungsinya terbagi menjadi beberapa kelompok, diantaranya ialah media *transport*, media diperkaya, media selektif (*selective and differential media*), media pengujian, media perhitungan jumlah, (*universal media*) atau media umum media.

Menurut Rizky (2013), menyatakan bahwa media berdasarkan komposisinya ada 2 jenis yaitu :

- a. Media alami, adalah media yang terdiri dari bahan-bahan alami seperti ekstrak kentang, sari wortel.
- b. Media sintetis (*chemically defined media*), adalah media yang terdiri dari bahan-bahan yang telah diketahui komposisinya.

Kemudian media yan berdasarkan konsistensinya ada 3 jenis diantaranya :

- a. Media padat (*solid media*), adalah media yang mengandung agar-agar 1,5-2 %, biasanya dalam bentuk plate agar (lempeng agar) atau *lant agar* atau agar miring (Brooks *et al.*, 2008). Media padat sangat bermanfaat untuk isolasi kultur murni, perhitungan mikroba, dan seleksi galur yang diinginkan, yang berisi substansi yang memadat ketika didinginkan pada suhu ruang. Ariesta,

(2013), substansi pematat yang sering digunakan adalah agar-agar.

- b. Media cair (*liquid media*), adalah media yang tidak mengandung bahan pematat, seperti Nutrient Broth (Brooks *et al.*, 2008).
- c. Media semi padat (*semi solid media*), adalah media yang mengandung agar-agar 0,6-0,75%, seperti media SIM (*Sulfide Indole Motility*) untuk pengamatan motilitas bakteri (Brooks *et al.*, 2008).

2.2 Probiotik

Irianto (2007) menyebutkan bahwa istilah probiotik berasal dari bahasa Yunani, *pros* dan *bios* yang secara harfiah dapat diartikan sebagai untuk hidup. Probiotik didefinisikan sebagai kultur tunggal atau campuran bakteri hidup yang dapat dimanfaatkan oleh hewan atau manusia, dan dapat memberikan manfaat bagi inang untuk meningkatkan kinerja mikrobiota alami tubuh. Kompiang *et al.*, (2002) menambahkan bahwasanya probiotik dapat memperbaiki saluran pencernaan dan meningkatkan kecernaan pakan, yaitu dengan menghambat bakteri patogen dalam saluran pencernaan, sehingga mendukung perkembangan bakteri menguntungkan dan membantu penyerapan zat-zat makanan.

Adapun mekanisme kerja probiotik terdiri dari 3 langkah. Pertama dapat menghasilkan asam, sehingga pH menjadi lebih rendah, yang merugikan bagi mikroorganisme patogen. Kedua beberapa mikroba probiotik dapat menghasilkan zat antibakteri (bakteriosin) yang dapat mengurangi pertumbuhan mikroba lain yang tidak bermanfaat. Ketiga mikroba probiotik dapat berkembangbiak di saluran pencernaan dan bersaing dengan mikroba patogen (Lopez, 2000).

Nur (2005), bahwa menurut FAO/WHO, penambahan pangan probiotik harus memperhatikan kesehatan inang tempat bakteri hidup dan konsentrasi itu

berkisar antara 10^6 - 10^7 CFU/mL dengan tujuan agar terjadi keseimbangan mikroflora di usus. FAO/WHO (2001), menyatakan bahwa probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup non-patogenik, yang apabila dikonsumsi dengan jumlah tertentu dapat memberikan efek menguntungkan bagi inang (*host*).

2.3 *Lactobacillus plantarum* N16 Sebagai Probiotik

Septiani (2019), menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* N16 merupakan bakteri gram positif, basil, katalase dan oksidase negatif, yang diisolasi dari dadih, memiliki daya tahan terhadap pH rendah, tahan terhadap garam dan terhadap bakteri patogen. Buckle *et al.*, (1987) menjelaskan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* merupakan bakteri asam laktat dari famili *Lactobacillaceae* dan genus *Lactobacillus*, bersifat gram positif, berukuran $0,6 - 0,8 \mu\text{m} \times 1,2 - 6,0 \mu\text{m}$, dan non motil. Memiliki sifat antagonis terhadap mikroorganisme penyebab kerusakan makanan contohnya *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, dan gram negatif, bersifat toleran terhadap garam, memproduksi asam dengan pesat dan memiliki pH optimum 5,3-5,6, tidak menghasilkan gas sehingga fermentasi bersifat homofermentatif.

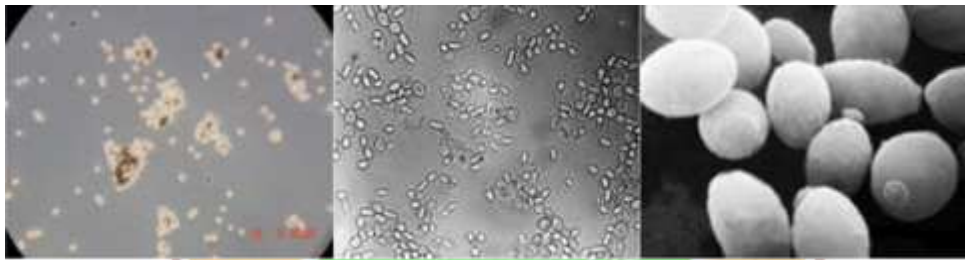
Dadiah merupakan produk fermentasi asal susu kerbau pada tabung bambu di daerah Sumatera Barat. Bakteri asam laktat secara alami ada pada susu kerbau sebagai proses fermentasi (Rizqiati *et al.*, 2015). Beberapa penelitian telah berhasil menemukan beberapa strain *Lactobacillus* dari berbagai bahan minuman fermentasi seperti pada yoghurt, makanan fermentasi tradisional seperti tape, growol dan gatot (Ngatirah *et al.*, 2000). Selama ini dadiah dipercaya dapat bermanfaat untuk kesehatan manusia, selain bersifat probiotik (Surono, 2003).

Bakteri yang bisa digunakan sebagai probiotik tidaklah sembarangan (Tensiska, 2008). Beberapa syarat yang harus diperhatikan dalam menjadikan *Lactobacillus plantarum* sebagai agensia probiotik adalah strain tersebut merupakan mikroflora alami jalur pencernaan manusia, tetap hidup dan tumbuh pada makanan sebelum dikonsumsi, tetap hidup walaupun melewati jalur pencernaan, resistensi terhadap asam lambung, beberapa antibiotik, terhadap lisosim; dapat tumbuh pada intestin dan mempunyai kemampuan menempel pada sel epitel intestin manusia, memberi efek yang menguntungkan dalam usus, menghasilkan asam dalam jumlah besar dan cepat, mampu memproduksi komponen antimikrobia lain disamping asam (bakteriosin, hydrogen peroksida, diasetil dan reuterin) yang efektif menghambat bakteri lain yang tidak diinginkan, terutama bakteri pathogen (Rahayu, 2001). Produk akhir dari metabolisme karbohidrat oleh bakteri asam laktat adalah asam organik, dan produk utama pada fermentasi karbohidrat oleh bakteri asam laktat adalah asam laktat (Dalie *et al.*, 2010). Shortt, (1999), persyaratan probiotik lainnya ialah memiliki kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanan.

Sejumlah penelitian mengungkapkan bahwa beberapa pengaruh positif bagi kesehatan dari probiotik, antara lain meningkatkan ketahanan terhadap penyakit infeksi terutama infeksi usus dan diare serta menurunkan risiko terjadinya tumor dan kanker kolon (Roos *et al.*, 2000), menurunkan tekanan darah/ antihipertensi (Miremadi *et al.*, 2016), menurunkan konsentrasi kolesterol serum darah (Pereira *et al.*, 2002), bersifat antimutagenik (Sah *et al.*, 2014) serta bersifat antikarsinogenik (Kumar *et al.*, 2014).

2.4 *Saccharomyces cerevisiae* Sebagai Probiotik

Saccharomyces cerevisiae merupakan khamir sejati (Gambar 1) yang tergolong eukariot secara morfologi hanya membentuk blastospora berbentuk lonjong, silindris, oval atau bulat telur dipengaruhi oleh strainnya. *Saccharomyces cerevisiae* berkembang biak dengan membelah diri melalui “budding cell”.



Gambar 1. Bentuk fisik khamir *Saccharomyces cerevisiae* (Dubey, 2006)

Menurut Ahmad (2005), beberapa kelebihan *Saccharomyces* dalam proses fermentasi, yaitu mikroorganisme ini cepat berkembang biak, tahan terhadap kadar ammonium yang tinggi, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi. Pertumbuhan *Saccharomyces* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi, yaitu ammonium N yang diperoleh dari penambahan urea, ammonium C sebagai sumber carbon, ammonium dan pepton, mineral, dan vitamin, serta pada suhu optimum untuk fermentasi antara 28-30 °C. Beberapa spesies yang termasuk dalam genus ini diantaranya, yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boullardii*, dan *Saccharomyces uvarum*. Substansi aktif (*beta-D glukon*) pada dinding sel khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang memiliki kemampuan menstimulasi secara nonspesifik terhadap respon imun. Komponen tersebut mempunyai sebuah campuran unik dengan efektivitas dan intensitasnya sebagai suatu system pertahanan tubuh melalui aktivasi sel darah putih yang spesifik, seperti makrofage dan sel NK (*natural killer*) dan berfungsi

sebagai *trigger* untuk proses aktivasi makrofage, *Beta-D glukon* akan berikatan dengan permukaan sel.

Penggunaan kultur khamir *Saccharomyces cerevisiae* (*S.c.*) sebagai sumber probiotik pada usaha ternak unggas sangat menarik untuk diteliti, karena penggunaan probiotik dalam pakan akan dapat mengganti penggunaan antibiotik serta menghilangkan residu antibiotik yang tersisa dalam produk unggas (Bidura, 2012). *Saccharomyces cerevisiae* dimanfaatkan untuk meningkatkan kesehatan ternak yang berfungsi sebagai probiotik dan imunostimulan dalam bentuk *feed additive*. Keuntungan pemberian *Saccharomyces cerevisiae* sebagai probiotik yaitu menambah jumlah mikroba yang menguntungkan dan tidak membunuh mikroba, berbeda dengan antibiotik yang bisa membunuh baik mikroba yang merugikan maupun menguntungkan dan mempunyai efek resistensi. Demikian pula dengan penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai bahan imunostimulan, yang berfungsi untuk meningkatkan kesehatan tubuh dengan cara meningkatkan sistem pertahanan terhadap penyakit-penyakit yang disebabkan bakteri, jamur, virus dan lainnya, sedangkan penggunaan antibiotika hanya berfungsi untuk membunuh bakteri (Ahmad, 2005).

Kompiang (2002), menyatakan menggunakan khamir/ ragi laut dengan *Saccharomyces cerevisiae* di dalam pakan ayam, mendapatkan hasil yang baik yaitu meningkatnya bobot badan. Dan pemberian *Saccharomyces cerevisiae* 47 dengan dosis 200 g/100 kg pakan dapat meningkatkan penampilan karkas dan mengurangi bau amonia nitrogen pada feses ayam (Kumprechtova *et al.*, 2000). Hasil lain dari pemberian *S. cerevisiae* ialah meningkatkan penampilan bobot

ayam dan secara *in vitro* mampu menekan pertumbuhan *S. typhimurium* meski secara *in vivo* tidak memberikan hasil yang signifikan (Gholib *et al.*, 2003) .

2.5 Viabilitas

Pentingnya viabilitas probiotik, yaitu sebagai preparasi mikroba hidup yang bermanfaat bagi kesehatan inang, jumlah mikroorganisme hidup harus cukup untuk memberikan efek positif bagi kesehatan inang dan mampu berkolonisasi, sehingga dapat mencapai jumlah yang diperlukan selama waktu tertentu (Salminen *et al.*, 1998).

Kondisi yang mempengaruhi Viabilitas adalah :

1. Nutrisi

Kandungan nutrisi yang mencukupi sangat diperlukan untuk menjamin kelangsungan hidup bakteri, yang tentunya juga akan menunjang viabilitas bakteri tersebut. Beberapa nutrisi yang dibutuhkan antara lain karbon, nitrogen dan mineral. Setiap senyawa atau zat tersebut akan memiliki peran masing-masing dalam menunjang metabolisme dari bakteri tersebut.

1.1 Karbon

Unsur karbon merupakan salah satu unsur alam yang sangat penting dalam kehidupan, termasuk bagi bakteri. Kebutuhan karbon yang dipakai oleh bakteri umumnya berasal dari karbondioksida, karbon organik ataupun glukosa.

1.2 Nitrogen

Nitrogen juga merupakan unsur yang tidak kalah pentingnya bagi bakteri, bahkan nitrogen terdapat dalam jumlah besar dalam suatu bakteri. Nitrogen ini dimanfaatkan bakteri untuk berbagai keperluan sintesis protein.

1.3 Mineral

Sumber mineral utama bagi mikroorganisme adalah ion magnesium, kalsium, kalium, natrium dan juga besi. Mineral-mineral ini digunakan oleh mikroba untuk berbagai keperluan seperti untuk dijadikan koenzim, komponen dinding sel, menjaga keseimbangan ion dan lain-lain. Tanpa adanya asupan mineral yang cukup tentunya akan berakibat pada terganggunya metabolisme dari bakteri yang nantinya berakibat pada terhambatnya viabilitas bakteri (Brooks, 2008).

2. Lingkungan

Lingkungan merupakan salah satu factor lainnya yang dapat mempengaruhi viabilitas bakteri. Lingkungan sendiri terdiri atas berbagai aspek di dalamnya meliputi ketersediaan nutrisi, pH, temperature, tekanan osmotik, kekuatan ion dan media kultur yang digunakan.

2.1. pH

pH mempengaruhi viabilitas karena tidak semua organisme dapat hidup dalam semua pH. Setiap mikroba memiliki daya tahan terhadap pH yang berbeda. Pada umumnya pH optimum bagi sebagian besar mikroorganisme adalah sekitar 6,0-8,0 atau dikenal sebagai netralofil.

2.2 Temperatur

Temperatur juga memiliki peranan penting dalam mempengaruhi viabilitas tanpa adanya suhu yang tepat bagi suatu mikroorganisme tentunya hasil viabilitas juga akan terganggu. Setiap bakteri umumnya memiliki suhu atau temperatur optimum yang berbeda tergantung karakteristik masing-masing bakteri. Sebagian bakteri dapat tinggal di suhu yang sangat tinggi

disebut termofilik ($50-60^{\circ}\text{C}$), sebagian yang dapat tinggal pada suhu rendah ($15-20^{\circ}\text{C}$) disebut psikrofilik, sedangkan yang dapat tumbuh optimum pada suhu normal ($30-37^{\circ}\text{C}$) disebut mesofilik (Brooks, 2008).

2.3 Aktivitas Air

Jika aktivitas air dan kadar kelembapan yang tinggi akan menurunkan daya tahan probiotik. Interaksi antara aktivitas air dengan suhu dapat mempengaruhi kehidupan probiotik dan sediaan probiotik memiliki masa simpan yang lama pada bentuk kering ketika disimpan pada suhu kamar dengan kadar kelembabannya rendah (dibawah 0,2-0,3).

2.4 Tekanan Osmosis

Osmosis yaitu difusi melintasi semi-permiabel yang memisahkan antara dua macam larutan dengan konsentrasi solut yang berbeda, sehingga proses ini cenderung untuk menyamakan konsentrasi solut pada kedua sisi membran tersebut dan tekanan osmosis sangat erat hubungannya dengan kandungan air. Apabila mikroba diletakkan pada larutan hipertonis, maka sel akan mengalami plasmolisis atau terkelupasnya membran sitoplasma dari dinding sel akibat mengkerutnya sitoplasma.

Bakteri probiotik harus bisa bertahan menghadapi rintangan-rintangan dalam saluran pencernaan untuk dapat mencapai usus halus dalam keadaan tetap hidup, serta dalam jumlah yang cukup memadai untuk berkembang biak dan menyeimbangkan mikrobiota dalam usus. Jumlah mikroba hidup harus cukup untuk memberikan efek baik bagi kesehatan serta dapat berkolonisasi sehingga dapat

2.6 Biomassa Sel

Produk berupa biomassa sel dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak dalam upaya untuk memperbaiki nutrisi ternak (Hariyum, 1987). Selain itu Leroy de Vuyst (2001) menyatakan jumlah nutrisi yang ada pada medium pertumbuhan awal potensial untuk membentuk biomassa akhir. Sehingga perubahan ketersediaan nutrisi ini berpengaruh pada pertumbuhan dan produk biomassa. Fermentasi dalam produksi biomassa sel merupakan jenis fermentasi *Cell Mass Production*.

Kondisi fermentasi harus diusahakan sedemikian rupa sehingga asimilasi sel berjalan dalam kecepatan setinggi mungkin dan produksi hasil metabolisme dan hasil antara ditekan serendah-rendahnya. Di samping hasil sel dan efisiensi konversi bahan dasar menjadi sel, bahan dasar sumber karbon merupakan komponen terbesar dalam medium (Hariyum, 1987).

2.7 Uji pH

Pengukuran nilai pH dilakukan guna mengetahui tingkat keasaman atau kebasaan suatu media sebelum dan setelah fermentasi, berisi substrat yang diukur menggunakan pH meter. Menurut Sudarmadji *et al.*, (2003), prosedur kerja penentuan pH menggunakan pHmeter yaitu pertama siapkan masing-masing sampel media alami yang telah dimasukkan ke dalam gelas ukur, lalu alat pH meter dikalibrasi. Hasil pengamatan pada pH meter diketahui beberapa saat setelah pH meter dicelupkan, dengan melihat stabilitas pengukuran. Apabila angka pada pHmeter sudah stabil, catat pengukuran angka pH meter yang tertera pada layar pH meter.

Khamir dapat hidup pada rentang derajat keasaman yang luas (pH 3,0-8,0) dengan pH optimum antara 4,0-6,5. Axelsson (2004) menyatakan sebagian strain bakteri asam laktat mampu tumbuh pada pH 4,4 dan pertumbuhannya optimum pada pH 5,5-6,5. Menurut Irianingrum (2009) menyatakan bahwa secara umum bakteri ini tumbuh pada pH 4-6,8.

2.8 Medium Tumbuh Alami Alternatif Mikroorganism

2.8.1 Limbah Cair Tahu

Limbah cair tahu atau *whey tofu*/WT adalah air buangan sisa proses penggumpalan tahu yang biasanya tidak dimanfaatkan. Limbah cair tahu berpotensi sebagai media pertumbuhan bakteri karena memiliki Kandungan nutrisi yang lengkap (Fatoni *et al.*, 2008). Budiarti (2008), menyatakan bahwa dalam 100 g air limbah tahu mengandung 2 g karbohidrat; 1,75 g protein; 1,25 g lemak; 0,001 g serat kasar dan 4,5g kalsium. Limbah cair tahu mempunyai kandungan protein, lemak dan karbohidrat yang masih cukup tinggi, jika senyawa organik tersebut diuraikan maka akan dihasilkan gas metan, karbon dioksida dan gas-gas lain (Raliby *et al.*, 2009).

Jika tidak dimanfaatkan dengan baik, limbah cair tahu dapat berpotensi merusak lingkungan (Darsono, 2007), hal ini akibat dari membusuknya senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam *whey* tahu, sedangkan penggunaannya masih sangat sedikit (Hariyadi, 2002).

2.8.2 Molases

Tetes tebu (molases) merupakan hasil samping proses pengolahan tebu dari pabrik gula. Hidayat *et al.*, (2006), hasil samping industri gula yaitu tetes tebu, mengandung senyawa nitrogen, unsur mikro, dan kandungan gula yang

cukup tinggi terutama kandungan sukrosa 30-40%, glukosa 4-9%, dan fruktosa 5-12% sehingga sangat cocok menjadi sumber karbon untuk fermentasi asam laktat, memiliki kandungan gula yang cukup tinggi yaitu sebesar 62%, menunjukkan bahwa tetes tebu yang digunakan mengandung gula yang tinggi.

2.8.3 Tepung Limbah Ikan

Limbah ikan yang dibuang biasanya yaitu jeroan, kulit, tulang, sirip, darah dan air sisa produksi. Menurut Hossain *et al.*, (2015), jeroan ikan mengandung 60,62% kadar air, 20% lipid, 14,01% protein, dan 4,75% kadar abu.

Di pasar, limbah ikan dibuang begitu saja sehingga menjadi tempat berkumpulnya mikroba dan menimbulkan bau tidak sedap atau busuk. Untuk menanggulangi limbah perikanan tersebut perlu upaya untuk memanfaatkan limbah menjadi lebih berguna dan tidak terus-menerus mencemari lingkungan.

2.8.4 Air Kelapa

Kelapa mempunyai nama ilmiah *Cocos nucifera*, merupakan salah satu jenis tumbuhan dari suku aren-arenan/ *Arecaceae* dan anggota tunggal dalam marga *Cocos*. Produksi buah kelapa rata-rata 15,5 milyar butir/tahun di Indonesia atau setara dengan 3,75 juta ton air, 3,02 juta ton kopra, 3,3 juta ton debu sabut, 1,8 juta ton serat sabut, dan 0,75 juta ton arang tempurung (Agustian *et al.*, 2003). Air kelapa ini mudah didapatkan dan sekarang air kelapa umumnya dibuang begitu saja bersama limbah rumah tangga lainnya.

Kelapa juga merupakan tanaman perkebunan dan industri berupa pohon batang lurus dari famili *Palmae* mengandung elektrolit tinggi sehingga termasuk minuman isotonik alami (Bogadenta, 2013). Air kelapa juga memiliki kandungan

klorida (1.830 mg/l), magnesium (262 mg/l), mangan (49 ppm), sulfur (35,4 ppm) (Barlina, 2004).

Tabel 1. Nilai Nutrisi Air Kelapa Menurut Data Nutrisi *United States Department of Agriculture (USDA)*

Nilai nutrisi Air Kelapa per 100 g (3,5 oz)			
Kandungan Nutrisi	Jumlah	Kandungan Nutrisi	Jumlah
Energi	79 kJ (19 kcal)	Asam Pantotenat (B5)	0.043 mg (1%)
Karbohidrat	3.71 g	Vitamin B6	0.032 mg (2%)
Gula	2.61 g	Folat (Vit. B9)	3 µg (1%)
Serat pangan	1.1 g	Vitamin C	2.4 mg (4%)
Lemak	0.2 g	Vitamin E	0 mg (0%)
Protein	0.72 g	Vitamin K	0 µg (0%)
Air	94.99 g	Kalsium	24 mg (2%)
Vitamin A equiv.	0 µg (0%)	Besi	0.29 mg (2%)
Beta-Karotena	0 µg (0%)	Magnesium	25 mg (7%)
Lutein dan zeaxanthin	0 µg	Fosfor	20 mg (3%)
Tiamina (Vit. B1)	0.03 mg (2%)	Kalium	250 mg (5%)
Riboflavin (Vit. B2)	0.057 mg (4%)	Zink	0.1 mg (1%)
Niasin (Vit. B3)	0.08 mg (1%)	Water	94,99 g

Sumber : *United States Department of Agriculture, 2016*

Air kelapa kaya dengan nutrisi, seperti kalium, gula (1,7-2,6%), protein (0,07-0,55%). Air kelapa memiliki rasa manis dan empat jenis asam amino yaitu Alanin 312 mg/mL; Arginin 133 mg/ mL; serin 111 mg/mL dan Cystin 1,17 mg/mL. Simanihuruk (2013) menyatakan bahwa air kelapa memiliki kemampuan menghasilkan nata yang disebabkan oleh kandungan nutrisi yang kaya dan relatif lengkap serta sesuai dengan pertumbuhan bakteri. Yolanda (2011), menyatakan bahwa kandungan kandungan karbohidrat air kelapa tua adalah 0,2 g per 100 g, sehingga diketahui karbohidrat air kelapa tua lebih sedikit dibandingkan dengan kandungan karbohidrat air kelapa muda. Kandungan karbohidrat yang sangat sedikit ini diperkirakan tidak mempengaruhi proses peragian bakteri terhadap substrat karbohidrat tertentu yang sengaja ditambahkan.

2.8.5 Tepung Onggok

Pengolahan ubi kayu menjadi pati seperti onggok merupakan limbah yang berpotensi mencemari lingkungan jika penanganannya tidak baik. Kandungan nutrisi onggok adalah : energi (TDN) : 77,85 %, protein kasar (PK) : 6,90 %, ekstrak eter (EE) : 0,19 % serat kasar (SK) : 20,19 %, abu : 3,93 %, dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) : 68,69 %, masing-masing atas dasar bahan kering (Rizal, 2010).

Karbohidrat bukan satu-satunya nutrisi yang dibutuhkan golongan bakteri asam laktat. Azizah *et al.*, (2012) juga menambahkan dalam penelitiannya bahwa nutrisi utama yang diperlukan bakteri asam laktat adalah karbohidrat dan nitrogen (nitrogen organik dan anorganik). Bakteri asam laktat memanfaatkan karbohidrat sebagai sumber energi.

2.8.6 Tepung Limbah Udang

Limbah udang merupakan limbah pengupasan udang dari kepala dan kulit udang kemudian dapat digunakan sebagai bahan pakan alternatif, karena ketersediaannya cukup potensial. Di Indonesia dari 170 usaha pengolahan udang mempunyai kapasitas produksi sekitar 500.000 ton/tahun (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2005).

Limbah udang mempunyai kelebihan diantaranya tinggi protein, fosfor dan mineral yang baik untuk menunjang produksi telur (Muzzarelli *et al.*, 2000). Tepung kulit udang mempunyai kandungan protein yang tinggi dan baik yakni sebesar 38,25%, serat kasar 16,67% serta kalsium 5,75% dan fosfor 1,59% (Rosidasi *et al.*, 2011). Seluruh bagian dari tubuh udang terdiri dari ruas-ruas

terbungkus oleh kerangka luar (eksoskeleton) dari zat tanduk atau kitin dan diperkuat oleh bahan kapur kalsium karbonat (Soetomo, 1990).



III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat probiotik *Lactobacillus plantarum* N16 dan isolat ragi roti (*Saccharomyces cerevicea*) merk “fermipan”, medium MRS Broth (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*), PDA (*Potatose Dextrose Agar*), PDB (*Potatose Dextrose Broth*), limbah cair tahu, molases, tepung limbah ikan, air kelapa, tepung onggok, dan tepung limbah udang.

Peralatan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah cawan petri, vortex, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung *eppendorf*, erlenmeyer, gelas ukur, neraca analitik, *autoclave*, *hot-plate*, bunsen, *laminar air flow*, aluminium foil, spektrofotometer, gelas ukur, *beker glass*, *centrifuge*, pH meter, jarum ose, *incubator*, micropipet dan pipet tip.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor, yaitu faktor A (Rasio *Lactobacillus plantarum* N16 dengan *Saccharomyces cerevicea*) sebanyak 3 taraf dan faktor B (jenis media alami alternatif) sebanyak 3 taraf dengan 3 kali ulangan sebagai berikut :

1. Faktor Pertama (A) adalah Rasio Campuran *Lactobacillus plantarum* N16 dengan *Saccharomyces cerevicea*, yaitu :

A.1 : Rasio *Lactobacillus plantarum* N16 dengan *Saccharomyces cerevicea* 1:1

A.2 : Rasio *Lactobacillus plantarum* N16 dengan *Saccharomyces cerevicea* 1:2

A.3 : Rasio *Lactobacillus plantarum* N16 dengan *Saccharomyces cerevicea* 2:1

2. Faktor Kedua (B) adalah media alami alternatif yang terdiri dari 3 taraf, yaitu:

B.1 : media MRS-Broth (kontrol) 100 %

B.2 : limbah cair tahu (90%) + molases (5%) + tepung limbah ikan (5%)

B.3 : air kelapa (90%) + tepung onggok (5%) + tepung limbah udang (5%)

Tabel 2. Kombinasi Perlakuan Rasio Probiotik Campuran (*Lactobacillus plantarum* N16) dan *Saccharomyces cerevicea* pada Jenis Media Tumbuh Alami

Rasio <i>Lactobacillus plantarum</i> N16 dan <i>Saccharomyces cerevicea</i>	(Jenis Media Tumbuh Alami)		
	B ₁	B ₂	B ₃
A ₁ (1:1)	A ₁ B ₁ (P1)	A ₁ B ₂ (P4)	A ₁ B ₃ (P7)
A ₂ (1:2)	A ₂ B ₁ (P2)	A ₂ B ₂ (P5)	A ₂ B ₃ (P8)
A ₃ (2:1)	A ₃ B ₁ (P3)	A ₃ B ₂ (P6)	A ₃ B ₃ (P9)

Keterangan :

A : Gabungan Isolat *Lactobacillus plantarum* N16 dengan *Saccharomyces cerevicea*

B : Inokulum (Media Tumbuh Alamai Alternatif)

P : Perlakuan

Model matematika rancangan acak lengkap pada faktorial adalah

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = Nilai pengamatan terhadap perlakuan Rasio Probiotik Campuran (*Lactobacillus plantarum* N16) dan *Saccharomyces cerevicea* pada Jenis Media Tumbuh Alami ke-j pada ulangan ke-k.

μ = Nilai rata-rata (peubah yang diukur)

A_i = Rasio Probiotik Campuran (*Lactobacillus plantarum* N16) dan *Saccharomyces cerevicea* ke-i terhadap peubah yang di amati.

B_j = Pengaruh Jenis Media Tumbuh Alami ke-j terhadap peubah yang di amati.

- $(\alpha\beta)_{ij}$ = Pengaruh interaksi Antara Rasio Probiotik Campuran (*Lactobacillus plantarum* N16) dan *Saccharomyces cerevicea* ke-I Jenis Media Tumbuh Alami ke-j terhadap peubah yang di amati.
- ϵ_{ijk} = Pengaruh efek sisa / galat percobaan pada satuan percobaan ulangan ke-k, dari perlakuan ke-I dan waktu pemberian ke-j.
- i = Perlakuan faktor A (1, 2, 3).
- J = Perlakuan faktor B (1, 2, 3).
- K = Ulangan ke (1, 2, 3).

3.2.2 Pelaksanaan Penelitian

Semua peralatan dan media yang digunakan disterilisasi dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Isolat *Lactobacillus plantarum* N16 (Septiani, 2019) dan ragi roti fermipan (*Saccharomyces cerevicea*), diremajakan secara terpisah, berikut langkah-langkahnya :

a. Peremajaan Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)

Sebanyak 7.8 gram MRS-B (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*) dilarutkan ke dalam 150 ml aquades. Selanjutnya dipanaskan di atas *hot plate* dan diaduk sampai homogen. Kemudian lakukan sterilisasi dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Lalu ambil isolat *Lactobacillus plantarum* N16 sebanyak 1 ml dengan menggunakan mikropipet dan masukkan ke dalam 10 ml MRS Broth dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37° C.

b. Peremajaan Isolat Ragi (*Yeast*)

Ambil 2,4 gram PDB (*Potatose Dextrose Broth*) dilarutkan ke dalam 100 ml aquades, kemudian dipanaskan diatas *hot plate* sambil diaduk sampai homogen. Lakukan sterilisasi dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sebanyak 0,2 gram ragi roti ditimbang dan dimasukkan ke dalam larutan PDB steril. Kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24-48 jam.

3.2.3 Penggabungan *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* (Probiotik Campuran)

Penggabungan antara isolat *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* (campuran) berdasarkan hasil hitung TPC (*Total Plate Count*), akan dibagi menjadi tiga rasio yaitu 1:1, 1:2 dan 2:1. Kemudian dibiakkan pada media MRS-B (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*) yang diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Perbandingan penggabungan isolat *Lactobacillus plantarum* N16 dan Ragi (*Saccharomyces cerevicea*) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan Rasio Probiotik Campuran (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccaromces cerevisae*)

No.	Isolat	Keterangan
1.	(<i>L. plantarum</i> N16) : (<i>S.cerevicea</i>)	1:1
2.	(<i>L. plantarum</i> N16) : (<i>S.cerevicea</i>)	1:2
3.	(<i>L. plantarum</i> N16) : (<i>S.cerevicea</i>)	2:1

Kemudian dilakukan pengujian menggunakan spektrofotometer untuk melihat daya hidup awal (viabilitas). Kemudian dilakukan pengukuran OD (*Optical Density*) dengan melihat absorbansi pada panjang gelombang 600 nm. Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan.

3.2.4 Inokulasi Pada Medium Alami

Hasil penggabungan *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccaromces cerevisae* (starter) pada tahap sebelumnya akan ditumbuhkan pada media alami alternatif sebanyak 5 %. Sebelumnya masing-masng media telah di uji pH awalnya menggunakan pHmeter. Media alami tersebut diantaranya yaitu MRS-B (sebagai kontrol), media A (limbah cair tahu + molases + tepung limbah ikan), dan media B (air kelapa + tepung onggok + tepung limbah udang). Berikut komposisi media tumbuh yang akan digunakan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Media Tumbuh Alami Alternatif

Nama	Medium	Uraian	Komposisi (%)
A	Kontrol	MRS-B	100
B	Alami I	Limbah Cair Tahu	90
		Molases	5
		Tepung Limbah Ikan	5
C	Alami II	Air Kelapa	90
		Tepung Onggok	5
		Tepung Limbah Udang	5

Bahan-bahan yang tertera di Tabel 4, ditimbang sesuai dengan ukuran, kemudian dilarutkan. Media dipanaskan hingga mendidih lalu dipindahkan kedalam erlenmeyer. Media dimasukkan kedalam *outoclave* untuk dilakukan sterilisasi selama 15 menit pada suhu 121°C. Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan.

3.3 Peubah yang diukur

Peubah yang akan diukur dalam penelitian ini, yaitu:

1. pH Akhir
2. Nilai Viabilitas
3. Biomassa Sel

3.3.1 Uji pH

Pengukuran pH dilakukan sebagai uji tingkat keasaman atau kebasaaan media fermentasi berisi substrat dengan menggunakan pH meter. Nashihara *et al.*, (2009), sebelum menggunakan pH meter, dilakukan standarisasi *pH meter* langkah pertama, lalu nyalakan pH meter, kemudian dibilas denagan elektrod *aaquades*, terakhir keringkan menggunakan kertas *tissue*. Mengeringkan elektroda pH meter cukup dengan menempelkan kertas tissue pada bagian pinggir

dan ujung elektroda, elektroda yang tergores, validasi keakuratannya bisa berubah untuk itu perlu dikalibrasi ulang.

pH diukur menggunakan pedoman berdasarkan prosedur kerja menurut Sudarmadji *et al.*, (2003) yaitu siapkan masing-masing sampel media alami yang telah dimasukkan ke dalam gelas ukur, lalu alat pH meter dikalibrasi. Pada pH meter didapatkan nilai pH beberapa saat setelah pH meter dicelupkan, dengan melihat stabilitas pengukuran. Jika angka yang tertera tidak berubah lagi/ sudah stabil maka ditulis pengukurannya. Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan.

3.3.2 Nilai Viabilitas

Dilakukan uji viabilitas sebelum dan setelah penggabungan *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccaromces cerevisiae* pada media alami untuk memastikan pertumbuhan keduanya, dengan metode tuang (plate count) dengan beberapa seri pengenceran. Sebanyak 1 ml hasil pengenceran ditanam dalam cawan petri steril dan di tuang media MRS agar di atasnya, digoyang-goyang sampai merata dan selanjutnya di inkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

Setelah diinkubasi awal selama 24 jam dengan suhu 37⁰C, penggabungan *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccaromces cerevisiae* pada media alami dilakukan uji viabilitas dengan metode pengukuran OD (*Optical Density*) menggunakan spektrofotometer dengan melihat absorbansi pada panjang gelombang 600 nm menggunakan spektrofotometer. Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan.

3.3.3 Biomassa Sel

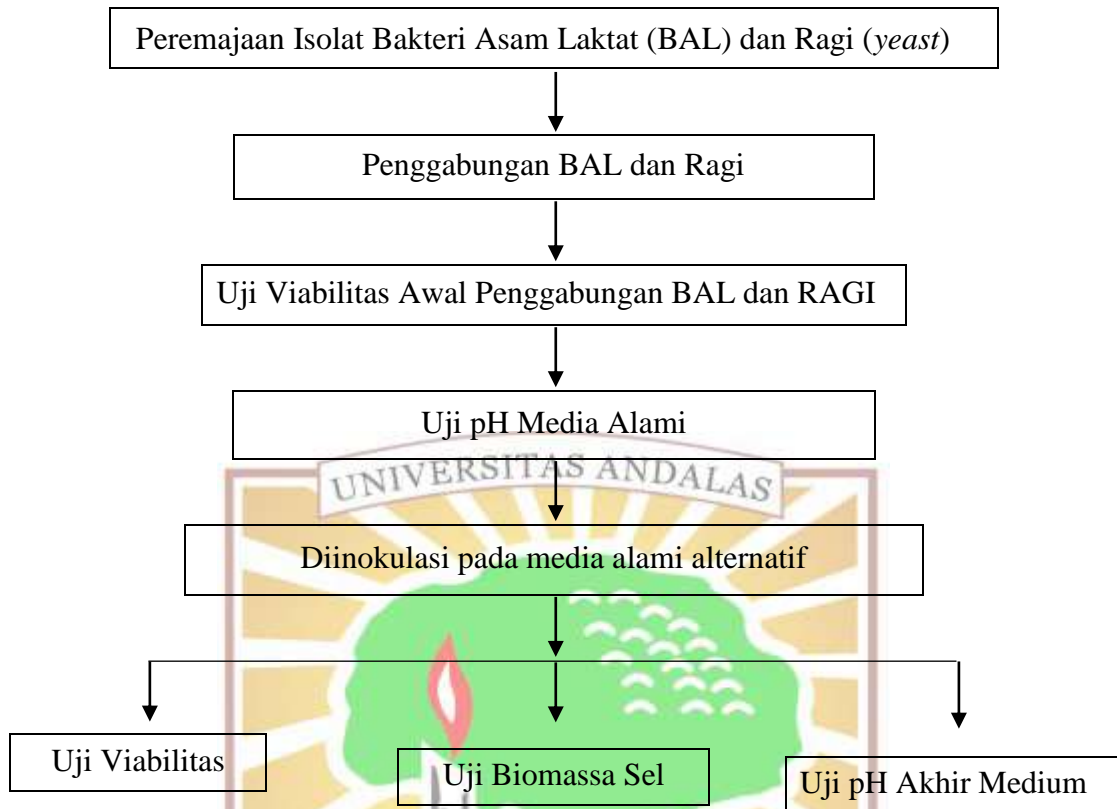
Biomassa sel diukur berdasarkan berat endapan dalam supernatan. Sentrifugasi dilakukan dua kali. Pertama, bertujuan untuk membuang endapan media, yaitu masing-masing sampel sebanyak 10 ml dalam tabung cup di *centrifuge* dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit, dilakukan dengan tiga kali ulangan. Kedua, bertujuan untuk memisahkan bakteri dengan media, yaitu masing-masing sampel sebanyak 2 ml sampel dimasukkan dalam tabung eppendorf yang sebelumnya telah ditimbang berat kosongnya, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dibuang dan endapan (pelet) yang tersisa ditimbang untuk mengetahui berat basahnya. Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan. Berat sel (x) dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$X \text{ (mg/ml)} = \frac{\text{Berat tabung berisi sel basah (mg)} - \text{berat tabung kosong (mg)}}{\text{Volume sampel (ml)}}$$

3.4 Analisis Data Menggunakan SPSS 26

Data hasil penelitian ini dimasukkan ke SPSS 26.0. Selanjutnya data tersebut dianalisis menggunakan uji secara *two ways ANOVA (Analysis of Variance)* $\alpha = 0,05$ untuk mencari pengaruh viabilitas, pH, dan biomassa sel dari pengabungan bakteri asam laktat dan ragi dalam mediatumbuh alami. Dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* 5 % apabila terdapat pengaruh viabilitas, pH akhir, dan biomassa sel dari pengabungan bakteri asam laktat dan ragi yang menghasilkan hasil terbaik.

3.5 Skema Penelitian



Gambar 2. Skema Penelitian

3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 2 Maret hingga 18 September 2020 di Laboratorium Teknologi Industri Pakan Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang dan Laboratorium Uji Mutu dan Analisa Politani Payakumbuh.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai Pengaruh Rasio *Lactobacillus plantarum* N16 dengan *Saccharomyces cerevicea* Pada Jenis Media dan Terhadap Viabilitas, Biomassa Sel dan Penurunan pH Medium, didapatkan hasil sebagai berikut:

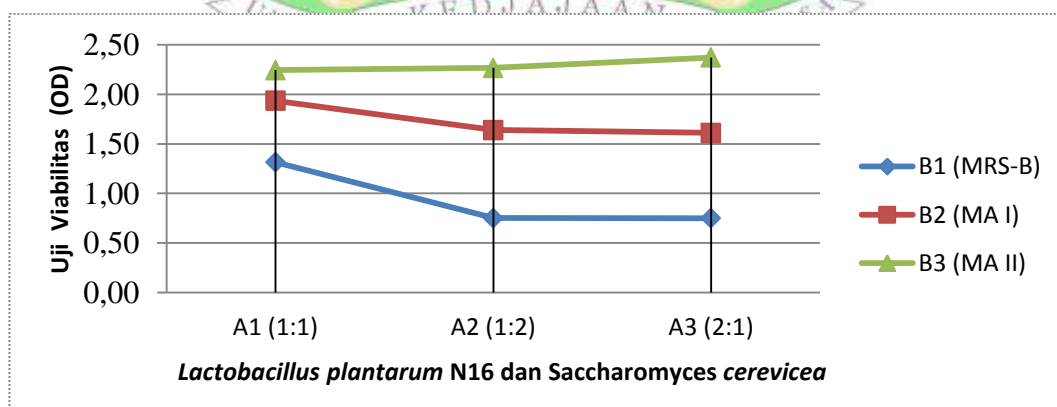
4.1 Viabilitas Probiotik Campuran

Hasil pengamatan terhadap parameter nilai Viabilitas, rasio campuran probiotik *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* pada jenis media tumbuh alami dapat dilihat pada Tabel 7 dan gambar 5.

Tabel 5. Rataan Nilai Viabilitas probiotik campuran (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea*) pada jenis media tumbuh

Rasio campuran probiotik	Jenis Media Tumbuh			Rata-Rata (A)
	B1 (Kontrol)	B2 (Media 1)	B3 (Media 2)	
A1 (1:1)	1,32 ^c	1,94 ^b	2,24 ^a	1,83
A2 (1:2)	0,75 ^d	1,64 ^c	2,27 ^a	1,55
A3 (2:1)	0,75 ^d	1,61 ^c	2,37 ^a	1,58
Rata-Rata (B)	0,94	1,73	2,29	

Keterangan: superskrip yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)



Gambar 3. Grafik Nilai Viabilitas probiotik campuran (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea*) pada jenis media tumbuh

Berdasarkan hasil analisis keragaman dan statistik (Lampiran 1), menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara faktor A (rasio probiotik campuran) dan faktor B (jenis media tumbuh) memperlihatkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap nilai viabilitas.

Berdasarkan uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa perlakuan A3B3 (2,37), tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) terhadap perlakuan A2B3 (2,27) dan A1B3 (2,24) tetapi lebih tinggi dan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap semua perlakuan, terutama terhadap perlakuan A3B1 (0,75) dan A2B1 (0,75) yang lebih rendah dari perlakuan lainnya. Perlakuan A1B2 (1,94) berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A2B2 (1,64), A3B2 (1,61) dan A1B1 (1,32). A1B1 (1,32) berbeda nyata terhadap perlakuan perlakuan (0,75) dan A3B1 (0,75).

Pada perlakuan A3B3, merupakan interaksi antara rasio probiotik campuran 2:1 dengan media B3 menghasilkan viabilitas lebih tinggi dari seluruh perlakuan sebesar 2,37. Namun, rasio campuran probiotik (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea*) yang berbeda pada media B3 tidak memberi pengaruh berbeda nyata terhadap nilai viabilitas.

Kestabilan nilai viabilitas campuran probiotik diduga dipengaruhi oleh kandungan nilai nutrisi pada media B3, yang memiliki sumber karbon yang melimpah akibat kombinasi dari limbah air kelapa dan limbah tepung onggok. Sedangkan pada media B2 (alami 1), sehingga diduga terjadi kelebihan unsur nitrogen (N) akibat kombinasi dari limbah *whey tofu* dan tepung limbah ikan. Menurut (Ferdaus *et al.*, 2008), seiring berjalannya waktu fermentasi, konsumsi glukosa oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* N16 meningkat, sehingga glukosa yang ada pada media fermentasi akan semakin berkurang. Kadar glukosa yang

terkandung dalam media hasil fermentasi berhubungan erat dengan jumlah bakteri yang terdapat dalam media fermentasi. Glukosa yang terkandung dalam media fermentasi, akan diubah menjadi asam laktat oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* N16.

Dalam hal ini dapat dilihat bahwa semakin tinggi substrat maka semakin banyak nutrisi yang dapat dimanfaatkan *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* dalam pertumbuhan menghasilkan asam laktat, namun konsentrasi substrat yang tinggi akan menyebabkan dehidrasi sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhannya. Hal ini terjadi antara rasio probiotik campuran pada perlakuan media tumbuh B2 terhadap nilai viabilitas. Jika rasio karbon terhadap nitrogen lebih besar (sedangkan jumlah unsur nitrogen sedikit), maka unsur nitrogen akan menjadi faktor pembatas dalam metabolisme bakteri *Lactobacillus plantarum* N16. Hal ini akan menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* N16 (Wulan *et al.*, 2006).

Media alami yang terdapat pada penelitian ini berupa limbah air tahu (*whey tofu*) sebagai sumber nitrogen kaya akan protein nabati, sama halnya dengan limbah tepung udang dan ikan sebagai sumber nitrogen hewani. Sedangkan sumber karbon yang digunakan berupa limbah air kelapa, molases dan limbah tepung onggok.

Campuran probiotik *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* membuktikan bahwa dapat tumbuh bersama dengan baik secara mutualisme pada seluruh jenis media. Dimana *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* bersifat amilolitik yang mampu memecah glukosa menjadi karbohidrat dan mempunyai potensi terhadap produk-produk berbahan

pati. *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu species dari bakteri asam laktat (BAL), bersifat amilolitik yang secara langsung akan merubah pati menjadi asam laktat, digunakan sebagai starter pada proses fermentasi yang berperan dalam peningkatan produksi asam laktat (Reddy *et al.*, 2008). *Saccharomyces cerevicea* adalah khamir amilolitik yang memiliki potensi penting dalam produk-produk berbahan pati (Rose *et al.*, 1993), disebabkan aktivitas enzim amilase terutama isoamilase yang bisa menghidrolisa ikatan $\alpha(1,6)$ - pada amilopektin (Van der Maarel *et al.*, 2002). Menurut Fleet (2006), khamir *Saccharomyces cerevicea* menghasilkan enzim ekstraseluler amilase dan protease selama proses fermentasi, kemudian enzim α -amylase, yang terdapat dalam pati melakukan amilolisis atau degradasi pati sempurna dan segera menjadi maltosa dan maltotriosa.

Menurut Sofyan *et al.*, (2011), inokulan *L. plantarum* memiliki kemampuan untuk tumbuh bersama *S. cerevisiae*, penggunaan kombinasi kedua inokulan dapat meningkatkan kualitas fermentasi. Penambahan inokulan *S. cerevisiae* dapat mendukung pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* N16 (Hippen *et al.*, 2010). Putri *et al.*, (2008), dengan adanya *Lactobacillus plantarum* N16 selama proses fermentasi yang dapat memproduksi asam laktat sehingga dapat menghasilkan kondisi asam pada medium fermentasi.

Gloria *et al.*, (2003) juga menyatakan bahwa dengan menurunnya pH dan meningkatnya keasaman pada fermentasi spontan sereal (kombinasi antara *Lactobacilus* dan *S. cereviceae*) maka jumlah khamir meningkatkan. Dengan turunnya pH, diprediksi khamir mampu tumbuh lebih baik. Sesuai dengan

pernyataan Bennett *et al.*, (1999), bahwa khamir umumnya lebih menyukai kondisi asam untuk pertumbuhannya dan tidak tumbuh baik pada medium alkali.

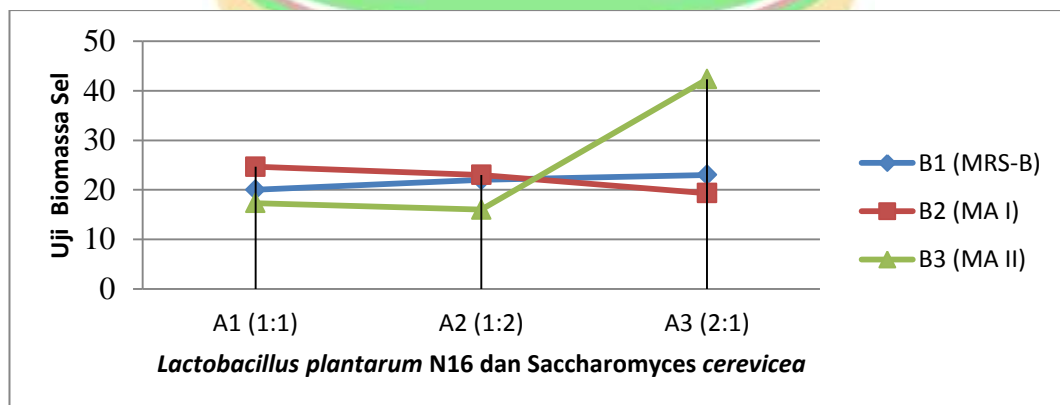
4.2 Biomassa Sel Probiotik Campuran

Berdasarkan hasil analisis keragaman dan statistik (Lampiran 2), menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara faktor A (rasio probiotik campuran) dan faktor B (jenis media tumbuh) memperlihatkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap nilai biomassa sel. Sebagaimana terdapat pada Tabel 6 dan Gambar 4.

Tabel 6. Rataan nilai biomassa sel (mg/ml) probiotik campuran (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea*) pada jenis media tumbuh

Rasio campuran probiotik	Jenis Media Tumbuh			Rata-Rata (A)
	B1 (Kontrol)	B2 (M1)	B3 (M2)	
A1 (1:1)	20,00 ^b	24,67 ^b	17,33 ^b	20,67
A2 (1:2)	22,00 ^b	23,00 ^b	16,00 ^b	20,33
A3 (2:1)	23,00 ^b	19,33 ^b	42,33 ^a	28,22
Rata-Rata (B)	21,67	22,33	25,22	69,22

Keterangan: superskrip yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).



Gambar 4. Grafik Nilai Biomassa Sel (mg/ml) probiotik campuran (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea*) pada jenis media tumbuh

Berdasarkan uji lanjut DMRT, menunjukkan bahwa perlakuan A3B3 (42,33) lebih tinggi dan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0.01$)

dibandingkan seluruh perlakuan terhadap nilai biomassa sel (mg/ml). Sedangkan antar perlakuan A1B2 (24,67), A3B1 (23), A2B2 (23), A2B1 (22), A1B1 (20), A3B2 (19,33) A1B3 (17,33) dan A2B3 (16) memberikan pengaruh tidak berbeda nyata ($P>0.01$).

Secara angka pada Tabel 6. A3B3 merupakan probiotik campuran *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* dengan rasio 2:1 pada media tumbuh B3 memperoleh nilai lebih tinggi yaitu 42,33 mg/ml memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap nilai biomassa sel. Hal ini diduga terjadi akibat penaruh dari kandungan nutrisi media B3. Leroy de Vuyst (2001) menyatakan bahwa jumlah nutrien yang ada pada medium pertumbuhan awal potensial untuk membentuk biomassa akhir. Sehingga perubahan ketersediaan nutrien ini berpengaruh pada pertumbuhan dan produk biomasa. Hariyum (1987) menambahkan, bahan dasar sumber karbon merupakan komponen terbesar dalam medium serta produk berupa biomassa sel.

Perlakuan jenis media B3 yang terdiri dari kombinasi limbah air kelapa, limbah tepung onggok dan limbah tepung udang memberikan nilai biomassa sel tertinggi dari campuran probiotik rasio 2:1. Secara umum substrat dimanfaatkan mikroorganisme untuk pertumbuhan biomassa, pemeliharaan sel, dan membentuk asam organik sebagai produk (Yuliana, 2008).

Menurut *United States Department of Agriculture* (USDA) (2016), dalam 100 gr air kelapa memiliki kandungan elektrolit antara lain kalium (250 mg), fosfor (20 mg), zat besi (0,29 mg), zink (0,1 mg) dan air (94,99 g), serta karbohidrat (3.71 g), gula (2.61 g), protein (0.72 g), vitamin C (2.4 mg), Vitamin B6 (0.032 mg), Asam Pantotenat (0.043 mg), Folat (3 μ g), Tiamina/ Vit. B1 (0.03

mg). Pada limbah tepung onggok memiliki kandungan nutrisi: energi (TDN) : 77,85 %, protein kasar (PK) : 6,90 %, ekstrak eter (EE) : 0,19 % serat kasar (SK) : 20,19 %, abu : 3,93 %, dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) : 68,69 %, masing-masing atas dasar bahan kering (Rizal, 2010). Dan tepung kulit udang mempunyai kandungan protein yang tinggi yaitu sebesar 38,25%, kalsium 5,75% serta serat kasar 16,67% dan fosfor 1,59% (Rosidasi *et al.*, 2011).

Bakteri *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* akan memanfaatkan gula untuk dimetabolisme menjadi asam - asam organik, salah satunya adalah asam laktat. Berdasarkan hal tersebut, semakin tinggi jumlah bakteri yang dapat melakukan metabolisme gula yang terdapat pada produk, maka semakin tinggi juga asam-asam organik pada produk hasil fermentasi.

Terlebih dahulu sukrosa akan dipecah menjadi fruktosa dan glukosa, selanjutnya glukosa akan digunakan oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* sebagai sumber energi dan sebagian akan dimetabolisme menjadi asam-asam organik terutama asam laktat (Kusuma *et al.*, 2016). Semakin banyak jumlah biomassa yang tumbuh maka semakin banyak gula yang dimanfaatkan oleh bakteri *Lactobacillus* dan dipecah menjadi asam laktat dan energi.

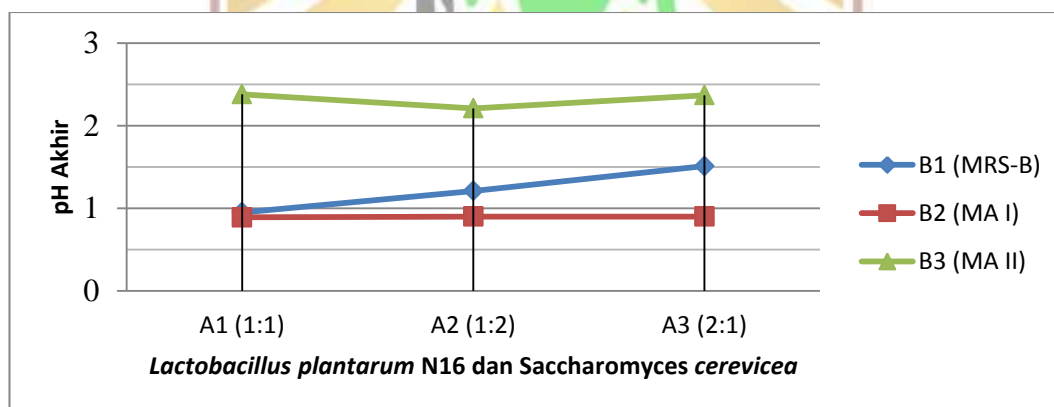
4.3 Nilai pH Akhir Medium

Hasil pengamatan terhadap parameter nilai pH Akhir, *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* pada jenis media tumbuh alami dapat dilihat pada Tabel 7 dan gambar 5.

Tabel 7. Rataan Nilai pH Akhir probiotik campuran (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea*) pada jenis media tumbuh

Rasio campuran probiotik	Jenis Media Tumbuh			Rata-Rata (A)
	B1 (Kontrol)	B2 (M1)	B3 (M2)	
A1 (1:1)	0,95 ^e	0,89 ^e	2,38 ^a	1,40
A2 (1:2)	1,21 ^d	0,90 ^e	2,21 ^b	1,44
A3 (2:1)	1,51 ^c	0,90 ^e	2,37 ^a	1,59
Rata-Rata (B)	1,22	0,89	2,32	

Keterangan: superskrip yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).



Gambar 5. Grafik Nilai pH Akhir Medium probiotik campuran (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea*) pada jenis media tumbuh

Hasil analisis keragaman dan statistik (Lampiran 3) menunjukkan bahwa terjadi interaksi antara faktor A (rasio probiotik campuran) dan faktor B (jenis media) memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap nilai pH Akhir Medium. Berdasarkan uji DMRT, memperlihatkan bahwa hasil tertinggi

adalah perlakuan A1B3 (2,38) dan tidak berbeda nyata terhadap ($P>0.05$) perlakuan A3B3 (2,37), dan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$) terhadap perlakuan lainnya, terutama terhadap perlakuan A1B1 (0,95), A2B2 (0,90), A3B2 (0,90) dan A1B3 (0,89). Perlakuan A2B3 (2,21) memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$) terhadap A3B1 (1,51). Begitu juga perlakuan A3B1 (1,51) memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0.01$) terhadap A2B1 (1,21).

Nilai pH media sebelumnya yaitu B1 (5,91), B2 (5,20), B3 (8,20), dan setelah penggabungan dari *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* dengan beberapa rasio perbandingan, nilai pH media cenderung menjadi lebih asam terhadap semua perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa rasio campuran probiotik *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* pada jenis media berpengaruh sangat nyata terhadap nilai pH akhir medium.

Pada Tabel 7. menunjukkan bahwa rasio campuran probiotik pada media B3, pada perlakuan A1B3 terhadap perlakuan A3B3 memberikan pengaruh tidak berbeda nyata terhadap nilai pH Akhir Medium. Namun lebih tinggi serta berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A2B3 dan terhadap perlakuan lainnya. Rasio campuran probiotik pada media B1 memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap nilai pH Akhir Medium, namun rasio campuran probiotik pada media B2 tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap nilai pH Akhir Medium. Hal ini diduga dipengaruhi oleh kondisi pH pada media B2 menjaga kestabilan pH akhir media namun media B3 menghasilkan pH Akhir yang lebih tinggi dan cenderung lebih baik dibandingkan media B2.

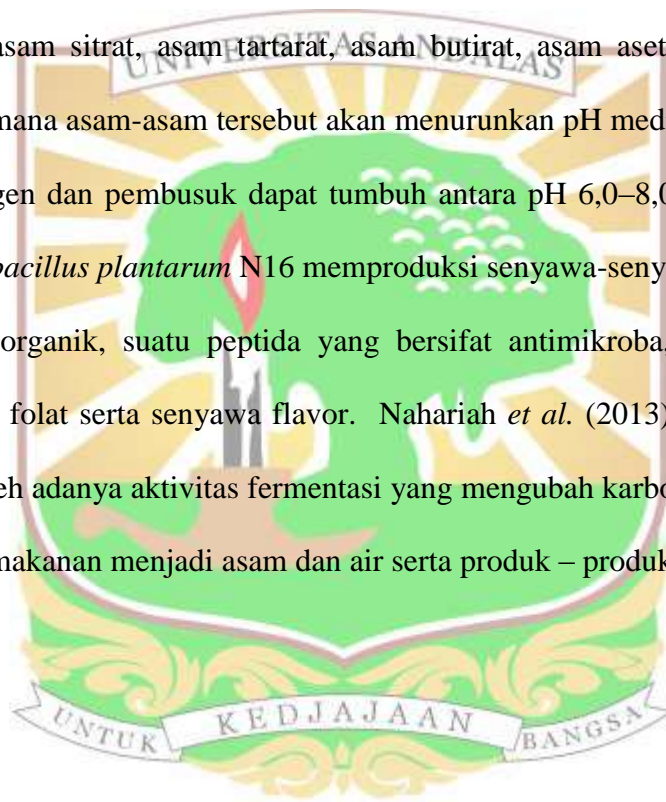
pH medium mengalami penurunan nilai pH terjadi pada seluruh perlakuan dengan adanya aktivitas dari *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea*. Hal ini terjadi diduga karena bakteri *Lactobacillus plantarum* N16 dengan *Saccharomyces cerevicea* saling tergantung secara menguntungkan/ simbiosis mutualisme mempercepat fermentasi dan akan menghasilkan pH lebih rendah serta kadar asam laktat yang lebih tinggi (*L. plantarum* N16 butuh autolisat *S. cerevicea* untuk tumbuh sedangkan *S. cerevicea* membutuhkan pH rendah dalam melakukan aktivitas metabolismenya). *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* pada biakan gabungan saling tergantung secara menguntungkan, menurunkan pH dengan cepat dari perubahan gula menjadi asam laktat dan karena adanya senyawa metabolisme yang mengubah senyawa gula menjadi beberapa asam organik (Handayani *et.al.*, 2006).

Senyawa yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* N16 diantaranya adalah asam organik, berbagai jenis vitamin, suatu peptida yang bersifat antimikroba, asam folat serta senyawa flavor. Kemampuan produksi asam dari *Lactobacillus plantarum* N16 berperan penting dalam aktivitas antimikroba oleh adanya produksi asam-asam seperti asam laktat dan asam piruvat hasil fermentasi gula. Leroy De Vuyst (2001), menyatakan bahwa bakteri ini akan memulai proses pengasaman secara pesat pada bahan baku dengan memproduksi asam laktat.

Proses penurunan nilai pH pada media tumbuh alami juga disebabkan oleh terbebasnya ion hidrogen (H^+) akibat perombakan laktosa menjadi glukosa sehingga menghasilkan asam laktat yang meningkatkan keasaman. Febriningrum (2013), nilai pH dalam suatu larutan menunjukkan jumlah konsentrasi H^+ . Semakin tingginya nilai pH pada suatu larutan tertentu, maka semakin sedikit juga

ion H^+ yang terkandung dalam larutan tersebut, sebaliknya jika semakin rendah nilai pH maka jumlah ion H^+ akan semakin tinggi.

Menurut Winarno (2000), asam laktat yang diproduksi selama proses fermentasi bisa meningkatkan citarasa dan menurunkan pHnya atau meningkatkan keasaman. Sugiharto (1991), perubahan pH dalam fermentasi disebabkan karena dalam aktivitasnya sel *Saccharomyces cerevicea* yang menghasilkan etanol sebagai metabolit primer dan juga menghasilkan asam-asam seperti asam laktat, asam malat, asam sitrat, asam tartarat, asam butirat, asam asetat sebagai hasil sampingan dimana asam-asam tersebut akan menurunkan pH medium. Umumnya mikroba patogen dan pembusuk dapat tumbuh antara pH 6,0–8,0 (Buckle *et al.*, 2007). *Lactobacillus plantarum* N16 memproduksi senyawa-senyawa diantaranya seperti asam organik, suatu peptida yang bersifat antimikroba, berbagai jenis vitamin, asam folat serta senyawa flavor. Nahariah *et al.* (2013), penurunan pH disebabkan oleh adanya aktivitas fermentasi yang mengubah karbohidrat atau gula dalam bahan makanan menjadi asam dan air serta produk – produk akhir lainnya.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

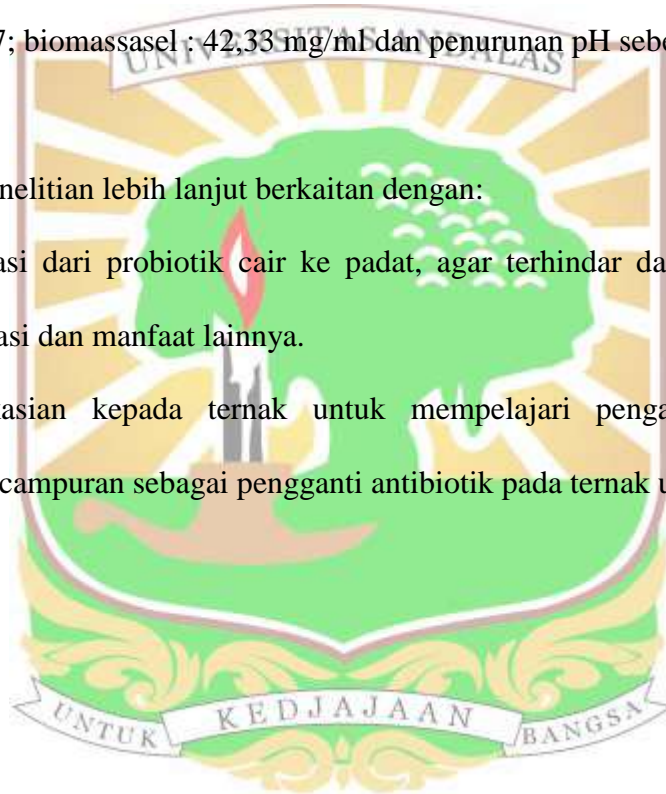
5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa rasio campuran *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* 2:1 dan menggunakan medium limbah air kelapa, tepung onggok dan tepung limbah udang, yang diinkubasi pada inkubator selama 24 jam pada suhu 37⁰C memiliki viabilitas :2,37; biomassasel : 42,33 mg/ml dan penurunan pH sebesar: 2,37.

5.2. Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut berkaitan dengan:

1. Enkapsulasi dari probiotik cair ke padat, agar terhindar dari kemungkinan kontaminasi dan manfaat lainnya.
2. Pengaplikasian kepada ternak untuk mempelajari pengaruh pemberian probiotik campuran sebagai pengganti antibiotik pada ternak unggas.



DAFTAR PUSTAKA

- Agustian, A., S. Friyatno, Supadi dan A. Askin. 2003. Analisis Pengembangan Agroindustri Komoditas Perkebunan Rakyat (Kopi dan Kelapa) dalam Mendukung Peningkatan Daya Saing Sektor Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Sosial Ekonomi Pertanian Bogor. Bogor.
- Ahmad, R. Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk Ternak. *Wartazoa* Vol. 15 (1) : 49-55. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Anggraini L, Marlida Y, Wizna W, Jamsari J dan Mirzah M. 2019. Optimalisasi Gizi Sedang untuk *Pediococcus acidilactici* DS15 untuk Menghasilkan GABA. *J.Dunia anak ayam. Res.*, 9 (3) : 139-146.
- Ariesta, R. 2013. Jumlah Bakteri Pada Media Nutrient Agar Dengan Pematik Swallow Globe Putih Dan Bacto –Agar Dengan Variasi Konsentrasi Pada Metode Tuang. Program Studi DIII Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Astuti. F. K, Busono. W , Sjojfan. O. 2015. Pengaruh Penambahan Probiotik Cair Dalam Pakan. Program Magister Ilmu Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang. *J-PAL*, Vol. 6, No. 2.
- Atlas, Ronald M. (2004). *Handbook of Microbiological Media* fourth Edition Volume 1. United States Of America: CRC Press.
- Axelsson, L. T. 2004. Lactic acid bacteria classification and physiology. *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional and Prebiotic*. 5(3) : 149-156.
- Azizah, N., A.N. Al-Baarri dan S. Mulyani., 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*. Vol.1(2): 72-77.
- Barlina, R. 2004. Potensi Buah Kelapa Muda Untuk Kesehatan dan Pengolahannya. *Jurnal Perspektif* Volume 3, Nomor 2, Desember 2004: halaman 46-60. Litbang Pertanian. Diakses 22 Juni 2021. litbang.pertanian.go.id/index.php/psp/article/viewFile/5583/4758.
- Bennett. A, R. I. Rowe, N. Soch, and C. D. Eckhert1. 1999. Boron Stimulates Yeast (*Saccharomyces cereviceae*) Growth. Department of Environmental Health Sciences, University of California, Los Angeles.
- Bidura, I.G.N.G. 2012. Isolasi, identifikasi dan uji kemampuan khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang diisolasi dari ragi tape sebagai agensia probiotik dan peningkatan produktivitas itik Bali. Disertasi, Program Studi Doktor Ilmu Ternak, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Denpasar.

- Bogadenta, A., 2013. Manfaat Air Kelapa dan Minyak Kelapa, Jogjakarta : Flashbooks.
- Brooks, G.F., Butel, J.S. & Morse, S.A. 2008. *Jawetz, Melnick & Adleberg's Mikrobiologi Kedokteran*. (23th ed.). Jakarta: EGC.
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., and Wootton, M., 2007, Ilmu Pangan, Penerjemah: Hari Purnomo dan Adiono, Universitas Indonesia, Jakarta
- Buckle, K.A., R.A. Edward, G.H. Fleet and R.D Applemen. 1987. *Ilmu Pangan*. Diterjemahkan oleh Hari Purnomo & Adiono. Jakarta: UI-Press.
- Budiarti, R. S. 2008. Pengaruh Konsentrasi Starter *Acetobacter xylinum* Terhadap Ketebalan dan Rendemen Selulosa *Nata de Soya*. Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan P MIPA, FKIP Universitas Jambi. Vol 1 No 1 Februari 2008, hlm. 19 – 24.
- Cappuccino, J. G & Natalie, S. (2013). Manual Laboratorium biologi; alih bahasa, Nur Miftahurrahmah. Jakarta: EGC.fao
- Dalie, D.K.D., Deschamps, A.M. dan Richard-Forget, F. 2010. Lactic acid bacteria potential for control of mould growth and mycotoxin. *Food Control* 21: 370–380.
- Darsono,V. 2007. Pengolahan limbah cair tahu secara anaerob dan aerob. *Jurnal Teknologi Industri*. Vol.11(1): 9-20.
- Direktorat Jendral Budidaya Departemen Perikanan dan Kelautan. 2005. dalam Prasetyo, K. W. Pengolahan Limbah Cangkang Udang.
- Depson, R. 2012. Identifikasi molekuler dan pengaruh pemberian potensial probiotik bakteri asam laktat (BAL) asal dadih terhadap kolesterol daging itik bayang sumber daya genetik Sumatera Barat [Tesis]. Pascasarjana Universitas Andalas. UNAND. Padang.
- Dubey R. C. 2007. A Textbook of Biotechnology. Fourth Revised & Enlarged Edition. S.Chand & Company LTD., Ram Nagar, New Delhi.
- Endang. NW. 2011. *Jurnal Kesehatan*, ISSN 1979-7621, Vol. 4, No. 1, Juni 2011: 14-20. Program Studi Gizi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- FAO/WHO. 2001. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. American Córdoba Park Hotel, Córdoba, Argentina.
- Fatoni A, Zufahair, dan Lestari P, 2008. Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Natur Indonesia*. 10 (2): 83-88.

- Febriningrum, P. N. 2013. Pengaruh Konsentrasi Substrat Kulit Nanas dan Kecepatan Pengadukan terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* N16 untuk Produksi Asam Laktat. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan* Vol. 9 No. 3 Hlm. 144 - 151.
- Ferdaus, F., Wijayanti, M.O., Retnoningtyas, E. S. dan Irawati, W. 2008. Pengaruh Ph, Konsentrasi Substrat, Penambahan Kalsium Karbonat dan Waktu Fermentasi terhadap Perolehan Asam Laktat dari Kulit Pisang. *Jurnal Widya Teknik* Vol. 7, No. 1, 2008 (1-14).
- Fleet, G.H. (2006). The commercial and community significance of yeasts in food and beverages production. *Dalam: A Querol dan Fleet, G.H. (ed.). Yeast in Foods and Beverages*, hal 90-102. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Gholib, D., Istiana, Tarmudn dan R.Z. Ahmads, 2003 . Laporan hasil Penelitian Potensi *Sacchromyces cerevisiae* APBN 2002 Sebagai Probiotik. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Gloria, D.R, J.P. Guyot, T.F. Ruíz, n Morlon-Juliette, and C. Wachter1. 2003. Amylolytic lactic acid bacteria from *pozol*: a natural potential to produce complementary foods. *Food-Based Approaches for a Healthy Nutrition Journal* 411–418.
- Handayani, I, Mustaufik. 2006. Penggunaan Campuran Bakteri Asam Laktat dan Khamir Sebagai *Flavouring Agent* Pada Sari Buah Mengkudu Terfermentasi. Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman. *Jurnal Pembangunan Pedesaan* Vol. 6 No. 3.
- Hariyadi P. 2002. Pemanfaatan limbah cair tahu untuk memproduksi ingredient pangan fungsional [Abstrak penelitian]. Lembaga penelitian dan pengabdian kepada Masyarakat (LPPM IPB). Bogor (ID).
- Hariyum, A. 1987. Pembuatan Protein Sel Tunggal. Jakarta: P.T. Waca Utama Pramesti Bekerja Sama dengan Pemda DKI Jakarta.
- Harti, A. S. (2014). *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- Haryanto.B. 2000. Penggunaan Probiotik Dalam Pakan Untuk Meningkatkan Kualitas Karkas dan Daging Domba. *Balai Penelitian Ternak, Bogor. JITV Vol. 5. No.4. Th. 2000.*
- Hidayat, N., Padaga, M.C., Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Andi Offset, Yogyakarta.
- Hippen, A. R., D. J. Schingoethe, K. F. Kalscheur, P. L. Linke, D. R. Rennich, M. M. Abdelqader and I. Yoon. 2010. *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in dairy cow diets containing dried distillers grains plus solubles. *J. Dairy Sci.* 93: 2661-2669.

- Hossain U. Dan Alam AKMN. 2015. Production Of Powder Fish Silage From Fish Market Wastes. *Agric. Sci.* 13(2): 13-25.
- Irianingrum R. 2009. Kandungan asam fitat dan kualitas dedak padi yang disimpan dalam keadaan anaerob. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Irianto, Koes. 2007. Mikrobiologi (Menguak Dunia Mikroorganisme) Jilid 1. Bandung: CV. Yrama Widya.
- Kompiang, I.P . 2002. Effect of Yeast : *Saccharomyces cerevisiae* and Marine Yeast as probiotic supplement on performance of poultry. *JITV* 7(1): 18-21. Balai Penelitian Ternak, Bogor.
- Kumar, M., V.Verma, R.Nagpel, A. Kumar. 2014. Anticarcinogenic effect of probiotic fermented milk and chlorophyllin on aflatoxin-B1-induced liver carcinogenesis in rats. *British Journal of Nutrition.*107 (7): 1006-1016.
- Kumprechtova, D., P .Zobac dan I. Kumprect. 2000 . The effect of *Saccharomyces cerevisiae* Sc 47 on chicken broiler performance an nitrogen out put. *Czech. J. Anim Sci.* 45 : 169-77.
- Kusuma, V. J. M. dan Zubaidah, E. 2016. Evaluasi Pertumbuhan *Lactobacillus Casei* dan *Lactobacillus plantarum* N16 dalam Medium Fermentasi Tepung Kulit Pisang. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 4 No 1 p.100-108.
- Lee YK, Salminen S. 2009. *Handbook of Probiotics and Prebiotics*. Second Edition. New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.
- Leroy, F., L. de Vuyst, 2001, Growth of the Bacteriocin-Producing *Lactobacillus sakei* Strain CTC 494 in MRS Broth Is Strongly Reduced Due to Nutrient Exhaustion: a Nutrient Depletion Model for the Growth of Lactic Acid Bacteria, *Applied and Environmental Microbiology*,67:4407-4413.
- Lopez, J. 2000. *Probiotics In Animal Nutrition Asian-Aust. J. Anim. Scl.* 13, Special Issue : 12-26.
- Maslami V, Marlida Y, Mirnawati M, Jamsari J dan Nur Y. 2019 Isolasi dan Produksi Asam Glutamat dari Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Pangan Fermentasi Sumatera Barat dan Aplikasinya Dalam Meningkatkan Performa dan Kualitas kaekas Broiler. Universitas Andalas. Padang.
- Miremadi, F., F. Sherkat, L. Stojanovka. 2016. Hypocholesterolaemic Effect and Anti-hypertensive Properties of Probiotics and Prebiotics: A review . *Journal of Functional Food.* 25 :497-510.
- Murwani, R. 2008. Aditif Pakan: Aditif Pakan Penganti Antibotika. UNNES Press.Semarang.

- Muzzarelli, R.A.A. dan Joles, P.P. 2000. Chitin and Chitinases; Biochemistry of Chiti-nase. Switzerland, Birkhauser Verlag.
- Nahariah, A. M. Legowo, E. Abustam, A. Hintono. 2015. Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitor Activity on Egg Albumen Fermentation. *Asian Australas. J. Anim. Sci.*, 28(6): 855–861.
- Nashihara, C., Shinoda, S., Kudou, Y. 2009. Methods For Microbiological Examination. *In: Standard Methods Of Analysis For Hygenic Chemists With Commentary. In Japanese. Pharmaceutical Society Of Japan Kanahara Publishing Co., Tokyo.*
- Ngatirah, Harmayani E, Rahayu ES, Utami T. 2000. Seleksi Bakteri Asam Laktat Sebagai Agensia Probiotik yang Berpotensi Menurunkan Kolesterol. Seminar Nasional Industri Pangan, Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia. Surabaya.
- Nur, H. S., 2005. Pembentukan asam organik oleh isolat bakteri asam laktat pada media ekstrak daging buah durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Bioscientiae*, 2 (1): 15-24.
- Pereira, D.I.A.and G.R. Gibson. 2002. Effects of Consumption of Probiotics and Prebiotics on Serum Lipid Levels in Human. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 37: 259–281.
- Phumkhachorn, P. dan Rattanachaikunsopon, P. 2010. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Annals of Biological Research* 1(4): 218–228.
- Putri, W.D.R. dkk. 2008. Produksi Biolaktat Kering Kultur Campuran *Lactobacillus* sp dan *Saccharomces* Campuran. *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 9 No. 2 (Agustus 2008) 38 – 149. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Rahayu , E.S. 2001. Potensi dan Peranan Prebiotik dan Probiotik Dalam Makanan Sehat. Seminar Prebiotik, Probiotik dan Makanan Sehat. Fakultas Biologi Universitas Atmajaya. Yogyakarta.
- Raliby, O., Retno, R., dan Imron, R. 2009. Pengolahan Limbah Cair Tahu Menjadi Biogas Sebagai Bahan Bakar Alternatif pada Industri Pengolahan Tahu. *Badan Penelitian dan Pengembangan Provinsi Jawa Tengah.* 7(2): 219-222.
- Reddy, G.M., Altaf, B.J. Naveena, M. Venkateshwar, E. Dan Kumar, V. 2008. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation, a review. *Biotechnology Advances* 26: 22–34.
- Revolledo L , A. J. P. Ferreira , & G. C. Mead. 2006. Prospects in salmonella control: competitive exclusion, probiotics, and enhancement of avian intestinal immunity. *J Appl Poult Res.* 15 : 341-351.

- Rizal, A. 2010. Pengaruh Pengukusan Onggok dan Suplementasi Metionin Hidroksi Dala Ransum Terhadap Retensi Nitrogen dan Rasio Efisiensi Protein Domba Lokal Jantan. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Rizky, W.D. 2013. Pengaruh Kandunngan Protein Tepung Bulu Ayam Sebagai Media Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli. Semarang: Jurusan Analisis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Semarang.
- Rizqiati H, Sumantri C, Noor RR, Damayanthi E, Rianti E. 2015. Isolation and identification of indigenous lactic acid bacteria from North Sumatera River Buffalo Milk. IJAVS. 20:87-94.
- Roos, N.M. de, dan M.B. Katan. 2000. Effect of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. Am J Clin Nutr. 71:405-411.
- Rose, A.H. dan Harrison, J.S. 1993. The yeasts. *Dalam: Yeast Technology*. Volume 5, 2nd edn. Academic Press. London.
- Rosidasi, D., Abun, Widjastuti, T. 2011. Penggunaan Tepung Limbah Udang Windu (*Penaeus Monodon*) Produk Pengolahan Kimiawi Dalam Ransum Ayam Broiler Terhadap *Performans Dan Income Over Feed And Chick Cost*. *Laporan Penelitian*. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Sah, B.N.P., T.Vasiljevic, S.Mckeechnie, O.N.Donkor. 2014. Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt. Food Chemistry . 156 :264-270.
- Salminen. S, Wright.VA, Morelli. L, etc. 1998. Demonstration of safety of probiotics: a review. *Internationaljournal of food microbiology* 44 (1-2), 93-106.Elsevier Science.
- Septiani, N. 2019. Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) asal panan fermentasi Sebagai Kandidat Probiotik Unggas. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Padang.
- Shortt C. 1999. The probiotic century: historical and current perspectives. *Review on Trend Food Science and Technology* 10: 411-417.
- Simanihuruk. 2013. Pengolahan Limbah Kelapa. Andi Offset. Yogyakarta.
- Soetomo, M. 1990. Teknik Budidaya Udang Windu. Sinar Baru. Bandung.
- Sofyan, A., L. M. Yusiati, Y. Widyastuti and R. Utomo. 2011. Microbiological characteristic and fermentability of king grass (*Pennisetum hybrid*) silage treated by lactic acid bacteria-yeast inoculant consortium combined with

- rice bran addition. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture* 36: 265-272.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty.Yogyakarta.
- Sugiharto, P.E., 1991, Analisis Kuantitatif Kadar Etanol dari Bonggol Pisang oleh *Saccharomyces cerevisiae*, Skripsi Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Surono, I.S. 2003. In Vitro Probiotik Properties Of Indigenous Dadih Lactic Acid Bacteria. *Asian-Australasian J Anim Sci*. 16:726-731.
- Tensiska, 2008, *Probiotik dan Prebiotik sebagai Pangan Fungsional*, Universitas Padjadjaran. Jatinegara.
- United States Department of Agriculture (USDA), 2016. *Nuts, Coconut Water (Liquid From Coconuts)*. National Nutrient Database for Standard Reference United States Department of Agriculture.
- Van Der Maarel, M.J.E.C., VanDer Veen, B., Uitdehaag, J.C.M., Lemhuis, H. dan Dijkhuizen, L. 2002. Properties and application of starch-converting enzymes of the amylase family. *Journal of Biotechnology* 94:137-155.
- Wahyudi, A. dan L. Hendraningsih. 2007. *Probiotik. Konsep, Penerapan, dan Harapan*. Buku Ajar. Fakultas Peternakan-Perikanan, Universitas Muhammadiyah, Malang.
- Winarno. F.G. 2000. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wulan.P. PDK, dkk. 2006. *Penentuan Rasio Optimum C:N:P Sebagai Nutrisi Pada Proses Biodegrasi Benzena Toluena dan Scale Up Kolom Biogenerator*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Kampus Baru UI-Depok.
- Yolanda. H, Mulyana, Y. 2011. *Uji Coba Penggunaan Limbah Air Kelapa Tua sebagai Bahan Dasar Media Isolasi*. Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Bandung .
- Yuliana, N. 2008. Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 Yang Berasal Dari Tempoyak. *J Teknol Industri Hasil Pertanian*. 13 (2): 108-116.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji keragaman dan statistik nilai Viabilitas terhadap campuran probiotik *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* pada jenis media alami berbeda

1.1 Data nilai viabilitas

Rasio Campuran Probiotik	Ulangan	Jenis Media Tumbuh			Total
		B1	B2	B3	
A1 (1:1)	1	1,32	2,23	2,51	
	2	1,32	1,90	2,17	
	3	1,32	1,68	2,06	
Jumlah		3,95	5,81	6,73	16,48
Rataan		1,32	1,94	2,24	1,83
A2 (1:2)	1	0,75	1,58	2,16	
	2	0,75	1,76	2,01	
	3	0,75	1,59	2,63	
Jumlah		2,25	4,92	6,80	13,97
Rataan		0,75	1,64	2,27	1,55
A3 (2:1)	1	0,75	1,57	2,35	
	2	0,75	1,59	2,25	
	3	0,75	1,68	2,52	
Jumlah		2,25	4,83	7,12	14,20
Rataan		0,75	1,61	2,37	1,58
Jumlah Keseluruhan		8,45	15,56	20,65	44,65
Rataan Keseluruhan		0,94	1,73	2,29	4,96

A. Analisis sidik ragam dengan SPSS 26

a. Interaksi Faktor AxB

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VIABILITAS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9,215 ^a	8	1,152	38,596	,000
Intercept	74,003	1	74,003	2479,635	,000

PERLAKUAN_INTERAKSI	9,215	8	1,152	38,596	,000
Error	,537	18	,030		
Total	83,756	27			
Corrected Total	9,752	26			

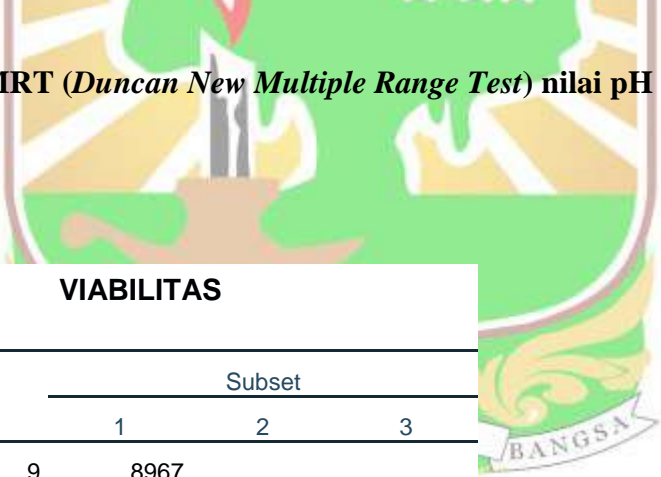
b. Faktor A dan Faktor B

Dependent Variable: VIABILITAS

Source	Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	11,571 ^a	8	1,446	51,411	,000
Intercept	55,069	1	55,069	1957,443	,000
A	4,169	2	2,084	74,093	,000
B	3,279	2	1,640	58,282	,000
A * B	4,123	4	1,031	36,635	,000
Error	,506	18	,028		
Total	67,147	27			
Corrected Total	12,077	26			

Uji Lanjut DMRT (*Duncan New Multiple Range Test*) nilai pH pada taraf 5%

a. Faktor A



VIABILITAS

Duncan^{a,b}

A	N	Subset		
		1	2	3
3,00	9	,8967		
2,00	9		1,5533	
1,00	9			1,8344
Sig.		1,000	1,000	1,000

b. Faktor B

VIABILITAS

Duncan^{a,b}

B	N	Subset	
		1	2
1,00	9	,9400	

3,00	9	1,6133
2,00	9	1,7311
Sig.	1,000	,154

c. Interaksi Faktor Ax B

VIABILITAS

Duncan^{a,b}

PERLAKUAN _INTERAKSI	N	Subset				
		1	2	3	4	5
A2B1	3	,7500				
A3B1	3	,7500				
A1B1	3		1,3200			
A3B2	3		1,6133	1,6133		
A2B2	3			1,6433	1,6433	
A1B2	3				1,9367	
A1B3	3					2,2467
A2B3	3					2,2667
A3B3	3					2,3733
Sig.		1,000	,052	,834	,052	,407

B. Perhitungan Statistik

$$FK = \frac{(Y_{..})^2}{a.b.r} = \frac{(44,65)^2}{27} = 73,84$$

$$JKA = \frac{\sum i(a_i)^2}{Rb} - FK = \frac{(16,48)^2 + (13,97)^2 + (14,20)^2}{9} - 73,84 = 0,43$$

$$JKB = \frac{\sum j(\beta_j)^2}{Ra} - FK = \frac{(8,45)^2 + (15,56)^2 + (20,65)^2}{9} - 73,84 = 8,35$$

$$JKAB = \frac{(\{3,95\}^2 + \{5,81\}^2 + \dots + \{2,12\}^2)}{3} - FK - JKA - JKB = 0,43$$

$$JKT = \sum i \sum j \sum k Y^2_{ijk} - FK = (1,32^2 + 2,23^2 + \dots + 2,52^2) - 73,84 = 9,73$$

$$JKS = JKT - JKP = 9,73 - 9,20 = 0,53$$

$$JKP = \frac{\sum i \sum j Y^2_{ijk}}{r} - FK = \frac{(\{3,95\}^2 + \{5,81\}^2 + \dots + \{7,12\}^2)}{3} - 73,84 = 9,20$$

$$KTA = \frac{JKA}{(a-1)} = 0,21$$

$$KTB = \frac{JKB}{(b-1)} = 4,17$$

$$KTAB = \frac{JKAB}{(a-1)(b-1)} = 0,11$$

$$KTS = \frac{JKS}{ab(r-1)} = 0,03$$

$$F(A) = \frac{KTA}{KTS} = 7,33$$

$$F(B) = \frac{KTB}{KTS} = 142,76$$

$$F(AB) = \frac{KTAB}{KTS} = 3,68$$

Tabel Analisis Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	F hit	F tabel		Ket
					0,05	0,01	
A	2	0	0	7,33	3,55	6,01	**
B	2	8	4	142,76	3,55	6,01	**
AB	4	0	0	3,68	2,93	4,58	*
Sisa	18	1	0				
Total	26	10					

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

* = berbeda nyata ($P > 0,05$)

NS = berbeda tidak nyata ($P > 0,05$)

UJI LANJUT DUNCAN MULTIPLE RANGE TEST (DMRT)

Faktor AB atau Interaksi AXB

$$SE = \sqrt{(KTS/r)} = \sqrt{(0,03/3)} = 0,10$$

Pengujian Ducan's Multiple Range Test (DMRT)

Jarak	2	3	4	5	6	7	8	9
Perbandingan								
SSR 0.05	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32	3,36	3,38	3,40
SSR 0.01	4,07	4,25	4,36	4,45	4,51	4,56	4,60	4,64
LSR 0.05	0,29	0,31	0,32	0,32	0,33	0,33	0,33	0,34
LSR 0.01	0,40	0,42	0,43	0,44	0,45	0,45	0,45	0,46

Rataan Nilai Seluruh Perlakuan

A1B1 = 1,32	A2B1 = 0,75	A3B1 = 0,75
A1B2 = 1,94	A2B2 = 1,64	A3B2 = 1,61
A1B3 = 2,24	A2B3 = 2,27	A3B3 = 2,37

Urutan Rataan Nilai Tertinggi ke Terendah

A3B3	A2B3	A1B3	A1B2	A2B2	A3B2	A1B1	A2B1	A3B1
2,37	2,27	2,24	1,94	1,64	1,61	1,32	0,75	0,75

Perbandingan Nilai Beda nyata

Perlakuan	P	SE	SSR		SELISI H	LSR		KET
			0,05	0,01		0,05	0,01	
A3B3-A2B3	2	0,10	2,97	4,07	0,11	0,29	0,40	NS
A3B3-A1B3	3	0,10	3,12	4,25	0,13	0,31	0,42	NS
A3B3-A1B2	4	0,10	3,21	4,36	0,44	0,32	0,43	**
A3B3-A2B2	5	0,10	3,27	4,45	0,73	0,32	0,44	**
A3B3-A3B2	6	0,10	3,32	4,51	0,76	0,33	0,45	**
A3B3-A1B1	7	0,10	3,36	4,56	1,06	0,33	0,45	**
A3B3-A2B1	8	0,10	3,38	4,60	1,62	0,33	0,45	**
A3B3-A3B1	9	0,10	3,40	4,64	1,62	0,34	0,46	**
A2B3-A1B3	2	0,10	2,97	4,07	0,02	0,29	0,40	NS
A2B3-A1B2	3	0,10	3,12	4,25	0,33	0,31	0,42	*
A2B3-A2B2	4	0,10	3,21	4,36	0,63	0,32	0,43	**
A2B3-A3B2	5	0,10	3,27	4,45	0,66	0,32	0,44	**
A2B3-A1B1	6	0,10	3,32	4,51	0,95	0,33	0,45	**
A2B3-A2B1	7	0,10	3,36	4,56	1,52	0,33	0,45	**
A2B3-A3B1	8	0,10	3,38	4,60	1,62	0,33	0,45	**
A1B3-A1B2	2	0,10	2,97	4,07	0,31	0,29	0,40	*
A1B3-A2B2	3	0,10	3,12	4,25	0,60	0,31	0,42	**
A1B3-A3B2	4	0,10	3,21	4,36	0,63	0,32	0,43	**
A1B3-A1B1	5	0,10	3,27	4,45	0,93	0,32	0,44	**
A1B3-A2B1	6	0,10	3,32	4,51	1,49	0,33	0,45	**
A1B3-A3B1	7	0,10	3,36	4,56	1,50	0,33	0,45	**
A1B2-A2B2	2	0,10	2,97	4,07	0,29	0,29	0,40	*
A1B2-A3B2	3	0,10	3,12	4,25	0,32	0,31	0,42	*
A1B2-A1B1	4	0,10	3,21	4,36	0,62	0,32	0,43	**
A1B2-A2B1	5	0,10	3,27	4,45	1,18	0,32	0,44	**
A1B2-A3B1	6	0,10	3,32	4,51	1,19	0,33	0,45	**
A2B2-A3B2	2	0,10	2,97	4,07	0,03	0,29	0,40	NS

A2B2-A1B1	3	0,10	3,12	4,25	0,33	0,31	0,42	*
A2B2-A2B1	4	0,10	3,21	4,36	0,89	0,32	0,43	**
A2B2-A3B1	5	0,10	3,27	4,45	0,89	0,32	0,44	**
A3B2-A1B1	2	0,10	2,97	4,07	0,30	0,29	0,40	*
A3B2-A2B1	3	0,10	3,12	4,25	0,86	0,31	0,42	**
A3B2-A3B1	4	0,10	3,21	4,36	0,86	0,32	0,43	**
A1B1-A2B1	2	0,10	2,97	4,07	0,56	0,29	0,40	**
A1B1-A3B1	3	0,10	3,12	4,25	0,57	0,31	0,42	**
A2B1-A3B1	2	0,10	2,97	4,07	0,00	0,29	0,40	NS

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

* = berbeda nyata ($P > 0,05$)

NS = berbeda tidak nyata ($P > 0,05$)

Superskrip

A3B3^a A2B3^a A1B3^a A1B2^b A2B2^c A3B2^c A1B1^c A2B1^d A3B1^d



Lampiran 2. Uji keragaman dan statistik nilai Biomassa Sel terhadap campuran probiotik *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* pada jenis media alami berbeda

2.1 Data nilai biomassa sel

Rasio Campuran Probiotik	Ulangan	Jenis Media Tumbuh			Total
		B1	B2	B3	
A1 (1:1)	1	20,00	24,00	14,00	
	2	20,00	23,00	16,00	
	3	20,00	27,00	22,00	
Jumlah		60,00	74,00	52,00	186,00
Rataan		20,00	24,67	17,33	20,67
A2 (1:2)	1	22,00	21,00	9,00	
	2	22,00	20,00	17,00	
	3	22,00	28,00	22,00	
Jumlah		66,00	69,00	48,00	183,00
Rataan		22,00	23,00	16,00	20,33
A3 (2:1)	1	23,00	21,00	30,00	
	2	23,00	14,00	51,00	
	3	23,00	23,00	46,00	
Jumlah		69,00	58,00	127,00	254,00
Rataan		23,00	19,33	42,33	28,22
Jumlah Keseluruhan		195,00	201,00	227,00	623,00
Rataan Keseluruhan		21,67	22,33	25,22	69,22

A. Analisis sidik ragam dengan SPSS 26

a. Interaksi Faktor AxB

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Biomassa Sel

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1443,185 ^a	8	180,398	7,173	,000
Intercept	14375,148	1	14375,148	571,619	,000
PERLAKUAN_INTERAKSI	1443,185	8	180,398	7,173	,000
Error	452,667	18	25,148		
Total	16271,000	27			

Corrected Total	1895,852	26
-----------------	----------	----

b. Faktor A dan Faktor B

Dependent Variable: Biomassa Sel

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	12,667 ^a	8	1,583	393,302	,000
Intercept	663,549	1	663,549	164818,974	,000
A	,178	2	,089	22,146	,000
B	12,144	2	6,072	1508,286	,000
A * B	,344	4	,086	21,389	,000
Error	,072	18	,004		
Total	676,289	27			
Corrected Total	12,740	26			

2.2 Uji Lanjut DMRT (*Duncan New Multiple Range Test*) nilai pH pada taraf 5%

a. Faktor A

Duncan ^{a,b}		Subset	
A	N	1	2
3,00	9	4,8444	
2,00	9		4,9956
1,00	9		5,0322
Sig.		1,000	,236

b. Faktor B

Duncan ^{a,b}		Subset		
B	N	1	2	3
2,00	9	4,3056		
1,00	9		4,6867	
3,00	9			5,8800
Sig.		1,000	1,000	1,000

c. Interaksi Faktor AxB

Biomassa Sel

Duncan ^{a,b}			
PERLAKUAN_INTERAKSI	N	Subset	
		1	2
A2B3	3	16,0000	
A1B3	3	17,3333	
A3B2	3	19,3333	
A1B1	3	20,0000	
A2B1	3	22,0000	
A2B2	3	23,0000	
A3B1	3	23,0000	
A1B2	3	24,6667	
A3B3	3		42,3333
Sig.		,080	1,000

B. Perhitungan Statistik

$$FK = \frac{(Y_{..})^2}{a \cdot b \cdot r} = \frac{(623)^2}{27} = 14375,15$$

$$JKA = \frac{\sum_i (a_i)^2}{R_b} - FK = \frac{(186)^2 + (183)^2 + (254)^2}{9} - 14375,15 = 358,30$$

$$JKB = \frac{\sum_j (\beta_j)^2}{R_a} - FK = \frac{(195)^2 + (201)^2 + (227)^2}{9} - 14375,15 = 64,30$$

$$JKAB = \frac{(\{60\}^2 + \{74\}^2 + \dots + \{127\}^2)}{3} - FK - JKA - JKB = 1020,59$$

$$JKT = \sum_i \sum_j \sum_k Y_{ijk}^2 - FK = (20^2 + 24^2 + \dots + 46^2) - 14375,15 = 1895,85$$

$$JKS = JKT - JKP = 1895,85 - 1443,18 = 452,67$$

$$JKP = \sum_i \sum_j Y_{ijk}^2 - FK = \frac{(\{60\}^2 + \{74\}^2 + \dots + \{127\}^2)}{3} - 14375,15 = 1443,18$$

$$KTA = \frac{JKA}{(a-1)} = 179,15$$

$$KTB = \frac{JKB}{(b-1)} = 32,15$$

$$KTAB = \frac{JKAB}{(a-1)(b-1)} = 255,15$$

$$KTS = \frac{JKS}{ab(r-1)} = 25,15$$

$$F(A) = \frac{KTA}{KTS} = 7,12$$

$$F(B) = \frac{KTB}{KTS} = 1,28$$

$$F(AB) = \frac{KTAB}{KTS} = 10,15$$

Tabel Analisis Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	F hit	F tabel		Ket
					0,05	0,01	
A	2	358	179	7,12	3,55	6,01	**
B	2	64	32	1,28	3,55	6,01	NS
AB	4	1021	255	10,15	2,93	4,58	**
Sisa	18	453	25				
Total	26	1896					

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)
 * = berbeda nyata ($P > 0,05$)
 NS = berbeda tidak nyata ($P > 0,05$)

UJI LANJUT DUNCAN MULTIPLE RANGE TEST (DMRT)

Faktor AB atau Interaksi AXB

$$SE = \sqrt{(KTS/r)} = \sqrt{(25,15/3)} = 0,10$$

Pengujian Ducan's Multiple Range Test (DMRT)

Jarak Perbandingan	2	3	4	5	6	7	8	9
SSR 0.05	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32	3,36	3,38	3,40
SSR 0.01	4,07	4,25	4,36	4,45	4,51	4,56	4,60	4,64
LSR 0.05	08,60	9,02	9,29	9,48	9,61	9,72	9,79	9,89
LSR 0.01	11,79	12,29	12,63	12,87	13,05	13,20	13,32	13,42

Rataan Nilai Seluruh Perlakuan

A1B1 = 20	A2B1 = 22	A3B1 = 23
A1B2 = 24,67	A2B2 = 23	A3B2 = 19,33
A1B3 = 23	A2B3 = 19,33	A3B3 = 42,33

Urutan Rataan Nilai Tertinggi ke Terendah

A3B3	A1B2	A2B2	A3B1	A2B1	A1B1	A3B2	A1B3	A2B3
42,33	24,67	23	23	22	20	19,33	17,33	16

Perbandingan Nilai Beda nyata

Perlakuan	P	SE	SSR		SELISIH	LSR		KET
			0,05	0,01		0,05	0,01	
A3B3-A1B2	2	2,90	2,97	4,07	17,66	8,60	11,79	**
A3B3-A2B2	3	2,90	3,12	4,25	19,33	9,02	12,29	**
A3B3-A3B1	4	2,90	3,21	4,36	19,33	9,29	12,63	**
A3B3-A2B1	5	2,90	3,27	4,45	20,33	9,48	12,87	**
A3B3-A1B1	6	2,90	3,32	4,51	22,33	9,61	13,05	**
A3B3-A3B2	7	2,90	3,36	4,56	23,00	9,72	13,20	**
A3B3-A1B3	8	2,90	3,38	4,60	25,00	9,79	13,32	**
A3B3-A2B3	9	2,90	3,40	4,64	26,33	9,86	13,42	**
A1B2-A2B2	2	2,90	2,97	4,07	1,67	8,60	11,79	NS
A1B2-A3B1	3	2,90	3,12	4,25	1,67	9,02	12,29	NS
A1B2-A2B1	4	2,90	3,21	4,36	2,67	9,29	12,63	NS
A1B2-A1B1	5	2,90	3,27	4,45	4,67	9,48	12,87	NS
A1B2-A3B2	6	2,90	3,32	4,51	5,34	9,61	13,05	NS
A1B2-A1B3	7	2,90	3,36	4,56	7,34	9,72	13,20	NS
A1B2-A2B3	8	2,90	3,38	4,60	8,67	9,79	13,32	NS
A2B2-A3B1	2	2,90	2,97	4,07	0,00	8,60	11,79	NS
A2B2-A2B1	3	2,90	3,12	4,25	1,00	9,02	12,29	NS
A2B2-A1B1	4	2,90	3,21	4,36	3,00	9,29	12,63	NS
A2B2-A3B2	5	2,90	3,27	4,45	3,67	9,48	12,87	NS
A2B2-A1B3	6	2,90	3,32	4,51	5,67	9,61	13,05	NS
A2B2-A2B3	7	2,90	3,36	4,56	7,00	9,72	13,20	NS
A3B1-A2B1	2	2,90	2,97	4,07	1,00	8,60	11,79	NS
A3B1-A1B1	3	2,90	3,12	4,25	3,00	9,02	12,29	NS
A3B1-A3B2	4	2,90	3,21	4,36	3,67	9,29	12,63	NS
A3B1-A1B3	5	2,90	3,27	4,45	5,67	9,48	12,87	NS
A3B1-A2B3	6	2,90	3,32	4,51	7,00	9,61	13,05	NS
A2B1-A1B1	2	2,90	2,97	4,07	2,00	8,60	11,79	NS
A2B1-A3B2	3	2,90	3,12	4,25	2,67	9,02	12,29	NS
A2B1-A1B3	4	2,90	3,21	4,36	4,67	9,29	12,63	NS
A2B1-A2B3	5	2,90	3,27	4,45	6,00	9,48	12,87	NS

A1B1-A3B2	2	2,90	2,97	4,07	0,67	8,60	11,79	NS
A1B1-A1B3	3	2,90	3,12	4,25	2,67	9,02	12,29	NS
A1B1-A2B3	4	2,90	3,21	4,36	4,00	9,29	12,63	NS
A3B2-A1B3	2	2,90	2,97	4,07	2,00	8,60	11,79	NS
A3B2-A2B3	3	2,90	3,12	4,25	3,33	9,02	12,29	NS
A1B3-A2B3	2	2,90	2,97	4,07	1,33	8,60	11,79	NS

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)
* = berbeda nyata ($P > 0,05$)
NS = berbeda tidak nyata ($P > 0,05$)

Superskrip

A3B3^a A1B2^b A2B2^b A3B1^b A2B1^b A1B1^b A3B2^b A1B3^b A2B3^b



Lampiran 3. Uji keragaman dan statistik nilai pH Akhir Medium terhadap campuran probiotik *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevicea* pada jenis media alami berbeda

1.1 Data nilai pH Akhir Medium

Rasio Campuran Probiotik	Ulangan	Jenis Media Tumbuh			Total
		B1	B2	B3	
A1 (1:1)	1	0,95	0,85	2,47	
	2	0,95	0,88	2,46	
	3	0,95	0,93	2,20	
Jumlah		2,85	2,66	7,13	12,64
Rataan		0,95	0,89	2,38	1,40
A2 (1:2)	1	1,21	0,90	2,19	
	2	1,21	0,88	2,29	
	3	1,21	0,92	2,16	
Jumlah		3,63	2,70	6,64	12,97
Rataan		1,21	0,90	2,21	1,44
A3 (2:1)	1	1,51	0,87	2,45	
	2	1,51	0,89	2,31	
	3	1,51	0,93	2,35	
Jumlah		4,53	2,69	7,11	14,33
Rataan		1,51	0,90	2,37	1,59
Jumlah Keseluruhan		11,01	8,05	20,88	39,94
Rataan Keseluruhan		1,22	0,89	2,32	4,44

A. Analisis sidik ragam dengan SPSS 26

a. Interaksi Faktor AxB

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	10,552 ^a	8	1,319	327,624	,000
Intercept	59,082	1	59,082	14675,286	,000
PERLAKUAN_INTERAKSI	10,552	8	1,319	327,624	,000
Error	,072	18	,004		
Total	69,706	27			
Corrected Total	10,624	26			

b. Faktor A dan Faktor B

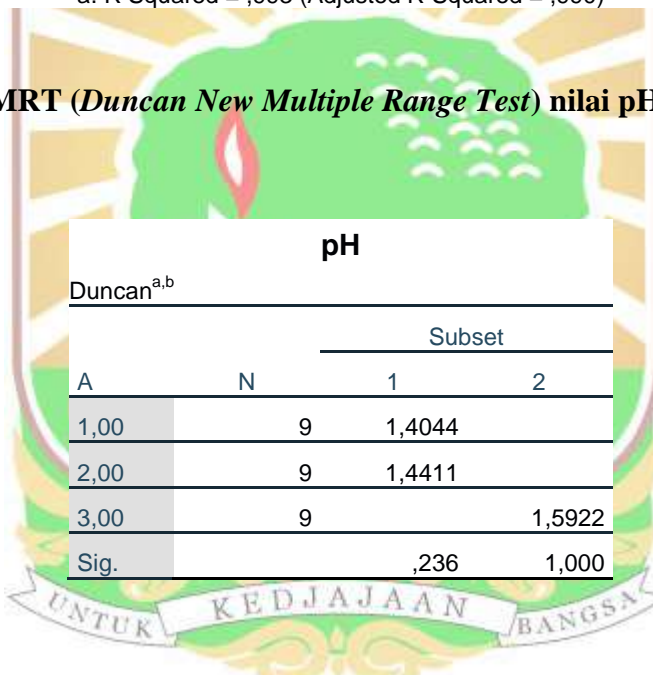
Dependent Variable: pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	10,552 ^a	8	1,319	327,624	,000
Intercept	59,082	1	59,082	14675,286	,000
A	,178	2	,089	22,146	,000
B	10,029	2	5,015	1245,572	,000
A * B	,344	4	,086	21,389	,000
Error	,072	18	,004		
Total	69,706	27			
Corrected Total	10,624	26			

a. R Squared = ,993 (Adjusted R Squared = ,990)

Uji Lanjut DMRT (*Duncan New Multiple Range Test*) nilai pH pada taraf 5%

a. Faktor A



pH			
Duncan ^{a,b}			
A	N	Subset	
		1	2
1,00	9	1,4044	
2,00	9	1,4411	
3,00	9		1,5922
Sig.		,236	1,000

b. Faktor B

pH				
Duncan ^{a,b}				
B	N	Subset		
		1	2	3
2,00	9	,8944		
1,00	9		1,2233	
3,00	9			2,3200
Sig.		1,000	1,000	1,000

c. Interaksi Faktor AxB

pH

Duncan^{a,b}

PERLAKUAN_I NTERAKSI	N	Subset				
		1	2	3	4	5
A1B2	3	,8867				
A3B2	3	,8967				
A2B2	3	,9000				
A1B1	3	,9500				
A2B1	3		1,2100			
A3B1	3			1,5100		
A2B3	3				2,2133	
A3B3	3					2,3700
A1B3	3					2,3767
Sig.		,276	1,000	1,000	1,000	,8995

B. Perhitungan Statistik

$$FK = \frac{(Y_{..})^2}{a.b.r} = \frac{(39,94)^2}{27} = 59,08$$

$$JKA = \frac{\sum_i (a_i)^2}{Rb} - FK = \frac{(12,64)^2 + (12,97)^2 + (14,33)^2}{9} - 59,08 = 0,18$$

$$JKB = \frac{\sum_j (\beta_j)^2}{Ra} - FK = \frac{(11,01)^2 + (8,05)^2 + (20,88)^2}{9} - 59,08 = 10,03$$

$$JKAB = \frac{(\{2,85\}^2 + \{2,66\}^2 + \dots + \{7,11\}^2)}{3} - FK - JKA - JKB = 0,34$$

$$JKT = \sum_i \sum_j \sum_k Y_{ijk}^2 - FK = (0,95^2 + 0,85^2 + \dots + 2,35^2) - 59,08 = 10,62$$

$$JKS = JKT - JKP = 10,62 - 10,55 = 0,07$$

$$JKP = \frac{\sum_i \sum_j Y_{ijk}^2}{r} - FK = \frac{(\{2,85\}^2 + \{2,66\}^2 + \dots + \{7,11\}^2)}{3} - 59,08 = 10,55$$

$$KTA = \frac{JKA}{(a-1)} = 0,09$$

$$KTB = \frac{JKB}{(b-1)} = 5,01$$

$$KTAB = \frac{JKAB}{(a-1)(b-1)} = 0,09$$

$$KTS = \frac{JKS}{ab(r-1)} = 0,004$$

$$F(A) = \frac{KTA}{KTS} = 22,15$$

$$F(B) = \frac{KTB}{KTS} = 1245,57$$

$$F(AB) = \frac{KTAB}{KTS} = 21,39$$

Tabel Analisis Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	F hit	F tabel		Ket
					0,05	0,01	
A	2	0	0	22,15	3,55	6,01	**
B	2	10	5	1245,57	3,55	6,01	**
AB	4	0	0	21,39	2,93	4,58	**
Sisa	18	0	0				
Total	26	11					

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

* = berbeda nyata ($P > 0,05$)

NS = berbeda tidak nyata ($P > 0,05$)

UJI LANJUT DUNCAN MULTIPLE RANGE TEST (DMRT)

Faktor AB atau Interaksi AXB

$$SE = \sqrt{(KTS/r)} = \sqrt{(0,004/3)} = 0,04$$

Pengujian Ducan's Multiple Range Test (DMRT)

Jarak								
Perbandingan	2	3	4	5	6	7	8	9
SSR 0.05	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32	3,36	3,38	3,40
SSR 0.01	4,07	4,25	4,36	4,45	4,51	4,56	4,60	4,64
LSR 0.05	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
LSR 0.01	0,15	0,16	0,16	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17

Rataan Nilai Seluruh Perlakuan

$$A1B1 = 0,95$$

$$A2B1 = 1,21$$

$$A3B1 = 1,51$$

$$A1B2 = 0,89$$

$$A2B2 = 0,90$$

$$A3B2 = 0,90$$

$$A1B3 = 2,38$$

$$A2B3 = 2,21$$

$$A3B3 = 2,37$$

Urutan Rataan Nilai Tertinggi ke Terendah

A1B3	A3B3	A2B3	A3B1	A2B1	A1B1	A2B2	A3B2	A1B2
2,38	2,37	2,21	1,51	1,21	0,95	0,90	0,90	0,89

Perbandingan Nilai Beda nyata

Perlakuan	P	SE	SSR		SELISIH	LSR		KET
			0,05	0,01		0,05	0,01	
A1B3-A3B3	2	0,04	2,97	4,07	0,01	0,11	0,15	NS
A1B3-A2B3	3	0,04	3,12	4,25	0,16	0,11	0,16	**
A1B3-A3B1	4	0,04	3,21	4,36	0,87	0,12	0,16	**
A1B3-A2B1	5	0,04	3,27	4,45	1,17	0,12	0,16	**
A1B3-A1B1	6	0,04	3,32	4,51	1,43	0,12	0,17	**
A1B3-A2B2	7	0,04	3,36	4,56	1,48	0,12	0,17	**
A1B3-A3B2	8	0,04	3,38	4,60	1,48	0,12	0,17	**
A1B3-A1B2	9	0,04	3,40	4,64	1,49	0,12	0,17	**
A3B3-A2B3	2	0,04	2,97	4,07	0,16	0,11	0,15	**
A3B3-A3B1	3	0,04	3,12	4,25	0,86	0,11	0,16	**
A3B3-A2B1	4	0,04	3,21	4,36	1,16	0,12	0,16	**
A3B3-A1B1	5	0,04	3,27	4,45	1,42	0,12	0,16	**
A3B3-A2B2	6	0,04	3,32	4,51	1,47	0,12	0,17	**
A3B3-A3B2	7	0,04	3,36	4,56	1,47	0,12	0,17	**
A3B3-A1B2	8	0,04	3,38	4,60	1,48	0,12	0,17	**
A2B3-A3B1	2	0,04	2,97	4,07	0,70	0,11	0,15	**
A2B3-A2B1	3	0,04	3,12	4,25	1,00	0,11	0,16	**
A2B3-A1B1	4	0,04	3,21	4,36	1,26	0,12	0,16	**
A2B3-A2B2	5	0,04	3,27	4,45	1,31	0,12	0,16	**
A2B3-A3B2	6	0,04	3,32	4,51	1,32	0,12	0,17	**
A2B3-A1B2	7	0,04	3,36	4,56	1,33	0,12	0,17	**
A3B1-A2B1	2	0,04	2,97	4,07	0,30	0,11	0,15	**
A3B1-A1B1	3	0,04	3,12	4,25	0,56	0,11	0,16	**
A3B1-A2B2	4	0,04	3,21	4,36	0,61	0,12	0,16	**
A3B1-A3B2	5	0,04	3,27	4,45	0,61	0,12	0,16	**
A3B1-A1B2	6	0,04	3,32	4,51	0,62	0,12	0,17	**
A2B1-A1B1	2	0,04	2,97	4,07	0,26	0,11	0,15	**
A2B1-A2B2	3	0,04	3,12	4,25	0,31	0,11	0,16	**
A2B1-A3B2	4	0,04	3,21	4,36	0,31	0,12	0,16	**
A2B1-A1B2	5	0,04	3,27	4,45	0,32	0,12	0,16	**
A1B1-A2B2	2	0,04	2,97	4,07	0,05	0,11	0,15	NS
A1B1-A3B2	3	0,04	3,12	4,25	0,05	0,11	0,16	NS
A1B1-A1B2	4	0,04	3,21	4,36	0,06	0,12	0,16	NS
A2B2-A3B2	2	0,04	2,97	4,07	0,00	0,11	0,15	NS
A2B2-A1B2	3	0,04	3,12	4,25	0,01	0,11	0,16	NS

A3B2-A1B2	2	0,04	2,97	4,07	0,01	0,11	0,15	NS
-----------	---	------	------	------	------	------	------	----

Keterangan : * = Berpengaruh nyata ($P < 0,05$)

** = Berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$)

Ns = Berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$)

Superskrip

A1B3^a A3B3^a A2B3^b A3B1^c A2B1^d A1B1^e A2B2^e A3B2^e A1B2^e





KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PAYAKUMBUH
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN
LABORATORIUM UJI MUTU DAN ANALISIS

Jalan Raya Negara KM.7 Tanjung Pati Kode Pos 26271
Kecamatan Harau Kabupaten Lima puluh kota Sumbar
Telepon: (0752)77 54192- Faksimile: (0752)7750220
Surel :sekretariat@politanipyk.ac.id Laman : <http://politanipyk.ac.id>

Hasil Analisa

Tempat : Laboratorium Uji Mutu dan Analisis II
Sampel : Probiotik Campuran (*Lb Plantarum* N16 dan *Saccaromyces cerevisea*)
Waktu : 10 Agustus 2020 – 18 September 2020
Pemilik : Azizah (Mahasiswa Unand, Fak Peternakan Kampus II)

A. Uji Viabilitas Probiotik Campuran

Hasil pengukuran absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

Tabel 1. Uji Viabilitas (Campuran Probiotik (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevisea*) pada Media Alami)

Perlakuan	Ulangan	Absorbansi (0) (a)
A1B1.1	1	1,32
A1B1.2	2	1,32
A1B1.3	3	1,32
A1B2.1	1	2,23
A1B2.2	2	1,90
A1B2.3	3	1,68
A1B3.1	1	2,51
A1B3.2	2	2,17
A1B3.3	3	2,06
A2B1.1	1	0,75
A2B1.2	2	0,75
A2B1.3	3	0,75
A2B2.1	1	1,58
A2B2.2	2	1,76
A2B2.3	3	1,59
A2B3.1	1	2,16



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PAYAKUMBUH
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN

LABORATORIUM UJI MUTU DAN ANALISIS

Jalan Raya Negara KM.7 Tanjung Pati Kode Pos 26271

Kecamatan Harau Kabupaten Lima puluh kota Sumbar

Telepon: (0752)77 54192- Faksimile: (0752) 7750220

Surel :sekretariat@politanipyk.ac.id Laman : <http://politanipyk.ac.id>

A2B3.2	2	2,01
A2B3.3	3	2,63
A3B1.1	1	0,75
A3B1.2	2	0,75
A3B1.3	3	0,75
A3B2.1	1	1,57
A3B2.2	2	1,59
A3B2.3	3	1,68
A3B3.1	1	2,35
A3B3.2	2	2,25
A3B3.3	3	2,52

B. Uji Biomassa Sel Probiotik Campuran

Hasil centrifuge 4000 rpm selama 10 menit.

Tabel 2. Uji Biomassa Sel (Campuran Probiotik (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevisiae*) pada Media Alami)

Perlakuan	Ulangan	Biomassa Sel (mg/ml)
A1B1.1	1	20,00
A1B1.2	2	20,00
A1B1.3	3	20,00
A1B2.1	1	24,00
A1B2.2	2	23,00
A1B2.3	3	27,00
A1B3.1	1	14,00
A1B3.2	2	16,00
A1B3.3	3	22,00
A2B1.1	1	22,00
A2B1.2	2	22,00



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PAYAKUMBUH
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN
LABORATORIUM UJI MUTU DAN ANALISIS**

Jalan Raya Negara KM.7 Tanjung Pati Kode Pos 26271
Kecamatan Harau Kabupaten Lima puluh kota Sumbar
Telepon: (0752)77 54192- Faksimile: (0752) 7750220
Surel :sekretariat@politani.pyk.ac.id Laman : <http://politani.pyk.ac.id>

A2B1.3	3	22,00
A2B2.1	1	21,00
A2B2.2	2	20,00
A2B2.3	3	28,00
A2B3.1	1	9,00
A2B3.2	2	17,00
A2B3.3	3	22,00
A3B1.1	1	23,00
A3B1.2	2	23,00
A3B1.3	3	23,00
A3B2.1	1	21,00
A3B2.2	2	14,00
A3B2.3	3	23,00
A3B3.1	1	30,00
A3B3.2	2	51,00
A3B3.3	3	46,00

C. Uji pH Akhir Probiotik Campuran

Menggunakan pH meter.

Tabel 3. Uji Biomassa Sel (Campuran Probiotik (*Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevisiae*) pada Media Alami)

Perlakuan	Ulangan	pH Media	
		Awal	Akhir
A1B1.1	1	5,91	4,96
A1B1.2	2	5,91	4,96
A1B1.3	3	5,91	4,96
A1B2.1	1	5,20	4,35
A1B2.2	2	5,20	4,32
A1B2.3	3	5,20	4,27



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PAYAKUMBUH
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN
LABORATORIUM UJI MUTU DAN ANALISIS

Jalan Raya Negara KM.7 Tanjung Pati Kode Pos 26271
Kecamatan Harau Kabupaten Lima puluh kota Sumbar
Telepon: (0752)77 54192- Faksimile: (0752) 7750220
Surel :sekretariat@politanipyk.ac.id Laman : <http://politanipyk.ac.id>

A1B3.1	1	8,20	5,73
A1B3.2	2	8,20	5,74
A1B3.3	3	8,20	6,00
A2B1.1	1	5,91	4,70
A2B1.2	2	5,91	4,70
A2B1.3	3	5,91	4,70
A2B2.1	1	5,20	4,30
A2B2.2	2	5,20	4,32
A2B2.3	3	5,20	4,28
A2B3.1	1	8,20	6,01
A2B3.2	2	8,20	5,91
A2B3.3	3	8,20	6,04
A3B1.1	1	5,91	4,40
A3B1.2	2	5,91	4,40
A3B1.3	3	5,91	4,40
A3B2.1	1	5,20	4,33
A3B2.2	2	5,20	4,31
A3B2.3	3	5,20	4,27
A3B3.1	1	8,20	5,75
A3B3.2	2	8,20	5,89
A3B3.3	3	8,20	5,85

Tanjung Pati, 21 September 2020
Analisis Labor uji Mutu dan Analisa


Yulisnawati, A.Md
Nip. 197207151995122001

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian



Isolat Bakteri Asam Laktat
(*Lactobacillus* N16)



Ragi Roti Merk "Fermipan"
(*Saccharomyces cerevisiae*)



Peremajaan *Lactobacillus plantarum*
N16
Pada MRS-Broth
(Selama 24 jam pada suhu 37⁰C)



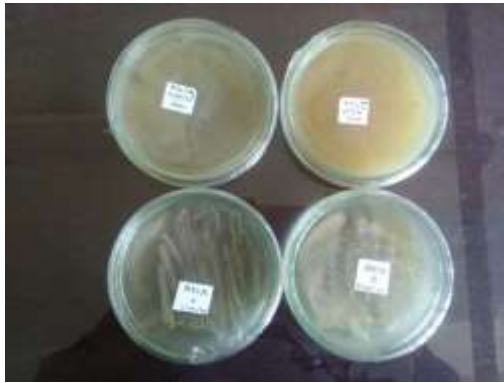
Peremajaan *Saccharomyces cerevisiae*
Pada PD-Broth
(Selama 24 jam pada suhu 37⁰C)



Inkubasi Peremajaan *Lactobacillus plantarum* N16 dan *Saccharomyces cerevisiae*



Penanaman *Lb* N16 pada MRS-A dan *Sc* pada PDA



**Verifikasi Pertumbuhan *Lb* N16
Pada Media MRS-Agar
(Setelah 24 jam pada suhu 37⁰C)**



**Verifikasi Pertumbuhan *Sc*
Pada Media PD-Agar
(Setelah 48 jam pada suhu 37⁰C)**



**Proses Penimbangan Media
Yang Digunakan**



Vortex



**Hasil Penggabungan *Lactobacillus*
N16 dan Ragi (LACTOBACILUS
PLANTARUM N16 DAN RAGI)
rasio 1:1, 1:2 dan 2:1**



**Inkubasi Penggabungan
LACTOBACILUS PLANTARUM
N16 DAN RAGI Pada Media MRS-
Broth
(Selama 24 jam pada suhu 37⁰C)**



**Proses Penanaman
LACTOBACILUS PLANTARUM
N16 DAN RAGI
pada media MRS-Broth**



**Proses Inkubasi Penggabungan
LACTOBACILUS PLANTARUM
N16 DAN RAGI dalam Inkubator**



**Proses Perhitungan Jumlah Koloni
menggunakan *Colony Counter***



Alat Sterilisasi Sederhana



**Atas : (Limbah air tahu, molases,
tpg.limbah ikan)
Bawah : (limbah air kelapa, tpg. onggok, tpg.
limbah udang)**



**Proses Penimbangan Media Alami
Alternatif Yang Digunakan**



Media Alami Alternatif



**Proses Pembiakan Penggabungan
LACTOBACILUS PLANTARUM
N16 DAN RAGI pada Media Alami
Alternatif**



**Proses Pengukuran pH
Menggunakan pH meter**



Inkubator



Proses Pengukuran Absorbansi



Proses Sentrifugasi



Proses Pemisahan antara supernatan dan pelet



Pelet (endapan) terbentuk setelah proses Sentrifugasi



Verifikasi LACTOBACILUS PLANTARUM N16 DAN RAGI yang tumbuh di Media Alami pada Media MRS-A



Proses Inkubasi Penggabungan LACTOBACILUS PLANTARUM N16 DAN RAGI dalam Inkubator



Proses Penimbangan Berat Awal Eppendorf



MRS-Agar, MRS-Broth, PDA, dan PDB

RIWAYAT HIDUP



Azizah adalah putri dari pasangan Bapak Ahmadison, S.Pd dan Ibu Yulnida, S.Pd, anak ketiga dari tiga bersaudara. Penulis dilahirkan pada tanggal 06 September 1996 di Bukittinggi. Penulis mengawali pendidikan di SD N 09 Guguak VIII Koto pada tahun 2009, kemudian melanjutkan ke MTsN Padang Japang dan selesai tahun 2012, lalu penulis melanjutkan studi ke SMA Negeri 1 Payakumbuh dan lulus pada tahun 2015. Di tahun yang sama melanjutkan pendidikan di Perguruan Tinggi Negeri melalui jalur SBMPTN pada tahun 2015 di Fakultas Peternakan Payakumbuh Universitas Andalas.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti organisasi UKS (Unit Kegiatan Seni) sebagai staff vokal tahun periode 2015/2016, kemudian mengikuti organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) sebagai sekretaris departemen advokesma tahun periode 2017/2018. Penulis juga mengikuti Pekan Olahraga Mahasiswa Universitas Andalas (POMNAND) ke-VI tahun 2018 dan menang sebagai juara satu bulutangkis tunggal putri. Kemudian di tahun yang sama mengikuti Pekan Olahraga Provinsi (PORPROV) XV Sumatera Barat sebagai juara dua beregu putri.

Penulis melaksanakan Program Kuliah Kerja Signifikan (KKN) pada tanggal 28 Juni 2018 sampai 8 Agustus 2018 di Nagari Pakan Rabaa, Kecamatan Pakan Rabaa, Kabupaten Solok Selatan selama 40 hari. Penulis juga melaksanakan Farm Experience dari tanggal 28 Desember 2018 sampai 06 Februari 2019 di beberapa Unit Usaha Peternakan yang ada di Payakumbuh.