

SKRIPSI_20820026_FADILLA EKA PRASASTI

by hafidernanda@gmail.com 1

Submission date: 02-Jul-2024 09:15AM (UTC+0530)

Submission ID: 2411489181

File name: SKRIPSI_20820026_FADILLA_EKA_PRASASTI.docx (2.52M)

Word count: 4602

Character count: 28603

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI NITRIFIKASI PADA SARANG BURUNG WALET (*Aerodramus maximus*)

Fadilla Eka Prasasti

ABSTRAK

Sarang burung walet merupakan sumber alami nitrit yang dihasilkan oleh bakteri dalam liur burung walet. Informasi terkait kandungan nitrit dan hidrogen peroksida dalam Sarang Burung Walet (SBW) di Indonesia belum terdokumentasi secara mendalam. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri penghasil nitrit yang ada dalam sarang burung walet. Penelitian ini menggunakan pendekatan deskriptif laboratorik dengan mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri dari 20 sampel sarang burung walet. Metode yang digunakan meliputi uji morfologi (pewarnaan Gram) dan uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri nitrifikasi tidak ditemukan dalam sarang burung walet (*Aerodramus maximus*), namun ditemukan bakteri *Bacillus megaterium* yang dikenal sebagai penghasil nitrit. Penemuan ini memberikan kontribusi penting dalam pemahaman lebih lanjut tentang komposisi mikrobiota dalam sarang burung walet, serta potensi penggunaan sarang burung walet sebagai sumber potensial untuk pengembangan produk yang terkait dengan kesehatan dan pangan.

KATA KUNCI : Sarang burung walet, Bakteri nitrit, Isolasi dan identifikasi, *Bacillus megaterium*, Mikrobiota sarang.

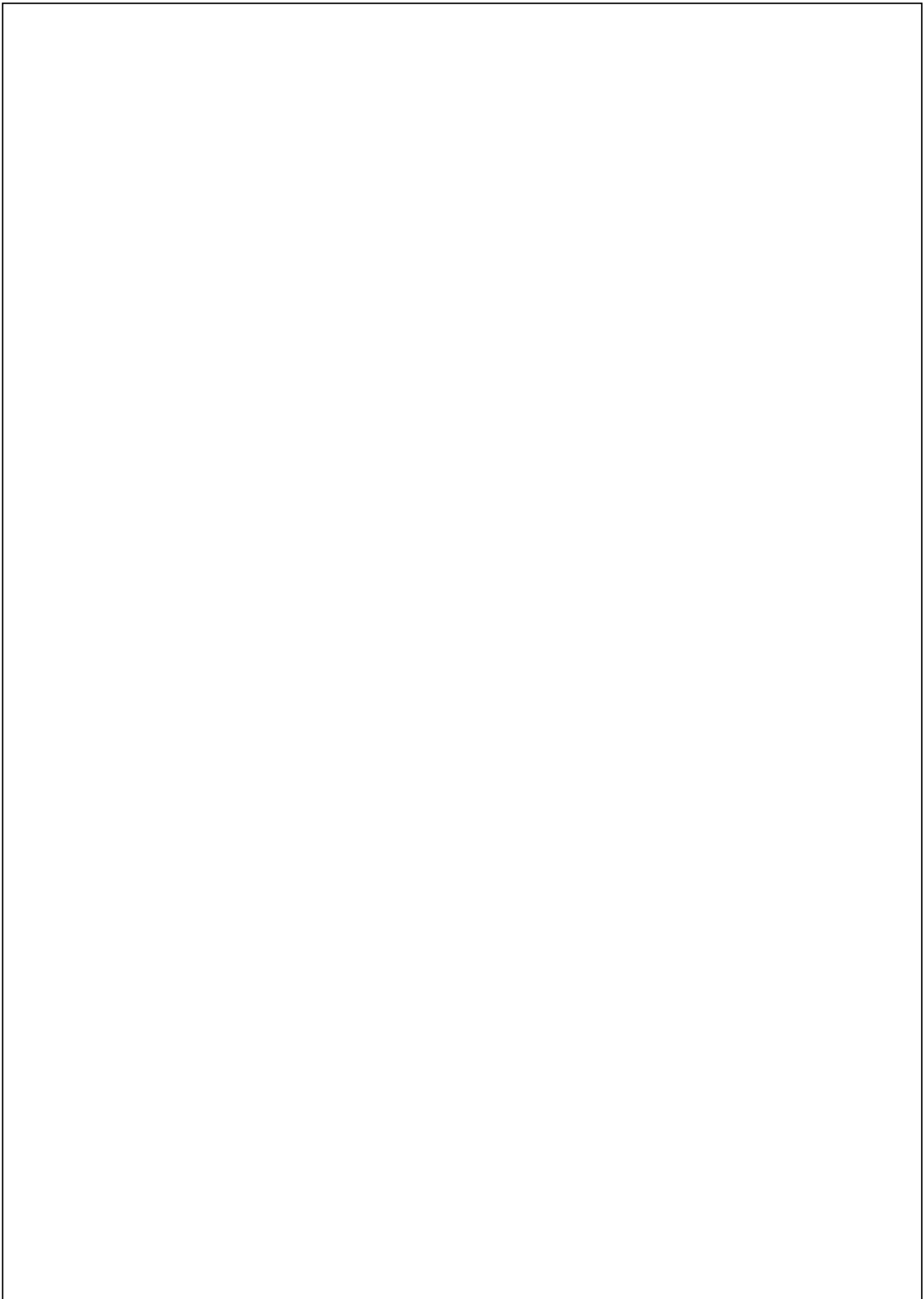
ISOLATION AND IDENTIFICATION OF NITRIFICATION BACTERIA IN Swallow Bird (*Aerodramus maximus*) NESTS

Fadilla Eka Prasasti

ABSTRAK

*The swiftlet nest is a natural source of nitrite produced by bacteria in the swiftlet's saliva. Information regarding nitrite and hydrogen peroxide content in Swiftlet Bird's Nest (SBW) in Indonesia has not been deeply documented. This study aims to identify nitrite-producing bacteria present in swiftlet nests. The research utilized a descriptive laboratory approach by isolating and identifying bacteria from 20 swiftlet nest samples. Methods included morphological tests (Gram staining) and biochemical tests. The research findings indicated that nitrifying bacteria were not found in swiftlet nests (*Aerodramus maximus*), but *Bacillus megaterium* bacteria known for nitrite production were identified. This discovery contributes significantly to understanding the microbiota composition in swiftlet nests, as well as the potential use of swiftlet nests as a source for the development of health-related and food-related products.*

KEYWORDS: *Swiftlet nest, Nitrite-producing bacteria, Isolation and identification, *Bacillus megaterium*, Nest microbiota.*



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nitrifikasi, denitrifikasi, dan reduksi nitrat adalah tiga proses biokimia penting dalam siklus nitrogen yang mengubah bentuk-bentuk nitrogen menjadi bentuk lain yang dapat digunakan oleh organisme atau dilepaskan kembali ke atmosfer. Nitrifikasi merupakan proses biologis saat amonia (NH_3) dioksidasi membentuk nitrit (NO_2^-) dan kemudian menjadi nitrat (NO_3^-). Denitrifikasi adalah proses anaerob di mana nitrat (NO_3^-) direduksi menjadi gas nitrogen (N_2) melalui beberapa tahapan antara, seperti nitrit (NO_2^-), *nitric oxide* (NO), dan *nitrous oxide* (N_2O). Reduksi nitrat mengacu pada proses di mana nitrat (NO_3^-) direduksi menjadi nitrit (NO_2^-) atau bahkan lebih jauh menjadi amonia (NH_4^+) atau gas nitrogen (N_2), tergantung pada kondisi lingkungan dan jenis mikroorganisme yang terlibat (Arnanda, 2023).

Bakteri nitrifikasi adalah kelompok bakteri yang dapat mengoksidasi amonia (NH_3) menjadi nitrit (NO_2^-) dalam proses yang dikenal sebagai nitrifikasi. Proses ini adalah bagian penting dari siklus nitrogen di lingkungan, terutama di tanah dan air. Bakteri ini memainkan peran vital dalam mengubah nitrogen yang dapat diakses oleh tanaman dan organisme lain, sehingga mendukung ekosistem dan pertanian. Bakteri penghasil nitrit yang paling umum dikenal adalah bakteri dari genus *Nitrosomonas* dan *Nitrosococcus* mereka termasuk dalam kelompok bakteri nitrifikasi yang melakukan tahap pertama nitrifikasi, yaitu oksidasi amonia menjadi nitrit (Stein and Klotz, 2016).

Sarang burung walet merupakan makanan asal hewan yang populer di kalangan masyarakat Tionghoa karena makanan super ini mempunyai rasa yang lezat dan berkhasiat tinggi nutrisi dan mereka yakin dapat meningkatkan kesehatan (Ningrum dkk., 2023). Sarang burung walet terkenal akan manfaat kesehatannya, tetapi jika dikonsumsi melebihi batas, dapat mengandung nitrit yang berbahaya bagi kesehatan masyarakat. ¹⁴ Sarang burung walet merupakan struktur mangkok yang dibuat dari liur burung walet. Meskipun ada sekitar 24 spesies burung walet, hanya empat spesies yang mampu membuat sarang dengan liur mereka yang dapat dimakan manusia (Saleh dkk., 2022).

⁶ Pengolahan sarang burung walet dapat mengurangi kandungan nitrit, tetapi dapat merusak struktur sarang dengan cara menghilangkan serat atau "kaki" sarang burung walet. Meskipun kedua produk ini memiliki kandungan gizi yang rendah, namun harganya lebih terjangkau. Oleh karena itu, diperlukan kajian untuk mengevaluasi ⁶ kandungan makronutrien dan nitrit pada setiap bagian sarang burung walet (Mulyadi dan Setyawan, 2021).

Nitrit adalah unit kimia yang terdiri dari nitrogen dan oksigen, yang membentuk bagian dari berbagai senyawa anorganik maupun organik. Senyawa ini berperan penting dalam siklus nitrogen di lingkungan dan dalam proses biologis (Amalia dkk., 2021). Nitrit adalah senyawa yang umum ditemukan di alam. ¹ Senyawa ini dapat hadir di atmosfer, air, tanah, mikroorganisme, dan tanaman (Ren dkk., 2018; Singh dkk., 2019). ¹ Pangan yang mengandung nitrit diketahui dapat berpotensi membahayakan kesehatan manusia karena dapat menyebabkan kematian jika dikonsumsi dalam konsentrasi yang tinggi (Cvetković dkk., 2019).

Salah satu bidang ilmu mikrobiologi adalah mempelajari ciri-ciri bakteri, oleh karena itu diperlukan isolasi dan identifikasi bakteri. Isolasi mikroorganisme melibatkan pemisahan satu jenis bakteri dari jenis bakteri lainnya dari campuran mikroorganisme yang berbeda untuk mendapatkan kultur murni. Identifikasi mikroba melibatkan penentuan karakteristik morfologi, biokimia dan molekuler bakteri (Putri dan Kusdiyantini, 2018). Sarang burung walet sendiri menghasilkan nitrit yang bersumber dari bakteri di dalam liur burung walet maka diperlukan isolasi dan identifikasi bakteri apa saja yang menjadi penghasil nitrit. Informasi tentang **kandungan nitrit dan hidrogen peroksida dari produk Sarang Burung Walet (SBW) di Indonesia belum pernah dilaporkan sebelumnya** (Ningrum, 2021). Oleh karena itu, penelitian ini **bertujuan untuk** mengidentifikasi bakteri yang banyak menghasilkan nitrit.

8 **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

Apakah bakteri yang diisolasi merupakan bakteri nitrifikasi?

1.3 Tujuan Penelitian

Dalam tujuan mengidentifikasi secara alamiah tentang bakteri apa saja yang termasuk bakteri nitrifikasi yang ada di sarang burung walet. Selain itu juga bertujuan agar meningkatkan kemampuan mahasiswa S1 Pendidikan Dokter Hewan dalam meneliti di bidang Kedokteran Hewan khususnya isolasi dan identifikasi suatu bakteri. Penelitian ini khususnya bertujuan sebagai syarat kelulusan mahasiswa S1 Pendidikan Dokter Hewan.

1.4 Hipotesis

Berdasarkan pada rumusan dalam penelitian ini maka hipotesis dari penelitian ini merupakan sebagai berikut:

H-0: Bakteri yang diisolasi bukan merupakan bakteri nitrifikasi

H-1: Bakteri yang diisolasi merupakan bakteri nitrifikasi

1.5 Manfaat Penelitian

Meningkatkan kemampuan mahasiswa S1 Pendidikan Dokter Hewan dalam meneliti di bidang Kedokteran Hewan khususnya isolasi dan identifikasi suatu bakteri dengan metode fenotipe. Penelitian ini diharapkan dapat mengungkap informasi mengenai jenis bakteri yang berperan sebagai produsen nitrit dalam sarang burung walet.

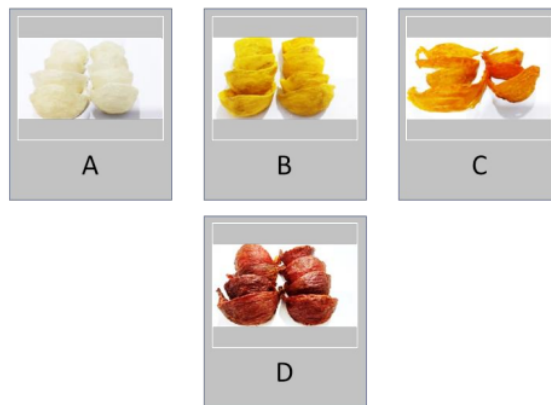
I. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sarang Burung Walet

Sarang burung walet yang dikenal juga sebagai edible bird nest, adalah struktur yang terbentuk dari padatan air liur burung walet (Fiqri., 2022). Sarang burung walet terbentuk dari sekresi berprotein tinggi yang berasal dari air liur di bawah lidah walet kemudian mengeras yang membentuk mangkukan dan menempel di langit-langit gua maupun bangunan serta memiliki nilai harga jual yang tinggi. Sarang burung walet memiliki berat berkisar antara 6 – 10 gram, didalamnya terkandung asam amino, 60% protein, 25% karbohidrat, 10% mengandung air dan mengandung beberapa mineral seperti fosfor, kalsium, sulfur, dan potassium. Sarang burung walet memiliki asam amino tinggi dan 9 senyawa aktif asam oktadekanoat dan asam heksadekanoat yang berperan dalam menghambat kanker, mencegah anti inflamasi, menurunkan kadar kolesterol, bahan pelarut vitamin A, D, E, dan K yang dapat menstimulasi kinerja enzim sehingga dapat mengaktifkan kinerja metabolisme di dalam tubuh (Kristiana dan Prasaja, 2023).

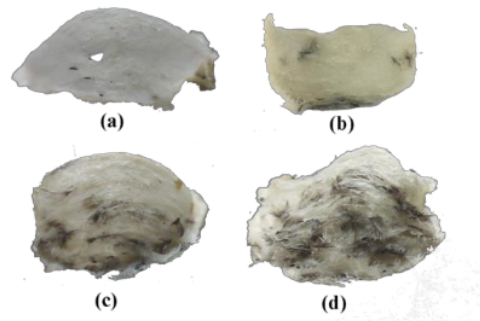
Sarang burung walet umumnya dibangun oleh walet jantan dalam rentang waktu 35 hingga 90 hari, dengan perkiraan berat antara 7 hingga 20 gram (Sirenden, dkk., 2018). Bentuk struktur dari sarang burung walet yang paling umum di temui adalah berbentuk setengah mangkuk, berserat panjang, dan remahan (Kurniawan, dkk., 2021). Bentuk struktur sarang burung walet yang merupakan setengah mangkuk memungkinkan dinding sarang tetap kuat dan kokoh (Jamalluddin dkk., 2019). Sarang walet sendiri berbentuk setengah mangkuk ukuran panjang 7 – 9.5 cm, lebar 2.8 - 3.8, tinggi 1.2 – 2.1 cm, dan berat 5 – 10 gram (Daud dkk., 2021).

Sarang burung walet umumnya berwarna putih, meskipun ada juga sarang burung walet yang memiliki warna merah atau hitam. Sarang burung walet putih hampir keseluruhan terbuat dari air liur dan banyak ditemukan di rumah produksi walet. Sarang burung walet merah mempunyai khasiat tinggi serta juga harga yang tertinggi di pasaran. Sedangkan sarang burung walet hitam terdiri dari 45-55% bulu dan hanya di panen di gua-gua (Leedkk., 2021). Menurut (Ningrum, 2022) kandungan nitrit dalam SBW berbagai warna juga diperiksa. SBW berwarna putih, kuning, merah, dan oranye. Uji Tukey HSD menunjukkan bahwa kandungan nitrit pada SBW kuning, merah darah, dan oranye secara signifikan lebih tinggi 30 kali lipat dibandingkan dengan SBW putih. Apalagi SBW berwarna oranye mengandung kadar nitrit pada kelompok ini. Kadar nitrit pada kelompok SBW oranye tidak berbeda nyata dengan kelompok SBW merah dan kuning.



Gambar 2.1. A. Sarang Putih, B. Sarang Kuning, C. Sarang Oranye, D.Sarang Darah (Ningrum, 2022)

Dilihat dari jumlah bulunya, sarang burung walet dibedakan menjadi gundul, ringan, sedang, dan berat. Setiap industri dapat memiliki Standar Operasional Prosedur (SOP) berbeda. Sebagai gambaran, industry A dapat menerima semua jenis bahan baku baik bentuk maupun jumlah bulunya. Namun industry B, SOP nya bisa berbeda, hanya mengambil sarang burung berbentuk cangkir dengan bulu yang tipis. Tidak ada yang salah dengan kedua jenis industry ini (Merino dkk., 2017)



Gambar 2.2. a) Sarang Burung Bulu Gundul, b) Sarang Burung Bulu Ringan, c) Sarang Burung Bulu Sedang, d) Sarang Burung Bulu Tebal (Ningrum dkk., 2023).

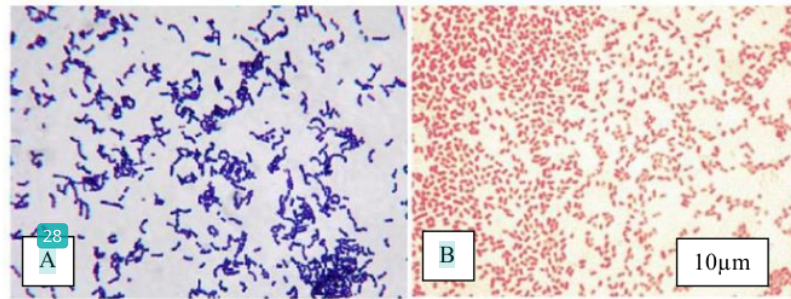
2.2 Bakteri penghasil nitrit

Nitrit dapat menjadi zat yang berbahaya karena mampu menyebabkan methemoglobinemia, yang mengganggu transportasi oksigen dalam tubuh dan menyebabkan kesulitan bernafas. Selain itu, nitrit bereaksi dengan asam kuat di dalam perut untuk membentuk nitrosamin, yang merupakan senyawa karsinogenik yang kuat seperti karsinogen N-nitrosamin. Nitrosamin dapat meningkatkan risiko kanker kolorektal (Saputro dkk., 2016). Kontaminasi nitrit pada sarang burung walet terjadi terutama ketika sarang masih berada di habitat alaminya (Utomo dkk., 2018).

Bakteri nitrifikasi banyak ditemukan di alam, terutama di tanah. Studi pada tanah gambut mengidentifikasi lima genus bakteri nitrifikasi, yaitu *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrosococcus*, dan *Nitrocystis*. (Kiding dkk., 2015). Pengecekan kadar nitrit pada bahan baku diperlukan untuk mengetahui kadar nitrit sebelum dicuci. Kadar nitrit yang terlalu tinggi pada bahan baku akan menyebabkan pengerjaan ulang. Teknik mencuci dengan air yang mengalir selama beberapa detik pada akhirnya tidak dapat menurunkan kadar nitrit (Yusufdkk, 2020). Oleh karena itu, penilaian bahan baku efektif mengatasi kadar nitrit yang tinggi. Hal ini dapat menghilangkan bahan baku yang tidak memenuhi standar industri untuk memenuhi kebutuhan pasar. Sistem perhitungan ini akan menentukan harga pasar SBW (Jamaluddin dkk, 2019).

2.3 Isolasi dan Identifikasi

Salah satu bidang ilmu mikrobiologi adalah mempelajari ciri-ciri bakteri, sehingga perlu dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri. Isolasi mikroorganisme melibatkan pemisahan satu jenis bakteri dari jenis bakteri lainnya dari campuran mikroorganisme yang berbeda untuk mendapatkan kultur murni. Identifikasi mikroba membawa penentuan karakteristik morfologi, biokimia dan molekuler bakteri (Putri dan Kusdiyantini, 2018). Salah satu metode untuk mengklasifikasikan bakteri adalah dengan menggunakan pewarnaan gram, di mana bakteri dapat dibagi menjadi dua kelompok: bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif biasanya menunjukkan warna merah atau merah muda setelah proses pewarnaan, sementara bakteri gram positif biasanya menunjukkan warna ungu atau biru (Naue, dkk.,2022).



Gambar 2.3 A. Bakteri Gram Positif B. Bakteri Gram Negatif

Pewarnaan bertujuan untuk memfasilitasi pengamatan bakteri di bawah mikroskop dengan lebih jelas. Hal ini mencakup memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, mengungkap struktur luar dan internal seperti dinding sel dan vakuola, menyoroti sifat-sifat kimia yang khas dari bakteri melalui zat warna yang digunakan, serta meningkatkan kontras antara mikroorganisme dengan lingkungannya sekitarnya (Virgianti dan Luciana, 2017).

Dalam proses pewarnaan gram, Bakteri yang telah difiksasi diberi perlakuan berurutan dengan larutan-larutan berikut: kristal violet untuk pewarnaan, larutan yodium untuk mengikat pewarna, larutan alkohol sebagai bahan pemucat, dan akhirnya zat pewarna safranin atau air fuchsin untuk menunjukkan bakteri yang telah terwarnai. Bakteri Gram positif akan tetap berwarna ungu setelah proses ini karena mempertahankan kristal violet, sementara bakteri gram negatif akan kehilangan warna ungu setelah larutan safranin atau air fuchsin diberikan (Susanto, 2016).

2.4 Uji Biokimia

Uji biokimia bakteri adalah metode atau prosedur yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi suatu kultur murni bakteri yang diisolasi, berdasarkan sifat-sifat fisiologisnya (Rahayu dan Gumilar, 2017). Proses ini melibatkan serangkaian uji seperti uji aerobik, uji glukosa, uji indol, uji katalase, uji oksidase, uji pigmen, uji OF medium, uji reduksi nitrat, dan uji VP (Santi dkk, 2014). Uji fermentasi gula-gula bertujuan untuk mengamati kemampuan bakteri dalam mengubah berbagai jenis gula menjadi asam, seperti glukosa, maltosa, laktosa, arabinosa, sorbitol, dan mannitol. Perubahan dari warna dasar (merah) media gula menjadi warna kuning menunjukkan penurunan pH akibat produksi asam (Irwansyah, 2018).

Uji indol dilakukan untuk menguji kemampuan suatu organisme dalam mendegradasi asam amino triptofan dan menghasilkan indol. Hasil positif dari uji ini ditunjukkan oleh pembentukan lapisan merah di atas media setelah penambahan reagen indol, sedangkan hasil negatifnya ditunjukkan oleh tidak adanya perubahan warna atau tetapnya warna media kuning setelah penambahan reagen indol (Hidayah dkk., 2022).

Uji urea menilai kemampuan bakteri untuk memecah urea menjadi amonia dan karbon dioksida dengan enzim urease. Bakteri menghasilkan enzim urea (urea positif) jika medium berubah warna menjadi merah atau perubahan warna media menjadi merah muda (alkali) menunjukkan produksi amonia, sedangkan urea negatif jika medium tidak berubah warna (Sulistiyono dan Mutiara, 2022).

Uji *Simmon's citrate* (uji sitrat) bertujuan untuk menentukan apakah bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber karbon. Bakteri yang mampu memanfaatkan sitrat akan menggunakan garam amonium dan menghasilkan

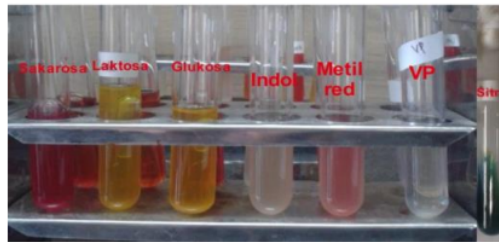
amonia. Proses ini menghilangkan asam dari medium, yang pada gilirannya meningkatkan pH. Perubahan ini mengubah warna medium dari hijau menjadi biru (Putri, 2016). Hasil positif dari uji ini ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi biru, menandakan bahwa bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Sedangkan hasil negatifnya ditunjukkan oleh tidak adanya perubahan warna atau tetapnya warna hijau pada medium (Sari dkk., 2018).

Uji *triple sugar iron agar* (TSIA) digunakan untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan gas, serta hidrogen sulfida (H₂S) atau tidak. Media TSIA terdiri dari dua bagian: slant miring dan butt tusuk. Reaksi spesifik seperti yang terjadi pada bakteri *Salmonella* pada TSIA adalah sebagai berikut: pada bagian slant, jika bakteri menghasilkan H₂S, akan terbentuk warna hitam yang menutupi warna dasar agar. Reaksi alkalin (basal) ditunjukkan dengan warna merah pada slant. Bakteri dapat atau tidak dapat menghasilkan gas dalam medium ini (Sari dkk., 2018).

Uji Oksidatif-fermentatif (O/F) bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri mampu melakukan fermentasi karbohidrat dalam kondisi anaerob. Hasil oksidatif dari uji ini ditunjukkan dengan perubahan warna pada bagian atas tabung media dari hijau menjadi kuning. Sedangkan hasil fermentatif ditunjukkan dengan perubahan warna pada seluruh bagian atas tabung media dari hijau menjadi kuning (Sinubu dkk., 2022).

Tabel 1: Perbedaan hasil uji fenotipe Gram positif (+) dan gram negatif (-)

| NO | Perbedaan | Hasil | |
|-----|------------------------------|--|--|
| | | Gram positif (+) | Gram Negatif (-) |
| 1. | Pewarnaan gram | Berwarna ungu atau biru | Berwarna merah muda atau merah |
| 2. | Uji Indol | Cincin merah muncul | Tidak ada perubahan warna |
| 3. | Urea | Warna merah muda pada medium urea | Tidak ada perubahan warna |
| 4. | Sitrat | Warna biru pada medium Simmons citrate | Tidak ada perubahan warna |
| 5. | TSIA | Warna hitam di bagian bawah tabung | Tidak ada warna hitam |
| 6. | O/F | Warna biru muncul pada strip oksidase | Tidak ada perubahan warna |
| 7. | Fermentasi Gula-gula Glukosa | Medium akan berubah warna menjadi kuning | Medium akan tetap berwarna merah atau oranye |
| 8. | Laktosa | Medium akan berubah warna menjadi kuning | Medium akan tetap berwarna merah atau oranye |
| 9. | Sukrosa | Medium akan berubah warna menjadi kuning | Medium akan tetap berwarna merah atau oranye |
| 10. | Maltosa | Medium akan berubah warna menjadi kuning | Medium akan tetap berwarna merah atau oranye |
| 11. | Manitol | Medium akan berubah warna menjadi kuning | Medium akan tetap berwarna merah atau oranye |



⁴⁰ **Gambar 2.4** Hasil uji Biokimia bakteri *Escherichia coli* Gram negatif (Rahayu dan Gumilar, 2017).



Gambar 2.5 Hasil uji Biokimia bakteri *Lactobacillus* sp Gram positif (Raharja dkk., 2023)

³ 2.5 *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)*

³ *KEGG* merupakan koleksi database yang mencakup informasi tentang genom, pathway biologi, penyakit, obat, dan bahan kimia. Database ini digunakan untuk keperluan riset dan pengajaran bioinformatika, termasuk analisis data dalam genomika, metagenomika, metabolomika, dan studi omika lainnya. Selain itu, *KEGG* juga dimanfaatkan untuk merancang ²⁴ model dan simulasi dalam sistem biologi, serta untuk mendukung riset translasional dalam pengembangan obat. Penggunaan *KEGG* ini sebagai sumber informasi lebih lanjut mengenai hasil spesifik pada penelitian bakteri nitrifikasi ini.

II. ¹ MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian skripsi di lakukan di labolatorium Badan Riset dan Inovasi Nasional(BRIN) dan Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis Universitas IPB. Penelitian berlangsung pada bulan 10 Juni – 01 Juli 2024.

⁸ 3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan yaitu *gloves*, *nurse cap*, tisu, kapas, plastik klip 2 kg dan 1 kg, *cotton swab*, sendok plastik, marker permanen, label, gunting, *cutter*, falcon ukuran 50 ml, *coolbox*, *ice gell*, karet, incubator, erlenmeyer, bunsen, mikropipet, neraca analitik, autoklaf, cawan petri, *hot plate*, dan PH meter, ³⁹ jarum ose lurus dan jarum ose bulat, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *cell spreader*, mikroskop, kaca objek dan kaca penutup.

⁸ 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang dipakai yaitu media *triptic soy agar* (TSA) media nitrifikasi cair dan padat, aquadest, air, etanol / alcohol, sarang burung walet seriti, larutan kristal violet, larutan lugol, safranin, oil imersi, media agar dan cair; glukosa, laktosa, sukrosa, maltosa, manitol, indol, urea, sitrat, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), oksidase-fruktosa (OF), dan gliserol.

1

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian metode deskriptif labolatorik yakni penelitian bertujuan untuk mengetahui informasi secara alamiah tentang bakteri yang diisolasi dari sarang burung walet.

17

3.3.2 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas, variabel terikat dan variabel kontrol.

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah bakteri nitrifikasi
2. Variabel terikat dalam penelitian ini ialah sarang burung walet
3. Variabel kontrol adalah variabel kendali yaitu lingkungan sekitar sarang burung walet

3.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel yang di gunakan sarang burung walet. Sarang burung walet yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 20 sampel sarang walet, koleksi sampel akan dilakukan secara *random sampling*. Sampel yang dipakai berupa sarang walet di ambil dari rumah burung walet di Sumedang.

3.4 Tahap Penelitian

3.4.1 Persiapan Sempel

Tahap **persiapan sampel** yaitu menyiapkan sarang burung walet putih yang telah di ambil dari rumah burung walet kemudian ditimbang seberat 500 gram dan siapkan media spesifik (media nitrifikasi) cair dalam falkon 15 ml untuk isolasi bakteri penghasil nitrit. Sampel sarang burung walet yang sudah ditimbang dimasukkan pada Falkon yang mengandung 15 mL media nitrifikasi cair dan dihomogenisasi. Suspensi dikultur selama 7 hari dalam media nitrifikasi cair dengan pH 7,8 suhu 28°C dan kecepatan 130 rpm.

3.4.2 Pembuatan Media Spesifik (Media Nitrifikasi)

Tahapan dalam membuat media nitrifikasi langkah pertama adalah siapkan tabung erlenmeyer, aquades sebanyak 1 liter dan Setiap 1000 mL media spesifik mengandung: 2 g amonium sulfat, 0.5 g natrium karbonat, 0.5 g dikalium fosfat, 50 mg magnesium (II) sulfat heptahidrat, 5 mg kalsium klorida dihidrat, 2 mg mangan sulfat tetrahydrae, 0.2 g EDTA, 0,18 g Besi(II) sulfat 0.1 mg Tembaga sulfat pentahidrat, 0.05 mg natrium molybdate, 0.001 mg cobalt chloride hexahydrate, 0.1 mg zinc sulfate heptahydrate, dan 0.5 g glukosa. Semua bahan ditimbang sesuai takaran dan selanjutnya ditambahkan aquades sebanyak 1 liter homogenkan dengan *hot plate* dan dilakukan pengecekan PH hingga mencapai 7,8 setelah media mencapai PH yang telah diinginkan, media dipanaskan hingga bahan-bahan media nitrifikasi yang berbentuk serbuk homogen dengan aquades, setelah larut sumbat tabung yang berisi media nitrifikasi dan lanjut diautoklaf selama dua jam media siap digunakan.

3.4.3 Isolasi Bakteri Penghasil Nitrit

Sampel diencerkan hingga 10^{-6} dan diambil 8 mL suspensi dari pengenceran ke 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-6} dituang pada cawan petri berisi media nitrifikasi padat tersebut dan diratakan di seluruh permukaan media agar menggunakan penyebar. Bakteri ²⁶ diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30 °C. Setelah itu dilakukan perhitungan bakteri dan, dilanjutkan dengan pengulturan bakteri ke media umum seperti TSA. Isolat murni yang digunakan untuk uji selanjutnya.

3.4.4 Uji Morfologi Media Selektif Nitrifikasi (Pewarnaan Gram)

Isolat yang diperoleh akan diamati secara morfologis dan dilakukan ⁵ pewarnaan gram. Salah satu metode untuk mengidentifikasi kelompok bakteri adalah dengan melakukan pewarnaan Gram. Langkah-langkahnya dimulai dengan mengambil isolat bakteri yang telah tumbuh dari media TSA menggunakan ose atau loop steril. Selanjutnya, isolat bakteri tersebut ditempatkan di atas gelas objek untuk membuat preparat ulas. Setelah itu, preparat tersebut difiksasi dengan mengarahkan ke api bunsen untuk mengamankan bakteri pada gelas objek.

Setelah proses fiksasi preparat bakteri ditetesi dengan larutan kristal violet ⁷ dan didiamkan selama satu menit. Kemudian, preparat dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya, larutan lugol ditetesi ke preparat dan didiamkan selama satu menit lagi, kemudian dicuci lagi dengan air mengalir. Setelah itu, preparat dikeringkan. Langkah berikutnya ³⁸ preparat ditetesi dengan alkohol 96% hingga warna ungu dari larutan kristal violet hilang. Preparat kemudian dibasuh ¹³ dengan air mengalir. Setelah itu, preparat ditetesi dengan larutan safranin dan didiamkan selama satu menit.

Preparat kemudian dicuci kembali dengan air mengalir dan dikeringkan.

Preparat yang sudah dikeringkan kemudian diamati di bawah mikroskop menggunakan minyak imersi untuk melihat struktur dan sifat pewarnaan bakteri yang teridentifikasi. Isolat yang menunjukkan Gram negatif akan diuji secara biokimia.

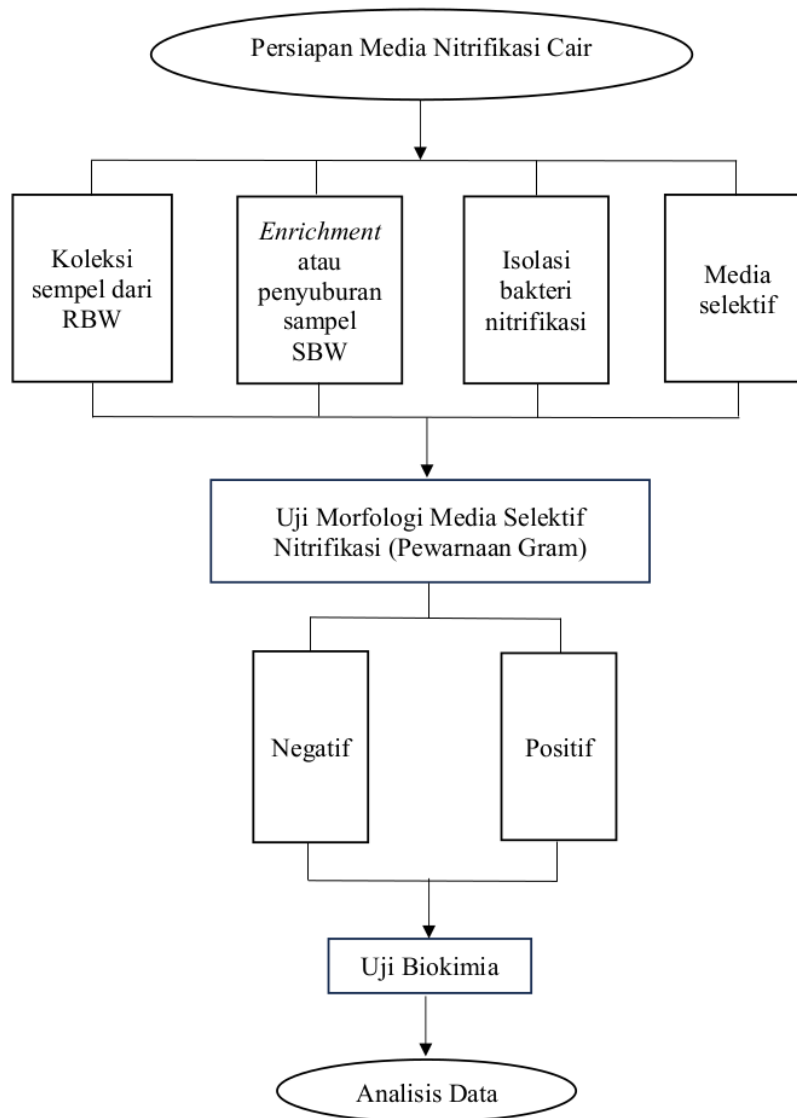
3.4.5 Uji Biokimia

Pengujian biokimia dilakukan dengan mempersiapkan api bunsen, ose lurus dan bulat, tabung reaksi sebanyak 11 buah yang berisikan bahan media padat, media miring, dan media cair yang mengandung nutrisi untuk mendukung pertumbuhan bakteri uji fermentasi gula yaitu, glukosa, laktosa, sukrosa, maltosa, manitol, indol, urea, sitrat, TSIA, OF, uji katalase, dan uji gliserol. Bakteri ditanam pada 11 media di dekat api bunsen kemudian inkubasi selama 48 jam lakukan pengamatan dan mulai mencatat perubahan yang didapat dilanjutkan dengan menganalisis data yang didapat.

3.4.5 Uji ³ *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)*

Pengujian *KEGG* dilakukan dengan membuka browser web dan kunjungi situs resmi *KEGG*. Di halaman utama *KEGG*, kemudian akan menemukan beberapa pilihan untuk menjelajahi basis data, seperti *KEGG PATHWAY*, *KEGG GENOME*, *KEGG COMPOUND*, dan lain sebagainya sesuai dengan kebutuhan. Untuk mencari informasi tentang gen atau protein, pilih *KEGG GENOME*, setelah memilih hasil pencarian, web akan mengarahkan ke halaman yang berisi informasi detail mengenai jenis bakteri yang dicari.

3.4 Kerangka Prosedur Penelitian



3.6 Analisis statistika

Semua hasil dalam penelitian ini akan dianalisis secara deskriptif menggunakan tabel dan gambar.

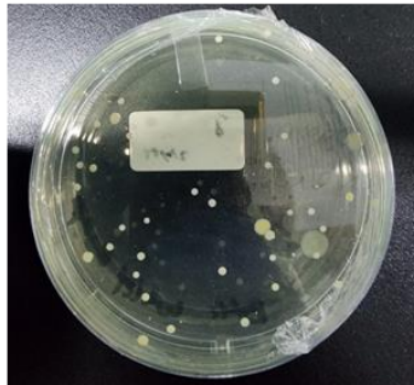
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Sebanyak 20 sampel sarang burung walet yang di isolasi dan identifikasi dengan uji morfologi (pewaranaan Gram), dan uji biokimia.

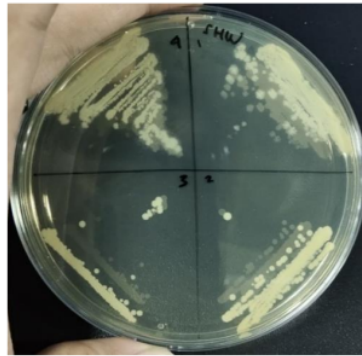
4.1.1 Hasil Isolasi Bakteri Nitrifikasi

Berdasarkan dari hasil penelitian, sampel yang berasal dari 20 sarang burung walet yang terdiri 10 sampel sarang burung walet hitam campuran (sampel SHW) dan 10 sampel sarang burung walet putih campuran (sampel SPW) yang dipakai untuk isolasi dan identifikasi bakteri nitrifikasi. Pengisolasian bakteri telah tumbuh kemudian media diseleksi dan dipilih pengenceran 10^{-3} yang terdapat banyak bakteri tumbuh kemudian dipindahkan pada media umum TSA. Berikut merupakan salah satu hasil penanaman sampel SHW pada media nitrifikasi dan peminadahan media umum TSA pada penelitian yang telah dilakukan:



Gambar 4.1 hasil penanaman sampel bakteri SHW pada media nitrifikasi

Pemindahan sampel SHW pada media umum dengan mengambil bakteri yang tumbuh dari media nitirifikasi bertujuan memperbanyak jumlah bakteri yang tumbuh sehingga memudahkan dalam melakukan uji pewarnaan Gram dan uji biokimia.

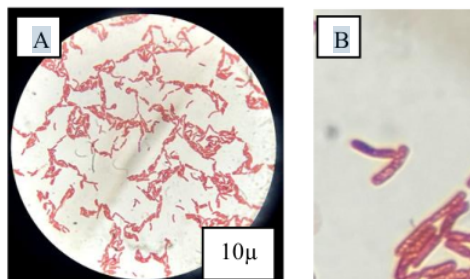


Gambar 4.2 hasil penanaman sampel bakteri SHW pada media umum TSA

Pada gambar di atas menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri yang di isolasi. Bakteri yang di isolasi dari sarang burung walet dapat tumbuh dalam inkubator bersuhu 28°C dan kemudian dapat dilakukan dengan uji morfologi .

4.1.2 Hasil Pewarnaan Gram

Sampel sarang burung hitam campuran (SHW) yang sudah melalui isolasi dan proses media selektif selanjutnya di bawa menuju lap ipb dan di uji pewarnaan Gram.



Gambar 4.3 Hasil pewarnaan Gram sampel SHW A. Bakteri di bawah mikroskop perbesaran 100x, B. Bakteri zoom

Pada penelitian yang dilakukan terlihat hasil yang didapat dari pewarnaan gram dan yang di lihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x termasuk ke dalam jenis bakteri gram Positif berbentuk basil di tandai dengan warna ungu khas dari pewarnaan Gram ini terjadi karena peptidoglikan yang tebal mampu mempertahankan pewarna kristal violet selama proses pewarnaan Gram.

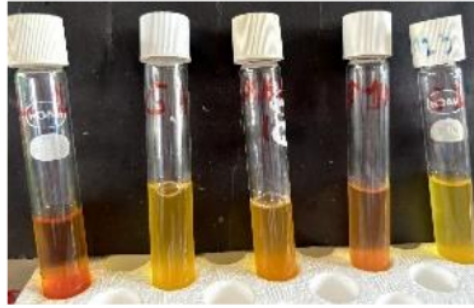
4.1.3 Hasil Uji Biokimia

Pengujian biokimia yang dilakukan di dapatkan beberapa hasil yang berbeda dari setiap pengujian seperti uji fermentasi gula-gula, uji urea, sitrat, indol, motilitas, dan TSIA. Berikut adalah beberapa hasil perbandingan dengan penelitian terdahulu yang di dapat setelah melakukan beberapa pengujian biokimia:

Tabel 4.1 Hasil Uji Biokimia pada Bakateri *Priestia Megaterium*

| Pengujian | <i>Priestia Megaterium</i> Hasil Penelitian | <i>Priestia Megaterium</i> (Pishchik et al., 2021) |
|------------------|--|---|
| Uji sitrat | (+) | + |
| Uji urease | + | + |
| Uji indol | - | - |
| Motilitas | + | + |
| Uji TSIA: | | |
| H ₂ S | - | - |
| Gas | + | + |
| Uji gula-gula: | | |
| Glukosa | + | + |
| Maltosa | + | + |
| Sukrosa | + | + |
| Manitol | + | + |
| Laktosa | + | + |

Pada pengujian biokimia di atas hasil penelitian menunjukkan penelitian yang dilakukan dan (Pishchik et al., 2021) menunjukkan penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa *Priestia megaterium* merupakan bakteri yang didapat dari pengisolasi dan identifikasi.



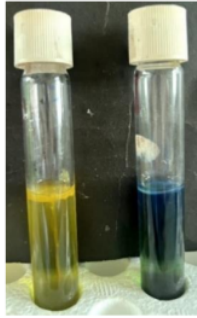
Gambar 4.4 Uji fermentasi gula-gula Maltose, Glukosa, Laktosa, manitol, dan sukrosa.

Uji fermentasi gula-gula dilakukan dengan menguji glukosa, laktosa, sukrosa, maltosa, dan manitol. Hasil positif dari setiap uji fermentasi gula-gula ditandai dengan perubahan warna media menjadi kuning. Perubahan ini mengindikasikan bahwa bakteri mampu mengubah karbohidrat menjadi asam, yang menyebabkan penurunan pH dalam media.



Gambar 4.6 Urea Gram positif (+)

Uji urease yang dilakukan mendapatkan hasil positif di tandai dengan medium yang berubah warna menjadi merah muda (alkali) menunjukkan produksi amonia, urea menilai kemampuan bakteri untuk memecah urea menjadi amonia dan karbon dioksida dengan enzim urease.



Gambar 4.7 Indol Gram negatif (-), Motilitas Gram positif (+)

Uji indol yang dilakukan mendapatkan hasil negatif di tandai dengan tidak adanya perubahan warna dapat dilihat dari warna yang tetap berwarna kuning, sedangkan motilitas menunjukan adanya perubahan warna menjadi lebih keruh di seluruh atau sebagian besar area, menunjukkan bakteri motil.



Gambar 4.9 triple sugar iron agar TSIA

Pengujian *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) yang sudah dilakukan mendapatkan hasil perubahan pada kandungan gas dengan hasil positif (+) di tandai dengan adanya gelembung pada gelas reaksi dan *hidrogen sulfida* (H_2S) mendapatkan hasil negatif (-) H_2S merupakan gas yang tidak berwarna, beracun, mudah terbakar.

Acid/Acid fermentasi glukosa dan laktosa atau sukrosa terjadi warna medium berubah menjadi kuning pada *slant* dan *butt*, dapat disimpulkan bahwa

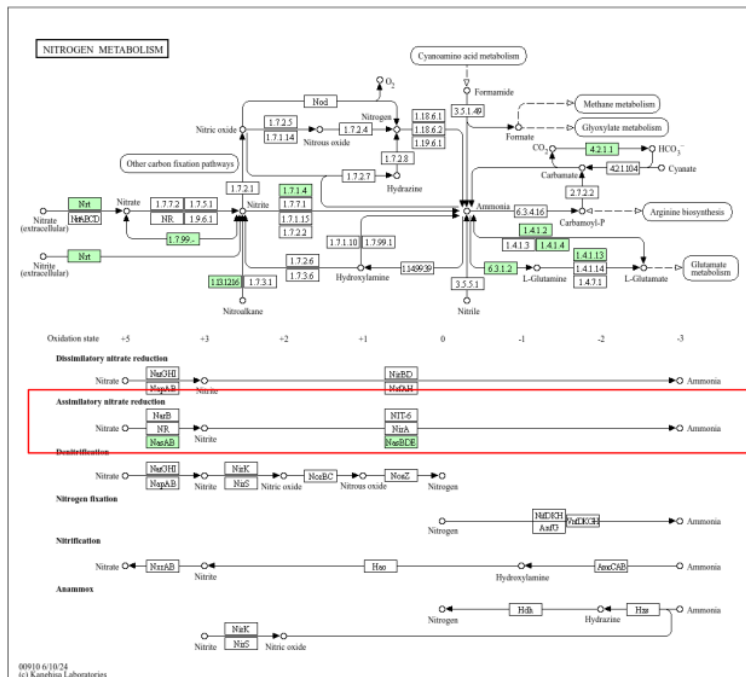
pada media yang di tes menghasilkan gas, tidak menghasilkan *Hidrogen sulfida* (H_2S), dan dapat dilihat bahwa terjadi perubahan warna menandakan hasil A/A.



Gambar 4.5 Uji Sitrat Gram negatif (-)

Uji sitrat yang dilakukan mendapatkan hasil positif di tandai dengan adanya perubahan warna yang ditunjukkan dengan media menjadi biru dan menandakan penggunaan sitrat.

3
4.1.4 Hasil Uji *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG)



Pada pengujian kegg di dapatkan bahwa *Prietia megaterium* termasuk kedalam bakteri reduksi nitrid yang mengubah nitrat menjadi nitrit kemudian diubah kembali menjadi amonia.

4.2 ⁶ Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian pada sarang burung walet yang sudah di isolasi dan identifikasi tidak ditemukan adanya bakteri nitrifikasi tetapi bakteri reduksi nitrit yang sudah dilakukan pengecekan dengan KEGG merupakan proses di mana nitrat (NO_3^-) direduksi menjadi nitrit (NO_2^-) bahkan lebih jauh menjadi amonia (NH_4^+) atau gas nitrogen (N_2), tergantung pada kondisi lingkungan dan jenis mikroorganismenya yang terlibat. Beberapa pengujian yang dipilih di dapatkan bakteri jenis *Priestia megaterium* (sebelumnya dikenal sebagai *Bacillus megaterium* (Gupta et al. 2020) Nama *priestia* diambil dari nama ahli mikrobiologi Inggris Prof. Fergus G. Priest (*Universitas Heriot-Watt, Edinburgh*; 1948–2019) atas banyak kontribusinya pada sistematika dan penggunaan anggota genus *Bacillus*.

Bakteri dari golongan *Bacillus* sp., seperti *Bacillus megaterium*, adalah bakteri aerob yang Gram positif. Mereka memiliki bentuk batang dengan ukuran diameter berkisar 1,2-1,5 μm dan panjang 2,0-2,4 μm . Bentuk selnya dapat berupa silindris sampai oval atau bentuk seperti pear. *Bacillus megaterium* juga memiliki kemampuan motilitas dan membentuk endospora, yang biasanya terbentuk dalam waktu 48 jam. Suhu optimum untuk pertumbuhan *Bacillus megaterium* berkisar antara 28–35°C, sedangkan suhu maksimumnya adalah antara 40–45°C (Yahya dkk., 2014).

Penelitian ini memberitahu bahwasannya telah ditemukanya salah satu dari tiga proses biokimia penting dalam siklus nitrogen yang mengubah bentuk-bentuk nitrogen menjadi bentuk lain yang dapat digunakan oleh organisme atau dilepaskan kembali ke atmosfer seperti yang sudah di jelaskan pada halaman ⁷ latar belakang.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Bakteri nitrifikasi tidak ditemukan di sarang burung walet (*Aerodramus maximus*) tetapi bakteri yang diisolasi adalah *Priestia magaterium* yang masuk ke dalam bakteri pereduksi nitrit.

5.2 Saran

Setelah dilakukan penelitian berkaitan dengan isolasi dan identifikasi bakteri nitrifikasi pada sarang burung walet (*Aerodramus maximus*) perlu dilakukan sekuensing terhadap bakteri yang diisolasi untuk mengklasifikasi spesies bakteri tersebut secara genotipe.

SKRIPSI_20820026_FADILLA EKA PRASASTI

ORIGINALITY REPORT

21%

SIMILARITY INDEX

19%

INTERNET SOURCES

8%

PUBLICATIONS

6%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

| | | |
|---|---|----|
| 1 | erepository.uwks.ac.id Internet Source | 2% |
| 2 | etheses.uin-malang.ac.id Internet Source | 1% |
| 3 | dbpedia.org Internet Source | 1% |
| 4 | repository.usd.ac.id Internet Source | 1% |
| 5 | digilib.uinsby.ac.id Internet Source | 1% |
| 6 | journals.umkt.ac.id Internet Source | 1% |
| 7 | text-id.123dok.com Internet Source | 1% |
| 8 | repository.ub.ac.id Internet Source | 1% |
| 9 | ejournal.undip.ac.id Internet Source | 1% |

| | | |
|----|---|------|
| 10 | maxeschan.wordpress.com Internet Source | 1 % |
| 11 | digilib.iain-palangkaraya.ac.id Internet Source | 1 % |
| 12 | www.researchgate.net Internet Source | 1 % |
| 13 | generasibiologi.com Internet Source | 1 % |
| 14 | Lilla Puji Lestari, Rio Arisandi Pratama. "Analysis of Protein and Calcium Content in White Swallow's Nest Stew (Collacalia Fuchiphaga)", Procedia of Engineering and Life Science, 2021 Publication | <1 % |
| 15 | ojs.umrah.ac.id Internet Source | <1 % |
| 16 | www.ejournal-s1.undip.ac.id Internet Source | <1 % |
| 17 | lib.unnes.ac.id Internet Source | <1 % |
| 18 | Submitted to UIN Syarif Hidayatullah Jakarta Student Paper | <1 % |
| 19 | Submitted to Universitas Andalas Student Paper | <1 % |

| | | |
|----|--|------|
| 20 | es.scribd.com Internet Source | <1 % |
| 21 | Submitted to Trisakti University Student Paper | <1 % |
| 22 | Submitted to Sriwijaya University Student Paper | <1 % |
| 23 | biovalentia.ejournal.unsri.ac.id Internet Source | <1 % |
| 24 | id.wikipedia.org Internet Source | <1 % |
| 25 | jakarta.tribunnews.com Internet Source | <1 % |
| 26 | repository.unika.ac.id Internet Source | <1 % |
| 27 | 123dok.com Internet Source | <1 % |
| 28 | Submitted to UIN Sunan Ampel Surabaya Student Paper | <1 % |
| 29 | dokumen.tips Internet Source | <1 % |
| 30 | Arfiandi Jr, Reiny A. Tumbol. "Isolasi dan identifikasi bakteri patogen pada ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i>) yang dibudidayakan di Kecamatan Dimembe Kabupaten Minahasa | <1 % |

Utara Tahun 2019", e-Journal BUDIDAYA
PERAIRAN, 2020

Publication

31 e-journal.unair.ac.id <1 %
Internet Source

32 fliphtml5.com <1 %
Internet Source

33 www.kompas.com <1 %
Internet Source

34 Alexandru Dumitrache, Hannah Akinosho,
Miguel Rodriguez, Xianzhi Meng et al.
"Consolidated bioprocessing of Populus using
Clostridium (Ruminiclostridium)
thermocellum: a case study on the impact of
lignin composition and structure",
Biotechnology for Biofuels, 2016
Publication

35 Silvi Eka Putri, Kurniawan Sinaga, Alfath
Rusdhi. "Uji Cemaran Bakteri E. coli dan
Salmonella sp. Pada Daging Sapi Di Pasar
Tradisional Kecamatan Hamparan Perak",
Journal of Pharmaceutical and Sciences, 2023
Publication

36 tugasanaksekolah.wordpress.com <1 %
Internet Source

37 Maichel Yorgen. "IDENTIFIKASI BAKTERI
RESISTEN MERKURI PADA KARANG GIGI,
<1 %

URIN DAN FESES PADA INDIVIDU
KELURAHAN PAKADOODAN KOTA BITUNG",
Jurnal e-Biomedik, 2014

Publication

38

Submitted to Unika Soegijapranata

Student Paper

<1 %

39

Warsiti Warsiti, Sisca Dwikusuma Wardani,
Ardea Achmad Ramadhan, Ratna Yuliani. "Uji
Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang
Dayak (Eleutherine palmifolia (L.) Merr)
Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus",
Pharmakon: Jurnal Farmasi Indonesia, 2019

Publication

<1 %

40

digilib.uinsa.ac.id

Internet Source

<1 %

41

docobook.com

Internet Source

<1 %

42

Arief Sulistiyono, Eka Mutiara. "Pengujian
bakteri patogen pada ikan hias di Stasiun
Karantina Ikan Pengendalian Mutu Dan
Keamanan Hasil Perikanan Palembang",
Sriwijaya Bioscientia, 2023

Publication

<1 %

43

dietistasilvi.blogspot.com

Internet Source

<1 %

44

Hanudin Hanudin, Indijarto Budi Rahardjo.
"KARAKTERISTIK PSEUDOMONAS

<1 %

VIRIDIFLAVA: PENYEBAB PENYAKIT BUSUK LUNAK DAN EVALUASI VIRULENSINYA PADA KLON ANGGREK PHALAENOPSIS", Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika, 2011

Publication

45

Mulida Hayati. "PERLINDUNGAN HUKUM BAGI MASYARAKAT TERHADAP PENCEMARAN LINGKUNGAN AKIBAT BUDIDAYA BURUNG WALET", Supremasi Hukum: Jurnal Penelitian Hukum, 2019

Publication

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off

SKRIPSI_20820026_FADILLA EKA PRASASTI

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12

PAGE 13

PAGE 14

PAGE 15

PAGE 16

PAGE 17

PAGE 18

PAGE 19

PAGE 20

PAGE 21

PAGE 22

PAGE 23

PAGE 24

PAGE 25

PAGE 26

PAGE 27

PAGE 28

PAGE 29

PAGE 30

PAGE 31
