

STUDI KOMPARASI VARIASI MEDIA KULTUR TERHADAP PERTUMBUHAN POPULASI BAKTERI *Bacillus subtilis* DAN *Bacillus licheniformis* UNTUK PROBIOTIK UNGGAS

Amanda Mutiara Harris*
Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya

*Email: mutiaraamanda10@gmail.com

ABSTRACT

The aim of study was knowing the effects of culture medium variations to *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* population growth. This study was experimental and factorial 6x2 design with two factors : culture medium (*Nutrient Broth* without glucose, *Nutrient Broth* with glucose 1%, *Yeast Extract* 1% without glucose, *Yeast Extract* 1% with glucose 1%, *Nutrient Broth* and *Yeast Extract* 1% without glucose, *Nutrient Broth* and *Yeast Extract* 1% with glucose 1%) and bacteria (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*). Three replications performed on each treatment. The parameters tested were absorbance and growth curve. Absorbances were tested every 24 hours in six days and analyzed by Two Way ANOVA and Duncan test ($\alpha=5\%$), and growth curve analyzed by descriptive. The result of this study shows that the best treatment was *Nutrient Broth* and *Yeast Extract* 1% with glucose 1% which had the highest absorbance followed by *Nutrient Broth* and *Yeast Extract* 1% without glucose, *Yeast Extract* 1% with glucose 1%, *Nutrient Broth* with glucose 1%, *Yeast Extract* 1% without glucose, dan *Nutrient Broth* without glucose. This study showed that at least one culture medium variations had difference to absorbance, at least one types of bacteria had difference to absorbance, and at least one combinations of culture medium variations and types of bacteria had difference to absorbance. *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* were on the optimum point in fourth day of incubation.

Keywords: absorbance, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, bacteria growth curve, culture media variation.

PENDAHULUAN

Saat ini, Indonesia merupakan negara yang menduduki peringkat keempat dengan jumlah penduduk terbanyak dibandingkan negara lain (Purnomo, 2014). Banyaknya jumlah penduduk di Indonesia ini tentu saja disertai dengan banyaknya kebutuhan sumber pangan, baik dari sektor pertanian ataupun peternakan. Peternakan unggas, khususnya ayam ras pedaging dan lokal, merupakan sektor peternakan yang paling banyak diusahakan di Indonesia. Sistem peternakan unggas yang dikembangkan pada umumnya menggunakan pemberian makanan tambahan yang berupa *feed additive*, di samping pemberian pakan utama dan air minum. Salah satu jenis *feed additive* yang sering digunakan adalah probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dapat berkembang pada saluran pencernaan dalam jumlah tertentu untuk menjaga kesehatan saluran pencernaan inang (Rai dan Bai, 2014).

Pada umumnya probiotik mengandung mikroorganisme yang berupa bakteri asam laktat. Selain bakteri asam laktat, mikroorganisme lain yang umum digunakan dalam pembuatan probiotik adalah *Bacillus* spp. *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* merupakan spesies *Bacillus* yang sering digunakan dalam produksi probiotik.

Keuntungan penggunaan *Bacillus subtilis* dalam probiotik adalah spora *Bacillus subtilis* mampu berkembang dalam saluran pencernaan dan mampu menghasilkan substansi bioaktif. Selain itu, *Bacillus subtilis* juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam saluran pencernaan (Sarkar dan Nou, 2014). Sedangkan, keuntungan penggunaan *Bacillus licheniformis* adalah mampu meningkatkan kesehatan saluran pencernaan, menstimulasi sistem imun, dan mampu menghasilkan enzim protease (Anonim, 2014).

Kebutuhan nutrisi *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* harus diperhatikan untuk mencapai kurva pertumbuhan yang optimal. Kebutuhan nutrisi tersebut dapat dipenuhi oleh media kultur yang digunakan pada saat pertumbuhan bakteri tersebut.

Pembuatan probiotik memerlukan media kultur yang tepat agar dapat menumbuhkan populasi bakteri probiotik dalam jumlah yang besar sehingga berguna dalam proses produksi probiotik. Media kultur yang biasa digunakan untuk menumbuhkan bakteri probiotik adalah *Nutrient Broth* dan *Yeast Extract*. Media tersebut merupakan media standar yang dapat digunakan untuk menumbuhkan berbagai jenis mikroorganisme, dan mengandung berbagai komponen senyawa karbohidrat, asam amino, pepton, dan vitamin kompleks, terutama vitamin B (Anonim¹, 2015). Komposisi utama dari media *Nutrient Broth* adalah D(+)glukosa, pepton, natrium klorida, dan *yeast extract* (Anonim², 2015). Sedangkan, komposisi utama dari media *Yeast Extract* adalah sel dari *yeast* dengan tambahan asam amino, peptida, vitamin, dan karbohidrat (Anonim³, 2015). Tingginya permintaan peternak unggas terhadap probiotik juga mendasari adanya penelitian komparasi variasi media kultur bagi pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*. Media kultur yang digunakan berupa *Nutrient Broth* dan *Yeast Extract* yang divariasikan dengan ada atau tidaknya glukosa. Penelitian ini dilakukan dengan asumsi bahwa adanya variasi antara media kultur dan jenis bakteri tersebut dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik unggas tersebut. Selain itu, penelitian ini dilakukan agar dapat digunakan sebagai acuan untuk pembuatan *starter* produk probiotik yang membutuhkan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* dalam jumlah yang tinggi, dan juga sebagai acuan untuk penelitian mendatang.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat biakan *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*, media kultur yang terdiri atas *Nutrient Broth* (NB) (Oxoid) dan *Yeast Extract* (YE) (Oxoid), glukosa, dan akuades steril. Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *autoclave* (OSK 6500, ALP Co. Ltd), *shaker* (GFL), timbangan analitik (Shimadzu), *Laminar Air Flow* (ESCQ), *cuvet*, *spectrophotometer*, botol kaca (100 mL dan 250 mL), jarum ose, bunsen, pipet ukur (Pyrex), kapas, *cling wrap*, aluminium *foil*, gelas ukur, kertas label, tisu, dan baki.

Cara Kerja

Peremajaan Isolat

Media peremajaan yang digunakan yaitu berupa *Yeast Extract* 1% dengan penambahan glukosa 1%. Media tersebut dilarutkan dalam akuades sebanyak 200 mL dan dibagi dalam dua botol kaca yang berukuran 250 mL menjadi masing – masing 100 mL per botol. Media tersebut kemudian di-*autoclave* selama 15 menit dengan tekanan 1 atm dan suhu 121 °C. Peremajaan isolat *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* dilakukan dengan cara mengambil masing – masing 2 ose dari kultur *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* dalam *Nutrient Agar* dan diinokulasikan ke dalam media *Yeast Extract* 1% yang telah ditambah glukosa 1% sebanyak 100 mL. Kemudian, biakan tersebut diaduk dengan *shaker* berkecepatan 100 rpm selama 6 jam. Setelah itu, biakan tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37 °C.

Pembuatan Inokulum

Pembuatan media inokulum terlebih dahulu, berupa media *Yeast Extract* 1% dan glukosa 1% dalam akuades sebanyak 200 mL dan dibagi dalam dua botol kaca yang berukuran 250 mL menjadi masing – masing 100 mL per botol. Media tersebut kemudian di-*autoclave* selama 15 menit. Setelah itu, 10 mL biakan mikroba *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* diinokulasi ke dalam media inokulum tersebut. Media inokulum yang telah diinokulasi dengan mikroba, kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37 °C. Selanjutnya, dilakukan pengukuran absorbansi dan didapatkan nilai absorbansi dari biakan *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* sebesar 0,41.

Perlakuan Biakan

Tahap perlakuan biakan didahului dengan pembuatan media kultur untuk perlakuan. Media kultur yang disiapkan antara lain *Nutrient Broth*, *Nutrient Broth* dengan glukosa 1%, *Yeast Extract* 1%, *Yeast Extract* 1% dengan glukosa 1%, *Nutrient Broth* ditambah *Yeast Extract* 1%, *Nutrient Broth* ditambah *Yeast Extract* 1% dengan glukosa 1%. Media kultur tersebut masing – masing dilarutkan dalam akuades sebanyak 300 mL dan dibagi dalam masing – masing enam botol kaca yang berukuran 100 mL sehingga masing – masing botol berisi 50 mL media kultur. Media tersebut kemudian di-*autoclave*. Perlakuan biakan dilakukan dengan mengambil masing – masing 5 mL biakan *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*, kemudian diinokulasi ke dalam masing – masing media kultur perlakuan dan diinkubasi pada suhu ruang.

Pengukuran Nilai Absorbansi Mikroba

Pengukuran absorbansi diawali dengan pembuatan larutan blanko, yaitu 4 mL larutan media steril sesuai media dalam tahap perlakuan biakan. Larutan blanko tersebut kemudian dimasukkan dalam spektrofotometer terlebih dahulu dan kemudian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi kultur bakteri yang telah diberi perlakuan.

Pengukuran Kurva Pertumbuhan

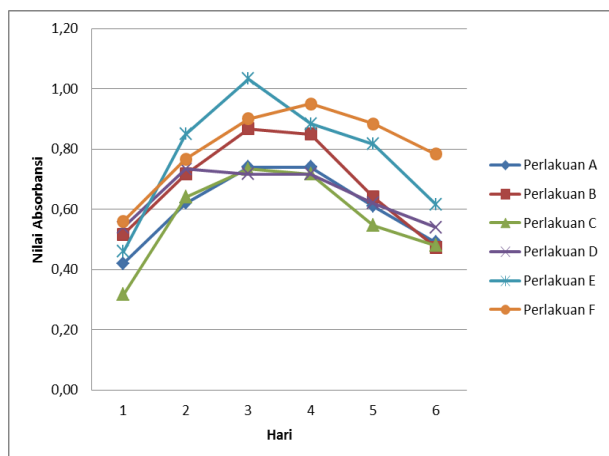
Tahap awal pengukuran laju pertumbuhan dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi dari inokulum yang diinkubasi dalam suhu ruang selama 6 hari. Pengukuran kekeruhan dilakukan setiap 24 jam menggunakan spektrofotometer. Data kekeruhan yang didapat diplot dalam skala logaritmik sehingga membentuk kurva pertumbuhan dari bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*.

Analisis Data

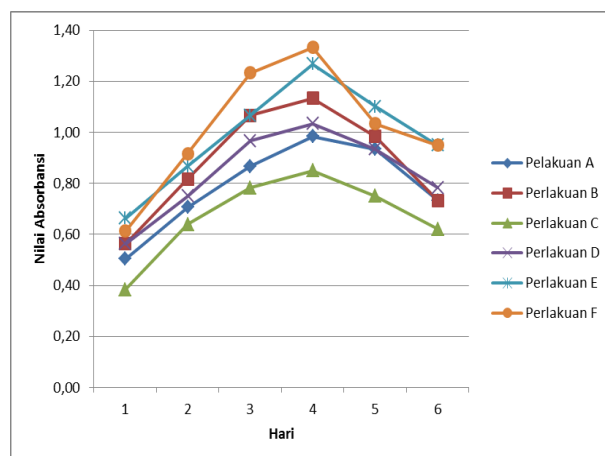
Data pertumbuhan koloni *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* diuji secara statistik dengan menggunakan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Pengujian data dilakukan untuk mengetahui normalitas dan homogenitas berturut – turut dengan menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov* dan *Levene Test*. Data yang normal dan homogen dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Varians* (ANOVA) dua arah (*Two Way Anova*) dengan derajat signifikansi 5%. Kemudian, data dianalisis dengan uji *Duncan* untuk mengetahui beda antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Pertumbuhan Bakteri



Gambar 1 Grafik nilai absorbansi *Bacillus subtilis* dalam enam hari. Perlakuan : A. Yeast Extract 1% B. Yeast Extract 1% + glukosa 1% C. Nutrient Broth D. Nutrient Broth + glukosa 1% E. Nutrient Broth + Yeast Extract 1% F. Nutrient Broth + Yeast Extract 1% + glukosa 1%.



Gambar 2 Grafik nilai absorbansi *Bacillus licheniformis* dalam enam hari. Perlakuan : A. Yeast Extract 1% B. Yeast Extract 1% + glukosa 1% C. Nutrient Broth D. Nutrient Broth + glukosa 1% E. Nutrient Broth + Yeast Extract 1% F. Nutrient Broth + Yeast Extract 1% + glukosa 1%.

Kurva pertumbuhan bakteri merupakan kurva yang didapatkan dari pengukuran konsentrasi sel yang dilakukan secara periodik. Kurva pertumbuhan bakteri ini memiliki empat fase pertumbuhan (Sumbali dan Mehrotta, 2009). Pada penelitian ini, kurva pertumbuhan bakteri didapatkan dengan mengukur nilai absorbansi tiap 24 jam selama enam hari. Dalam grafik kurva pertumbuhan populasi dari bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*, terlihat adanya beberapa fase dalam pertumbuhan bakteri antara lain fase log, fase stasioner, dan fase kematian.

Pada grafik kurva pertumbuhan populasi dalam penelitian ini, terlihat bahwa *Bacillus subtilis* mengalami fase log pada hari pertama hingga hari ketiga (Gambar 1). Selanjutnya, pada hari keempat, *Bacillus subtilis* mengalami fase stasioner. Setelah hari keempat, bakteri ini mengalami fase kematian yang ditunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi pada hari kelima dan keenam.

Pada bakteri *Bacillus licheniformis*, fase log terjadi dari hari pertama hingga hari ketiga (Gambar 2). Sedangkan, hari keempat merupakan fase stasioner dan dilanjutkan dengan fase kematian karena nilai absorbansi mengalami penurunan dan terlihat dengan adanya kurva pertumbuhan yang bergerak turun.

Pada grafik kurva pertumbuhan *Bacillus licheniformis*, terlihat adanya fase stasioner pada perlakuan A, perlakuan C, dan perlakuan D (Gambar 2). Hal ini terlihat dari garis mendatar pada grafik perlakuan tersebut. Fase stasioner adalah fase adanya keseimbangan antara laju pertumbuhan dan laju kematian bakteri sehingga jumlah keseluruhan bakteri tetap (Sumbali dan Mehrotta, 2009).

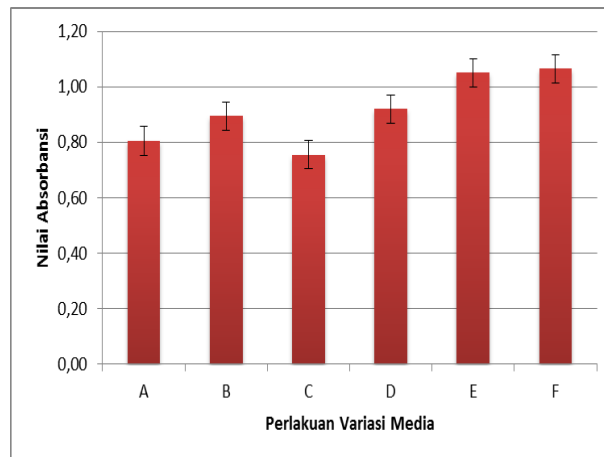
Namun, pada grafik kurva pertumbuhan populasi *Bacillus licheniformis* juga menunjukkan bahwa adanya satu perlakuan yang memiliki titik optimum pada hari keempat (Gambar 2). Perlakuan tersebut merupakan perlakuan F, yang berupa media *Nutrient Broth* + *Yeast Extract* 1% + glukosa 1%. Hal ini dapat disebabkan oleh tingginya nutrisi yang terkandung dalam media sehingga mampu mendukung pertumbuhan bakteri tersebut dalam waktu yang lebih lama.

Pada kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* tidak terlihat adanya fase lag (Gambar 1 dan Gambar 2). Hal ini dapat disebabkan pencatatan kurva pertumbuhan yang hanya dilakukan tiap 24 jam sehingga fase lag yang terjadi kurang dari 24 jam tidak dapat tercatat.

Komparasi Variasi Media Terhadap Nilai Absorbansi Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*

Tabel 1 Rata – rata dan simpangan baku nilai absorbansi pada uji dengan perlakuan variasi media

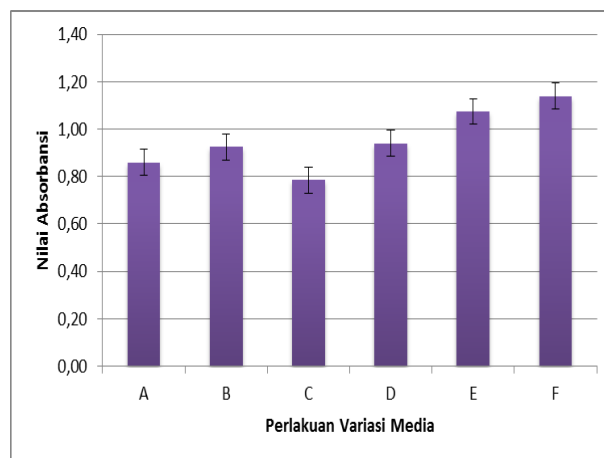
No.	Perlakuan	Rata - Rata Nilai Absorbansi
1	A	0,81 ± 0,09 ^a
2	B	0,90 ± 0,25 ^b
3	C	0,76 ± 0,04 ^a
4	D	0,92 ± 0,07 ^b
5	E	1,05 ± 0,03 ^c
6	F	1,07 ± 0,23 ^c



Gambar 3 Diagram variasi media terhadap nilai absorbansi bakteri

Tabel 2 Rata – rata dan simpangan baku nilai absorbansi pada uji dengan perlakuan variasi media

No.	Perlakuan	Rata - Rata Nilai Absorbansi
1	A	0,86 ± 0,17 ^b
2	B	0,93 ± 0,29 ^c
3	C	0,79 ± 0,09 ^a
4	D	0,94 ± 0,13 ^c
5	E	1,08 ± 0,28 ^d
6	F	1,14 ± 0,27 ^e



Gambar 4 Diagram variasi media terhadap nilai absorbansi bakteri

Nutrisi dibutuhkan oleh bakteri, tidak hanya sebagai sumber energi, melainkan juga sebagai pembentuk protoplasma dan material struktur dari bakteri tersebut. Elemen nutrisi esensial yang dibutuhkan oleh bakteri antara lain karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, sulfur, dan fosfat. Selain itu, bakteri juga membutuhkan mikronutrien yang berupa zat besi, magnesium, kalium, dan kalsium. (Hayes, 1995).

Media pertumbuhan yang biasa digunakan untuk pertumbuhan *Bacillus subtilis* adalah media standar dengan penambahan glukosa dan garam amonia untuk sumber karbon dan nitrogen. (Vos et al., 2009). Sedangkan, media pertumbuhan yang baik bagi *Bacillus licheniformis* adalah media dengan kandungan karbon dan nitrogen yang tinggi. (Maheswari, et al., 2010)

Kandungan sumber karbon dan sumber nitrogen dalam media kultur merupakan faktor penting bagi pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* sehingga menyebabkan sedikit perbedaan komposisi

pada media kultur ini, dapat mengakibatkan perbedaan yang signifikan pada pertumbuhan suatu mikroorganisme. Hal ini terlihat pada hasil penelitian yang menunjukkan bahwa ada beda signifikan variasi media terhadap nilai absorbansi bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*.

Perlakuan variasi media yang terbaik pada hari ketiga penelitian ini adalah perlakuan F, yaitu dengan media *Nutrient Broth + Yeast Extract 1% + glukosa 1%*. Namun, perlakuan ini tidak berbeda signifikan dengan perlakuan E, yaitu media *Nutrient Broth + Yeast Extract 1%*. Pada hari keempat, perlakuan variasi media yang terbaik adalah perlakuan F dan berbeda signifikan dengan perlakuan E (Tabel 1) (Gambar 3).

Perlakuan F merupakan perlakuan variasi media terbaik. Hal ini disebabkan lengkapnya nutrisi pada variasi media tersebut. *Nutrient Broth* merupakan media dengan kandungan nitrogen yang cukup tinggi. Sedangkan, komposisi dari media *Yeast Extract* antara lain sel *yeast* yang telah terautolisis, asam amino, peptida, vitamin terlarut yang tinggi. Dalam media *yeast extract* juga terdapat sedikit kandungan karbohidrat (Goldman dan Green, 2015). Penambahan glukosa dalam media kultur berdampak pada adanya penambahan jumlah biomassa yang cukup signifikan dibandingkan dengan pertumbuhan bakteri pada media kultur yang tidak ditambah dengan glukosa (Méndez-Vilas, 2014).

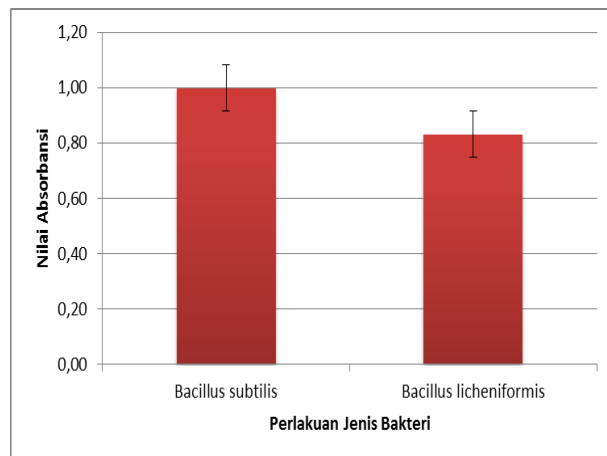
Pada hari ketiga, perlakuan F tidak berbeda signifikan dengan perlakuan E (Tabel 1). Sedangkan, pada hari keempat, perlakuan F berbeda signifikan dengan perlakuan F (Tabel 2). Perlakuan E merupakan perlakuan *Nutrient Broth + Yeast Extract 1%* yang memiliki komposisi nutrisi yang lebih lengkap bila dibandingkan dengan perlakuan B, perlakuan D, perlakuan A, dan perlakuan C. Nilai absorbansi pada perlakuan ini lebih rendah bila dibandingkan nilai absorbansi pada perlakuan F. Hal ini disebabkan tidak adanya kandungan glukosa pada variasi media ini.

Perlakuan dengan nilai absorbansi terendah adalah perlakuan C, yaitu variasi media *Nutrient Broth*. Kandungan dalam media *Nutrient Broth* merupakan sumber nitrogen yang cukup tinggi, namun menghasilkan pertumbuhan populasi bakteri yang lebih rendah daripada media kultur *Yeast Extract* karena tidak adanya vitamin B kompleks (Anonim², 2015).

Komparasi Perbedaan Jenis Bakteri Terhadap Nilai Absorbansi Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*

Tabel 3 Rata – rata dan simpangan baku nilai absorbansi pada uji dengan perlakuan jenis bakteri

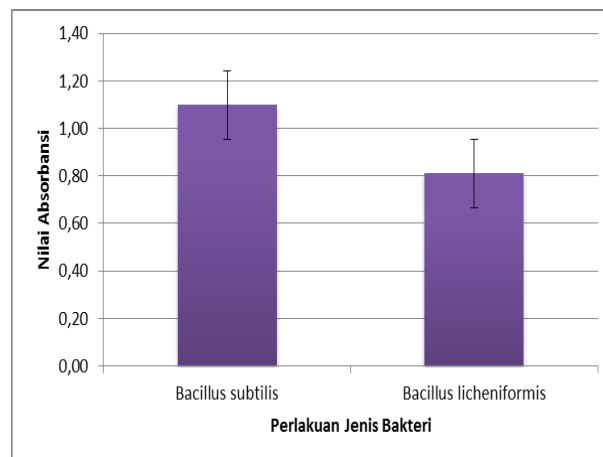
No.	Perlakuan	Rata - Rata Nilai Absorbansi
1	<i>Bacillus subtilis</i>	1,00 ± 0,16 ^b
2	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,83 ± 0,12 ^a



Gambar 5 Diagram jenis bakteri terhadap nilai absorbansi bakteri

Tabel 4 Rata – rata dan simpangan baku nilai absorbansi pada uji dengan perlakuan jenis bakteri

No.	Perlakuan	Rata - Rata Nilai Absorbansi
1	<i>Bacillus subtilis</i>	1,10 ± 0,18 ^b
2	<i>Bacillus licheniformis</i>	0,81 ± 0,10 ^a



Gambar 6 Diagram jenis bakteri terhadap nilai absorbansi bakteri

Penelitian ini menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*. Kedua bakteri tersebut memiliki beberapa perbedaan, antara lain dalam hal metabolisme pertumbuhan dan waktu generasi pertumbuhan. Adanya perbedaan tersebut dapat menyebabkan hasil pertumbuhan yang berbeda pula dari kedua jenis bakteri tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan jenis bakteri berbeda signifikan terhadap nilai absorbansi bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*, baik pada hari ketiga atau hari keempat penelitian (Tabel 1 dan Tabel 2). Perlakuan dengan menggunakan *Bacillus subtilis* merupakan perlakuan dengan nilai absorbansi tertinggi bila dibandingkan dengan perlakuan *Bacillus licheniformis*. Pertumbuhan populasi dari kedua bakteri tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain nutrisi, faktor lingkungan, serta faktor genetik (Quinn, *et al.*, 2011). Pada penelitian ini, nutrisi dan faktor lingkungan telah dibuat seragam untuk kedua bakteri, sehingga dapat disimpulkan bahwa perbedaan nilai absorbansi kedua bakteri tersebut disebabkan oleh adanya faktor genetik.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Wyrick dan Rogers (1973), *Bacillus subtilis* mengalami laju pertumbuhan yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan dan *Bacillus licheniformis* dalam media DPL. Hal ini dapat dilihat pada tingginya nilai absorbansi *Bacillus subtilis* dibandingkan dengan *Bacillus licheniformis*. Penelitian ini juga menunjukkan perbedaan nilai absorbansi kedua bakteri yang dapat disebabkan oleh faktor genetik.

Komparasi Interaksi Antara Variasi Media Dan Jenis Bakteri Terhadap Nilai Absorbansi Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*

Pada penelitian ini, perlakuan interaksi antara variasi media dan jenis bakteri memiliki perbedaan yang signifikan terhadap nilai absorbansi bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*.

Perlakuan kombinasi antara variasi media dan jenis bakteri dengan nilai absorbansi tertinggi pada hari ketiga adalah kombinasi antara *Bacillus subtilis* dengan media *Nutrient Broth + Yeast Extract 1% + glukosa 1%*, yaitu perlakuan FS (Tabel 5). Perlakuan ini berbeda signifikan dengan perlakuan ES, yang merupakan kombinasi antara *Nutrient Broth + Yeast Extract 1%*. Sedangkan, pada hari keempat, perlakuan kombinasi

antara variasi media dan jenis bakteri dengan nilai absorbansi tertinggi pada hari ketiga adalah kombinasi antara *Bacillus subtilis* dengan media *Nutrient Broth + Yeast Extract 1% + glukosa 1%*, yaitu perlakuan FS (Tabel 6). Perlakuan ini tidak berbeda signifikan dengan perlakuan ES, yang merupakan kombinasi antara *Nutrient Broth + Yeast Extract 1%*.

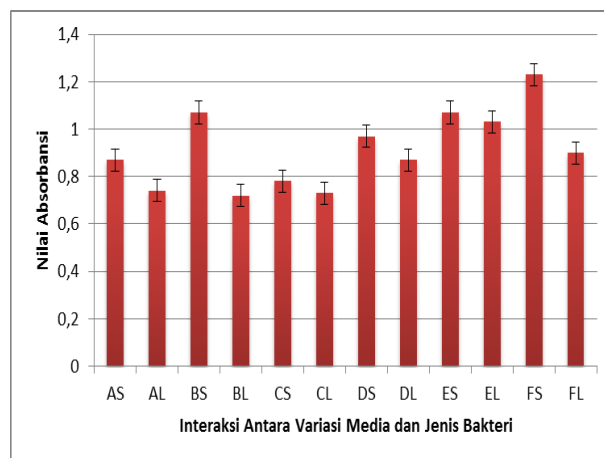
Perlakuan FS merupakan perlakuan dengan nilai absorbansi tertinggi pada hari ketiga dan keempat penelitian (Tabel 5 dan Tabel 6). Hal ini dapat disebabkan oleh nutrisi perlakuan F yang lebih lengkap. Selain itu, kombinasi media dengan *Bacillus subtilis* yang memiliki nilai absorbansi tertinggi pada hari ketiga dan keempat menyebabkan nilai absorbansi yang lebih tinggi pada perlakuan FS bila dibandingkan dengan perlakuan lain.

Tabel 5 Rata – rata dan simpangan baku nilai absorbansi pada uji dengan perlakuan interaksi antara variasi media dan jenis bakteri

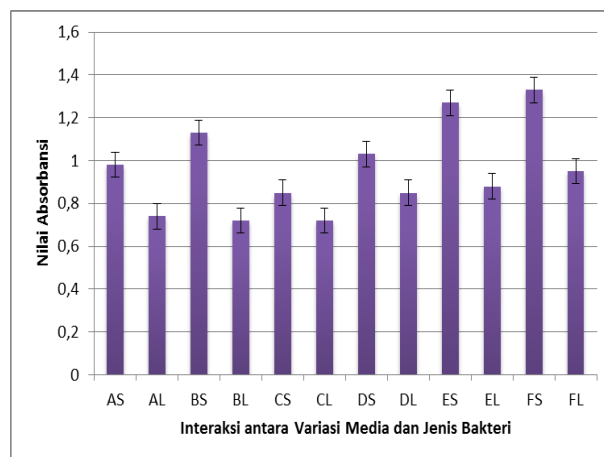
No.	Perlakuan	Rata - Rata Nilai Absorbansi
1	AS	0,87 ± 0,03 ^{bc}
2	AL	0,74 ± 0,03 ^a
3	BS	1,07 ± 0,06 ^f
4	BL	0,72 ± 0,03 ^a
5	CS	0,78 ± 0,03 ^{ab}
6	CL	0,73 ± 0,06 ^a
7	DS	0,97 ± 0,06 ^{de}
8	DL	0,87 ± 0,08 ^{bc}
9	ES	1,07 ± 0,06 ^f
10	EL	1,03 ± 0,06 ^{ef}
11	FS	1,23 ± 0,06 ^g
12	FL	0,9 ± 0,05 ^{cd}

Tabel 6 Rata – rata dan simpangan baku nilai absorbansi pada uji dengan perlakuan interaksi antara variasi media dan jenis bakteri

No.	Perlakuan	Rata - Rata Nilai Absorbansi
1	AS	0,98 ± 0,03 ^{de}
2	AL	0,74 ± 0,03 ^a
3	BS	1,13 ± 0,06 ^f
4	BL	0,72 ± 0,03 ^a
5	CS	0,85 ± 0,05 ^b
6	CL	0,72 ± 0,03 ^a
7	DS	1,03 ± 0,06 ^e
8	DL	0,85 ± 0,05 ^b
9	ES	1,27 ± 0,06 ^g
10	EL	0,88 ± 0,03 ^{bc}
11	FS	1,33 ± 0,06 ^g
12	FL	0,95 ± 0,05 ^{cd}



Gambar 7 Diagram interaksi antara variasi media dan jenis bakteri terhadap nilai absorbansi bakteri



Gambar 8 Diagram interaksi antara variasi media dan jenis bakteri terhadap nilai absorbansi bakteri

KESIMPULAN

Adanya beda signifikan variasi media kultur terhadap pertumbuhan populasi bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*. Media kultur dengan nilai absorbansi tertinggi adalah *Nutrient Broth* dan *Yeast Extract* 1% dengan penambahan glukosa 1%. Selain itu, ada beda signifikan jenis bakteri, yaitu *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* terhadap pertumbuhan populasi bakteri dalam variasi media kultur yang diberikan. Jenis bakteri dengan nilai absorbansi tertinggi adalah bakteri *Bacillus subtilis*. Adanya beda signifikan interaksi antara media kultur dan jenis bakteri terhadap pertumbuhan populasi bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis*. Interaksi dengan nilai absorbansi tertinggi adalah kombinasi antara *Nutrient Broth*, *Yeast Extract* 1%, dan glukosa 1% dengan *Bacillus subtilis*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Drs. Agus Supriyanto, M.Kes., Tri Nurhariyati, S.Si., M.Kes., Dr. Salamun, M. Kes., T. Widyaleksono C. P., M.Si., dan kepada seluruh pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim .2014, September 03. *Nootriment*. Dipetik September 24, 2015, dari Nootriment: <http://nootriment.com/bacillus-licheniformis/>
- Anonim¹ .2015. *San Juan Ranch*. Dipetik Oktober 23, 2015, dari Santa Cruz Animal Health: http://www.scahealth.com/ultracruz-poultry-probiotic-plus-supplement.html#product_tabs_ing32
- Anonim² .2015. *Sigma Aldrich*. Dipetik Oktober 11, 2015, dari Sigma-Aldrich: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/70122?lang=en®ion=ID&gclid=CKfdzquQusgCFUkljgodtbkFvg>
- Anonim³ .2015. *Sigma Aldrich*. Dipetik Oktober 05, 2015, dari Sigma-Aldrich: <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/microbiology/microbiology-products.html?TablePage=8657623>
- Goldman, E., & Green, L. H. (2015). *Practical Handbook of Microbiology Third Edition*. Washington D.C: CRC Press.
- Hayes, P. R. (1995). *Food Microbiology and Hygiene*. London: Chapman & Hall.
- Maheswari, D., Dubey, R., & Saravanamuthu, R. (2010). *Industrial Exploitation of Microorganisms*. New Delhi: I.K International Publishing House Pvt. Ltd.
- Méndez-Vilas, A. (2014). Industrial, Medical and Environmental Applications of Microorganisms : Current Status and Trends. *Proceedings of the V International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld 2013)*. Wageningen: Wageningen Academic Publishers.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Fitzpatrick, E. S., Fanning, S., & Hartigan, P. (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Oxford: Willey-Blackwell Ltd.
- Purnomo, H .2014, Maret 06. *detik Finance*. Dipetik September 23, 2015, dari Detik: <http://finance.detik.com/read/2014/03/06/134053/2517461/4/negara-dengan-penduduk-terbanyak-di-dunia-ri-masuk-4-besar>
- Rai, R., dan J. A. Bai .2014. *Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods*. Washington D.C: CRC Press.
- Sarkar, P. K., dan M. R. Nou .2014. *Handbook of Indigenous Foods Involving Alkaline Fermentation*. New York: CRC Press New York.
- Sumbali, G., & Mehrotta, R. S. (2009). *Principles of Microbiology*. New Delhi: Tata McGraw Hill Education.
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., et al. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol.3 : The Firmicutes*. New York: Springer Science+Business Media.
- Wyrick, P. B., & Rogers, H. J. (1973). Isolation and Characterization of Cell Wall-Defective Variants of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*. *Journal of Bacteriology* Vo. 116 No.1, 456-465.