

KARAKTERISTIK BAKTERI ASAM LAKTAT YANG DIISOLASI DARI SUSU KUDA SUMBA

(Characteristics of Lactic Acid Bacteria from Sumba Mares Milk)

**Annytha Detha^{1*}, Frans Umbu Datta², Elisabet Beribe³, Nancy Foeh⁴, Nemay
Ndaong⁵**

¹Laboratorium Kesehatan Masyarakat , Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas
Nusa Cendana

²Laboratorium Anatomi, Fisiologi, Farmakologi dan Biokimia, Fakultas
Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang, Email :
indonesiakujaya@yahoo.com;

³Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang. Email:
elisabet_beribe@gmail.com

⁴Laboratorium Klinik, Reproduksi, Patologi, dan Nutrisi, Fakultas Kedokteran
Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang. Email: nancy_vet04@yahoo.co.id

⁵Laboratorium Anatomi, Fisiologi, Farmakologi dan Biokimia, Fakultas
Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang, Email :
nemayndanong@gmail.com

*Korespondensi: detha.air@staf.undana.ac.id

Pemasukan Artikel : 25 Mei 2019 Direvisi : 30 Mei 2019 Diterima : 10 Juni 2019 Publikasi Daring : 15 Juni 2019

ABSTRACT

The purpose of this study was to isolate and identify the lactic acid bacteria found in Sumba mares milk. This research will be carried out from September to November 2017 at the Veterinary Laboratory of the Livestock Service Office of East Nusa Tenggara Province. The research stages are isolation of lactic acid bacteria from Sumba mares milk by growing lactic acid bacteria on MRS agar media, and identifying lactic acid bacteria with gram staining, catalase test, motility test, and total plate count testing. Based on the results of the study, the presence of lactic acid bacteria originating from Sumba mares milk was characterized by the presence of colonies of lactic acid bacteria from Sumba mares milk which grew on MRS media agar as a selective medium for lactic acid bacteria. Based on the results of testing the characteristics of lactic acid bacteria Sumba mares milk has Gram positive, the negative results in the catalase test are characterized by not forming gas bubbles when the bacteria are added with H₂O₂. Based on the motility test obtained negative results or bacteria are non-motile and the number of lactic acid bacteria that can be a total picture of lactic acid bacteria that exist in Sumba mares milk in milliliter of milk. The conclusion are lactic acid bacteria isolated from Sumba mares milk has characteristic as Gram positive, basil or stem shaped, negative catalase and non motile, and has a total lactic acid bacteria of 3.5 x 10⁸ cfu/ml (est).

Key Words : sumba mares milk, lactic acid bacteria, prebiotic

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat merupakan golongan bakteri menguntungkan yang membantu dalam proses fermentasi. Bakteri yang umumnya dari genus *Lactobacillus* ini diketahui memiliki peran penting dalam saluran pencernaan yang bersifat kompetitif untuk mengeliminasi bakteri patogen penyebab penyakit atau bakteri patogen sehingga memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan manusia atau hewan (Detha 2018; Wibowo 2012; Afriani dan Haris 2005; Surono 2004). Bahkan beberapa kajian menyebutkan bakteri asam laktat dapat meningkatkan kesehatan saluran pencernaan dan menurunkan risiko terjadinya tumor dan kanker kolon (Roos dan Katan 2000; Rolfe 2000).

Berdasarkan sifat dan morfologi, bakteri asam laktat memiliki ciri tertentu antara lain mampu memfermentasi glukosa untuk menghasilkan asam laktat, memiliki pH optimum yaitu 4-5, non motil, bersifat katalase negatif, tidak menghasilkan spora, dan memiliki Gram positif (Rattanachaikunsopon dan Phumkhachorn 2010). Berdasarkan keberadaan oksigen, bakteri ini mampu tumbuh pada kondisi aerob maupun anaerob (Yousef and Clastrom, 2003). senyawa antimikroba terutama pada bakteri penyebab mastitis (Detha *et al.* 2013). Secara karakteristiknya

dalam fermentasi karbohidrat, bakteri asam laktat memiliki 2 tipe fermentasi. Beberapa bakteri asam laktat memfermentasi karbohidrat dan hanya menghasilkan asam laktat atau yang disebut homofermentatif (sebagian besar hasil akhir merupakan asam laktat), sedangkan bakteri asam laktat lainnya bersifat heterofermentatif yaitu proses fermentasi yang produk akhir berupa asam laktat, asam asetat, etanol dan CO₂) (Hasrul, 2005).

Berdasarkan habitatnya, bakteri asam laktat dapat ditemukan pada lingkungan dan berbagai bahan alami, termasuk susu. Susu kuda Sumba merupakan salah satu hasil produksi peternakan yang penting dan mempunyai nilai gizi yang tinggi dan komposisi kimiawi yang seimbang (Detha *et al.* 2014). Komponen bioaktif susu dapat berasal dari berbagai sumber, termasuk protein, lemak, vitamin dan mineral (Detha *et al.* 2013). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Widiada (2006) dan Sujaya *et al.* (2008), bakteri asam laktat ditemukan pada susu kuda Sumbawa dan memiliki kemampuan menghambat mikroorganisme patogen (Sinlae *et al.* 2014). Susu kuda Sumba dan susu kuda Sumbawa memiliki pola pemeliharaan yang berbeda dalam hal tempat dan jenis pakan yang dikonsumsi sehingga terdapat perbedaan karakteristik jenis bakteri

asam laktat yang dimiliki kedua jenis susu kuda tersebut. Berdasarkan latar belakang inilah perlunya kajian

tentang isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat susu kuda Sumba.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada September hingga November 2017 yang meliputi isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari susu kuda sumba. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UPT Veteriner Dinas Peternakan Provinsi Nusa Tenggara Timur.

Materi Penelitian

Peralatan yang digunakan yaitu cawan petri, ose, lampu spritus, *cold box*, tabung duram, pH meter, gelas ukur, mikroskop binokuler, *cover glass*, *objek glass*, timbangan digital, gelas *beaker*, batang pengaduk, mikropipet, pipet, kertas label, masker dan sarung tangan. Bahan penelitian yang digunakan yaitu susu kuda Sumba, media MRS (*De Man-Rogosa-Sharpe*) agar, media MRS (*De Man-Rogosa-Sharpe*) broth, larutan PBS (*Phospat Buffered Saline*), media SIM(*Sulfida indole motility*), *effective microorganism* (EM4TM), aquades, larutan *buffer*, larutan kristal violet, larutan iodine, safranin, NaCl fisiologis, alkohol 96% dan H₂O₂ 3%.

Metode Penelitian

Pengambilan Sampel Susu Kuda Sumba

Susu kuda Sumba yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari kuda lokal yang dipelihara oleh peternak di Kecamatan Lewa Kabupaten Sumba Timur. Sampel diambil sebanyak 50 mL dan disimpan pada lemari pendingin hingga dilakukan isolasi dan identifikasi.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri asam laktat dari susu kuda sumba dilakukan dengan menumbuhkan bakteri asam laktat pada media MRS agar. Namun, sebelum ditumbuhkan pada media MRS agar, susu kuda sumba terlebih dahulu diencerkan dengan larutan PBS, dengan langkah-langkah yaitu sebanyak 1 mL susu kuda sumba diencerkan dalam larutan PBS sebanyak 9 mL sampai pengenceran 10⁻⁸; Sebanyak 1 mL susu kuda sumba yang telah diencerkan pada pengenceran 10⁻⁸ diisolasi pada media agar MRS, kemudian diinkubasi secara anerob di dalam *candle jar* pada suhu 37 °C selama 48 jam; Sebanyak 1 mL susu kuda sumba yang telah diencerkan pada pengenceran 10⁻⁷ diisolasi pada media agar MRS, kemudian diinkubasi secara anaerob di dalam

candle jar pada suhu 37 °C selama 48 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya koloni bakteri yang tumbuh pada media agar MRS; Setelah itu koloni bakteri yang tumbuh terpisah dengan ukuran 0,1-3 mm diisolasi kembali pada media MRS agar dengan metode gores, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Pewarnaan Gram

Salah satu cara mengidentifikasi suatu kelompok bakteri adalah dengan melakukan pewarnaan Gram untuk melihat bentuk dari bakteri tersebut. Berikut adalah langkah-langkah pewarnaan Gram yaitu isolat dari media MRS agar yang telah tumbuh diambil menggunakan ose, dibuat preparat ulas diatas *objek glass* dan kemudian difiksasi di api Bunsen; Preparat kemudian ditetesi dengan larutan kristal violet, didiamkan selama 60 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan; Selanjutnya preparat ditetesi dengan larutan iodin, didiamkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan; Preparat kemudian ditetesi alkohol 96% sampai warna ungu hilang; Selanjutnya preparat ditetesi safranin, didiamkan selama 30 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan; Preparat yang telah dikeringkan kemudian diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan minyak emersi; Bakteri asam laktat ditandai dengan

sel berwarna ungu dan berbentuk batang.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Uji Katalase

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri dengan katalase negatif. Berikut merupakan langkah-langkah uji katalase yaitu isolat dari agar MRS diambil satu ose, kemudian dioleskan pada *objek glass* yang telah diberi alkohol; *Objek glass* ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3% dan diamati terbentuknya gelembung gas pada preparat; Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri dengan katalase negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Uji Motilitas

Pengujian motilitas bakteri asam laktat dilakukan menggunakan media SIM. Berikut merupakan langkah-langkah uji motilitas yaitu isolat dari media MRS agar ditusukkan pada agar tegak semi solid (medium SIM tegak) kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C; Hasil positif (motil) jika terdapat rambahan-rambahan di sekitar bekas tusukan jarum pada medium dan hasil negatif (non motil) bila tidak terdapat rambahan-rambahan di sekitar bekas tusukan jarum ose pada medium. Bakteri asam laktat merupakan bakteri non motil yang ditandai tidak terdapatnya rambahan di sekitar bekas tusukan.

Pembuatan Inokulum Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat yang telah diidentifikasi kemudian dibiakkan pada media MRS Broth dan diinkubasi pada suhu 37 °C. Bakteri asam laktat yang telah dibiakkan pada media MRS Broth, kemudian dipanen dan dicampur dengan larutan gula air yang telah diencerkan sebagai inokulum bakteri asam laktat. Berikut merupakan langkah-langkah pembuatan inokulum bakteri asam laktat yaitu sebanyak 50 mL gula air diencerkan ke dalam 450 mL akuades dan disterilkan; Kemudian sebanyak 50 mL bakteri asam laktat dari media MRS Broth dicampurkan dengan 450 mL larutan gula air steril.

Pengujian *Total Plate Count*

Setelah pembuatan inokulum bakteri asam laktat, dilanjutkan dengan pengujian *total plate count*. Pengujian *total plate count* dilakukan dengan langkah-langkah yaitu sebanyak 1 mL inokulum bakteri asam laktat diencerkan ke dalam 9 mL larutan PBS sampai pada tingkat pengenceran 10^9 ; Selanjutnya inokulum bakteri asam laktat yang telah diencerkan pada tingkat pengenceran 10^8 dan 10^9 diisolasi pada media MRS agar dengan metode tuang dan diinkubasi secara anaerob di dalam *candle jar* pada suhu 37 °C selama 48 jam; Koloni bakteri yang tumbuh pada media MRS agar kemudian dihitung menggunakan *coloni counter*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumba

Berdasarkan hasil isolasi bakteri asam laktat, diperoleh adanya bakteri asam laktat yang ditandai dengan adanya koloni bakteri asam laktat dari susu kuda sumba yang tumbuh pada media MRS agar yang merupakan media selektif untuk bakteri asam laktat. Koloni yang diduga bakteri asam laktat tumbuh sebagai koloni bulat cembung dan berwarna putih susu hingga putih kekuningan. Hasil ini sebagaimana kajian yang dilakukan pada susu kuda Sumbawa yang menyebutkan adanya enam spesies bakteri asam laktat yang diidentifikasi yaitu

Lactobacillus brevis, *Lactobacillus plantarum* *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii* dan *Lactococcus lactis subsp. Lactis* (Widiada, 2006; Sujaya et al. 2008).

Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumba Pewarnaan Gram

Berdasarkan hasil pengujian karakteristik bakteri asam laktat susu kuda Sumba, adanya bakteri yang tumbuh pada media MRS agar, memiliki Gram positif. Hal ini didukung dengan pernyataan Yousef and Clastrom (2003) bahwa

berdasarkan pewarnaan Gram, bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri Gram positif. Bakteri yang tergolong ke dalam bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang mengandung peptidoglikan yang tebal sehingga akan mempertahankan

warna ungu dari zat warna kristal violet. Hasil ini senada dengan yang dilakukan Sarkono *et al.* (2010) yang menyebutkan adanya bakteri asam laktat dari induk Abalon (*Haliotis asinina*) merupakan bakteri Gram positif.



Gambar 1. Bakteri asam laktat yang ber-Gram positif dan berbentuk basil atau batang yang diamati pada mikroskop binokular dengan perbesaran 100x.

Uji Katalase

Berdasarkan uji katalase, diperoleh hasil negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas. Berdasarkan penelitian Ibrahim *et al.* (2015) uji katalase menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat menunjukkan hasil uji katalase negatif dimana tidak terbentuknya gelembung pada objek glass yang terdapat cairan H_2O_2 dan diolesi dengan bakteri. Proses ini disebabkan oleh sifat bakteri asam laktat yang tidak memproduksi enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen dan berkaitan dengan bakteri asam laktat yang merupakan bakteri anerob.

Uji Motilitas

Berdasarkan uji motilitas yang telah dilakukan dengan menusukan bakteri asam laktat menggunakan ose ke dalam media SIM, diperoleh hasil yaitu tidak terbentuknya rambahan di sekitar bekas tusukan. Hasil penelitian menunjukkan hasil negatif atau bakteri bersifat non motil.

Perhitungan TPC (*Total Plate Count*)

Setelah bakteri asam laktat berhasil diidentifikasi, selanjutnya dilakukan perhitungan TPC (*total plate count*) menggunakan *coloni counter*. Perhitungan TPC dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara

menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar (Yunita et al. 2015). Berdasarkan hasil perhitungan TPC, maka jumlah bakteri asam laktat adalah $3,5 \times 10^8$

cfu/ml (est). Hal ini dapat menjadi gambaran total bakteri asam laktat yang ada pada susu kuda Sumba pada setiap milliliter susu.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu kuda sumba memiliki karakteristik Gram

positif, berbentuk basil atau batang, katalase negatif dan non motil, dan memiliki jumlah total bakteri asam laktat sebesar $3,5 \times 10^8$ cfu/ml (est).

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani S. dan Haris L. 2011, Karakteristik Dadih Susu Sapi Hasil Fermentasi beberapa Starter Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari Dadih asal Kabupaten Kerinci. *Jurnal Agri Peternakan* 1 (1):36-42.
- Detha A, Datta FU, Beribe E, Foeh N, Ndaong N. 2018. Efektivitas Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Susu Kuda Sumba terhadap Kualitas Silase Jerami Padi. *Jurnal Kajian Veteriner* 6(1): 31-37.
- Detha A, Sudarwanto M, Latif H, Datta FU, Latif P. 2013. Fractionation and Identification Antimicrobial Activity of Sumba Mare's Milk Protein Against Subclinical Mastitis Bacteria in Dairy Cattle. *Global Veterinaria* 11(5): 674-680.
- Detha A, Sudarwanto M, Latif H. dan Datta F. 2014, Komposisi Kimiawi dan Fraksinasi Protein Susu Kuda Sumba. *Jurnal Veteriner* 15 (4):506-514
- Hasrul SN. 2005, Pembentukan Asam Organik oleh Isolat Bakteri Asam Laktat Pada Media Ekstrak Daging Buah Durian (*Durio zibethinus Murr*). *Journal Bioscientiae* 2(1):15-24.
- Ibrahim A, Fridayanti A, Delvia F. 2015, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera Indica L.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung* 1(2):159-163.
- Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. 2010. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Annals of Biological Research*, 1(4): 218-223.
- Rolfe RD. 2000, The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. *Jurnal of Nutrition*. 130: 396-402
- Roos N M dan Katan MB. 2000, Effect of Probiotic Bacteria on

- Diarrhea, Lipid Metabolism, and Carcinogenesis: A Review of Papers Published between 1988 and 1998. *Journal of Clinical Nutrition* 71:405-411.
- Sinlae RN, Suada IK dan Sampurna IP. 2014, Kualitas Susu Kuda Sumbawa pada Penyimpanan Suhu Ruang. *Buletin Veteriner Udayana* 6 (2):93-97
- Sujaya N, Ramona Y, Widarini NP, Suariani NP, Dwipayanti NMU, Nocianitri KA. 2008, Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. *Jurnal Veteriner* 9 (2) :52-59
- Surono IS. 2004, *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. PT. Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Widiada IGN, Antara NS, dan Aryanta WR. 2006, *Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Wild Horse Milk Of Bima And Their Growth Succession During Storage*. Faculty of Agricultural Technology, Udayana University.
- Yousef AE and Clastrom C. 2003, *Food Microbiology (A Laboratory Manual)*. Wiley-Interscience, John Wiley and Sons, Inc. Ohio State University. USA. 223-224.
- Yunita M, Hendrawan Y, dan Yulianingsih R, 2015, Analisis Kuantitatif Mikrobiologi pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) dengan Metode *Pour Plate*. *Jurnal Keteknikaan Pertanian Tropis dan Biosistem* 3 (3):237-248.