



## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA CAECUM AYAM DAGING

*(Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria in the Broiler's Caecum)*

Sri Sumarsih<sup>1</sup>, T. Yudiarti<sup>1</sup>, C. S. Utama<sup>1</sup>, E. S. Rahayu<sup>2</sup> dan E. Harmayani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro

<sup>2</sup>Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada \*

### ABSTRACT

*Lactic acid bacteria is one of natural microbe which is often used as fermentation agent. The Purpose of this research was isolated and identified lactic acid bacteria in broiler's caecum. Exploration experimental method by 6 repetition with 2 sub research was used. The Identification of Lactic acid bacteria was based on morphological, biochemical and physiological of the character. The morphological characteristic were shape cell and gram test. The biochemical characteristic was catalase test. The physiological characteristic was clear zone test. The result obtained 12 isolates of Lactic acid bacteria, rod and coccus, gram positive, catalase negative and showed clear zone colony at 1% CaCO<sub>3</sub> in MRS. That were early characteristic of lactic acid bacteria which were apparently as genus of Lactobacillus and Leuconostoc.*

*Keywords : caecum, Lactic acid bacteria*

### ABSTRAK

*Bakteri asam laktat merupakan salah satu mikrobiota alami yang banyak dimanfaatkan sebagai agensia fermentasi. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat pada caecum ayam pedaging. Penelitian ini disusun dengan exploration experimental method dengan 6 ulangan dan 2 satuan percobaan. Identifikasi bakteri asam laktat berdasar karakterisasi morfologis, biokimiawi dan fisiologis. Parameter morfologis meliputi bentuk sel, dan pewarnaan gram. Parameter biokimiawi meliputi uji katalase. Parameter fisiologis dengan pengamatan zona jernih. Hasil penelitian diperoleh 12 isolat yang selnya berbentuk batang dan bulat, gram positif, katalase negatif dan ada zona jernih disekeliling koloni pada MRS (de-Mann Rogossa and Sharp) yang diberi CaCO<sub>3</sub> 1%. Karakteristik tersebut merupakan penciri awal bakteri asam laktat dan diduga kuat adalah genera Lactobacillus dan Leuconostoc.*

*Kata Kunci : caecum, bakteri asam laktat*

\* Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

## PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat merupakan salah satu mikrobiota alami yang banyak dimanfaatkan sebagai agensia fermentasi. Proses fermentasi oleh bakteri asam laktat sangat bergantung pada aktivitas dan proliferasi bakteri-bakteri penghasil asam laktat (Ensminger, 1990). Organisme pembentuk asam laktat terbagi dua spesies, yaitu : 1) spesies homofermentatif yang mampu mengubah 95% heksosa mejadi asam laktat, 2) spesies heterofermentatif, merupakan grup yang memproduksi asam laktat dalam jumlah sedikit dan produk yang dihasilkan yaitu etil alkohol, asam asetat, asam format dan karbondioksida (Salle, 1979).

Bakteri asam laktat secara fisiologis dikelompokkan sebagai bakteri gram positif, bentuk coccus atau batang yang tidak berspora dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat (Malaka dan Laga, 2005). Bakteri asam laktat pada proses fermentasi karbohidrat dapat menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan pH. Penurunan nilai pH dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain, terutama bakteri patogen (Buckle *et al.*, 1987).

Bakteri Asam Laktat diketahui berperan dalam proses fermentasi dan pengawetan makanan (Rahayu, 2000). *Pediococcus acidilactici* F-11 diketahui menghasilkan bakteriosin sebagai agensia biokontrol *E. Coli* dan *S. aureus* (Rahayu *et al.*, 2004). *Lactobacillus sp* merupakan bakteri asam laktat yang mempunyai potensi sebagai probiotik (Purwandhani dan Rahayu, 2003) dan dapat terjaga kestabilannya selama penyimpanan dengan preparasi sel kering sebagai bubuk probiotik (Hartati dan Harmayani, 2006).

Bakteri Asam laktat juga diketahui merupakan agen pencegah hiperkolesterolemia yang dicerminkan pada peningkatan kolesterol HDL dan Penurunan kolesterol LDL pada hewan coba (Harmayani, 2002).

Bakteri asam laktat dapat digunakan sebagai probiotik yang diisolasi dari saluran pencernaan ayam pedaging. Hasil penelitian Setyorini dan Sutrisno (2002) menunjukkan bahwa dalam kotoran ayam segar dan kering masih terdapat populasi bakteri penghasil asam sebanyak 420 dan 400 koloni per gram kotoran ayam. Mikrobial penghasil asam dalam kotoran ayam diketahui berasal dari *caecum* (Card dan Neheim, 1985).

Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat pada *caecum* ayam pedaging. Hasil penelitian diharapkan dapat memperoleh isolat bakteri asam laktat yang dapat digunakan sebagai starter proses fermentasi

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini disusun dengan *exploration experimental method* dengan 6 ulangan dan 2 satuan percobaan. Bakteri asam laktat diisolasi dengan media MRS-CaCO<sub>3</sub> 1% yang ditambah 10 ppm sikloheksamat untuk menekan pertumbuhan yeast dan 10 ppm sodium azida untuk menekan mikroaerob (Rahayu, 2003). Identifikasi bakteri asam laktat didasarkan pada karakter morfologi, biokimiawi dan fisiologis.

Parameter morfologis meliputi bentuk sel, dan pewarnaan gram. Parameter biokimiawi meliputi uji katalase. Parameter fisiologis dengan pengamatan zona jernih. Bentuk sel

bakteri diamati pada koloni isolat bakteri asam laktat yang ditumbuhkan pada MRS pada suhu kamar selama 2 – 3 hari. *Staining* gram dilakukan dengan metode yang umum. Uji Katalase dilakukan dengan meneteskan larutan hydrogen peroksida pada kultur mikrobial, reaksi positif jika muncul gelembung CO<sub>2</sub>. Zona jernih diamati pada koloni isolat bakteri asam laktat yang ditumbuhkan pada MRS-CaCO<sub>3</sub> 1%

Data dianalisis secara deskriptif. Pendekatan pembahasan data dengan melihat sifat fenotip yang muncul berdasar karakter morfologi, biokimiawi dan fisiologis.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil isolasi bakteri asam laktat dari *caecum* ayam pedaging secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasar tabel 1 dapat dilihat bahwa terdapat bakteri asam laktat pada *caecum* ayam pedaging. Kondisi *caecum* yang ideal untuk pertumbuhan bakteri asam laktat antara lain kondisi pH antara 5 – 6,7; kandungan air yang tinggi 68 – 75%, kaya akan zat yang mengandung Nitrogen, mengandung karbohidrat (dalam hal ini glikogen) yang dapat digunakan sebagai sumber karbon, kaya akan mineral dan adanya factor growth yang mendukung perkembangan mikrobial (Lucke, 2000).

Pada tahap isolasi dan pemurnian dipilih berdasarkan koloni yang menghasilkan zona jernih pada media MRS yang ditambah CaCO<sub>3</sub> 1%. CaCO<sub>3</sub> berfungsi sebagai buffer sekaligus seleksi awal pada bakteri penghasil asam laktat. Asam laktat akan menyebabkan zona jernih disekeliling koloni karena

Tabel 1. Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari *caecum* Ayam Pedaging

Kode Isolat	Karakter penciri awal BAL			
	Morfologi sel	Biokimiawi	Fisiologi	
	Bentuk Sel	Reaksi gram	katalase	MRS + CaCO <sub>3</sub> 1%
SSU1	Batang	positif	negatif	ada zona jernih
SSU2	Batang	positif	negatif	ada zona jernih
SSU3	Batang	positif	negatif	ada zona jernih
SSU4	Batang	positif	negatif	ada zona jernih
SSU5	Batang	positif	negatif	ada zona jernih
SSU6	Batang	positif	negatif	ada zona jernih
SSK1	Kokus	positif	negatif	ada zona jernih
SSK2	Kokus	positif	negatif	ada zona jernih
SSK3	Kokus	positif	negatif	ada zona jernih
SSK4	Kokus	positif	negatif	ada zona jernih
SSK5	Kokus	positif	negatif	ada zona jernih
SSK6	Kokus	positif	negatif	ada zona jernih

melarutkan CaCO<sub>3</sub> sehingga dapat

digunakan sebagai penanda awal koloni bakteri asam laktat (Seelly et al., 2001).

Tabel 1 menunjukkan ditemukan 12 isolat bakteri asam laktat pada caecum ayam pedaging. Berdasar morfologi sel, 6 isolat mempunyai bentuk batang dan 6 isolat lainnya berbentuk kokus dengan reaksi pewarnaan gran positif. Karakter biokimiawi menunjukkan semua isolat tidak menghasilkan enzim katalase (katalase negatif). Karakter fisiologis menunjukkan adanya zone jernih disekeliling isolat yang ditumbuhkan pada media MRS-CaCO<sub>3</sub> 1%. Karakter tersebut merupakan penanda awal isolat bakteri asam laktat sesuai dengan hasil penelitian Rahayu (2003).

Identifikasi bakteri asam laktat dilakukan dengan melihat sifat-sifat fenotip yang muncul berdasarkan karakter morfologi, biokimiawi dan fisiologis berdasar *Bergey's Manual of Determinative bacteriology* (Holt et al., 1999). Hasil identifikasi isolat bakteri asam laktat dapat dilihat pada Tabel 2

Berdasar Tabel 2 dapat dilihat bahwa 6 isolat (SSU1, SSU2, SSU3, SSU4, SSU5 dan SSU6) mempunyai bentuk sel batang, reaksi gram positif, uji katalase negatif dan ada zona jernih diduga kuat genus *Lactobacillus*. Isolat SSK1, SSK2, SSK3, SSK4, SSK5 dan SSK6 mempunyai bentuk sel kokus, reaksi gram positif, uji katalase negatif dan ada zona jernih diduga kuat genus *Leuconostoc*.

### KESIMPULAN

Hasil peneliitian diperoleh 12 isolat bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* dan genus *Leuconostoc* dari *caecum* ayam pedaging. Hasil isolat yang teridentifikasi diharapkan dapat digunakan sebagai starter proses fermentasi.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dirjen Dikti Depatemen Pendidikan Nasional RI yang telah mendanai penelitian ini melalui program HP no. 321/SP2H/PP/DP2M/III/2008.

Tabel 2. karakteristik Fenotipik untuk Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat

Karakteristik	Kode Isolat											
	SSU1	SSU2	SSU3	SSU4	SSU5	SSU6	SSK1	SSK2	SSK3	SSK4	SSK5	SSK6
Bentuk Sel												
Batang	+	+	+	+	+	+						
Kokus							+	+	+	+	+	+
Reaksi gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clear zone	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**DAFTAR PUSTAKA**

- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet and Wooton. 1987. Ilmu Pangan. Universitas Indonesia Press, Jakarta (diterjemahkan oleh H. Purnomo dan Adiono)
- Card, L. E. and Nesheim. 1985. Poultry Production. Lea & Febiger Co., Philadelphia
- Ensminger, M. E. 1990. Feeds and Nutrition. The Ensminger Publishing Company, California
- Harmayani, E. 2002. Cholesterol reduction effect of probiotic cultures. Proceeding of The 2<sup>nd</sup> Indonesian Biotechnology Conference. P.302-308
- Hartati, S dan E. Harmayani. 2006. Preparasi Sel Kering *Lactobacillus sp* DAD 13 dan Kestabilannya sebagai bubuk Probiotik. J. Mikrobiologi Indonesia. Vol 11 (1) : 1 – 4
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley and S. T. Willem. 1999. Bergey's Manual of Determinative bacteriology. 9<sup>th</sup> Edition. Will & Wilk. Baltimore, p 3-6
- Lucke, F. K. 2000. Utilation of microbes to process and preserve meat. J Meat Sci. 56 : 105 - 115
- Malaka, R dan A. Laga. 2005. Isolasi dan identifikasi *Lactobacillus Bulgaricus* strain Ropy dari yogurt komersial. J. Sains dan Teknologi. 5 (1) : 50 – 58
- Purwandhani, S. N. dan Rahayu, E. S. 2003. Isolasi dan Seleksi *Lactobacillus* yang Berpotensi sebagai Agensia Probiotik. Agritech 23 (2) : 67 – 74.
- Rahayu, E. S. 2000. Bakteri Asam Laktat dalam Fermentasi dan Pengawetan Makanan. Prosiding Seminar nasional Industri pangan. Surabaya 10 – 11 Oktober 2000.
- Rahayu, E. S. 2003. Lactic Acid Bacteria un Fermented Food of Indonesian Origin. Jurnal Agritek. 23 (23) : 75 – 84
- Rahayu. E. S., E. Harmayani, T. Utami dan K. Handini. 2004. *Pediococcus acidilactici F-11* penghasil bakteriosin sebagai agensia biokontrol *E. Coli* dan *S. aureus* pada Sayuran Segar Simpan Dingin. Agritech 24 (3) : 113 – 124
- Salle, A.J. 1979. Fundamental Principles of bacteriology. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd, New Delhi
- Seely, H. W., P. W. Vanden Mark and J. J. Lee. 2001. Microbes in Action> A Laboratory Manual of Microbiology. 4<sup>th</sup> edition. W. H. Freeman and Comp. New York, p. 145 – 146
- Setyorini, D. A. dan C. I. Sutrisno. 2002. daya Hidup Bakteri Pembentuk Asam dan Total Fungi Kotoran Ayam yang Dikeringkan dengan Oven dan Sinar Matahari. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang (Laporan Penelitian