

Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 9A Asal Kolon Sapi Bali secara Fenotipik

(IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATE 9A FROM BALI CATTLE'S COLON PHENOTYPICALLY)

Mita Ekamelinda^{1*}, I Wayan Suardana², Komang Januartha Putra Pinatih³

¹Praktisi Dokter Hewan di Kota Denpasar-Bali.

²Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Jl PB Sudirman Denpasar, Bali

³Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana. Jl PB Sudirman Denpasar, Bali

*Email: mitaeka@outlook.com

ABSTRAK

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang bermanfaat dalam bidang pangan dan kesehatan sebagai *biopreservatif*, *fermentatif*, atau probiotik. Sapi bali diketahui dapat menjadi inang potensial untuk bakteri asam laktat spesifik. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi secara fenotipik bakteri asam laktat isolat 9A yang diisolasi dari kolon sapi bali, yang menghasilkan substansi diketahui memiliki potensi sebagai antimikroba. Identifikasi secara fenotipik mencakup uji secara konvensional dan uji API 50 CHL. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa secara konvensional, bakteri asam laktat isolat 9A adalah *Streptococcus sp*, sedangkan hasil uji menggunakan *kit* API 50 CHL, menunjukkan hasil isolat 9A sebagai *Lactobacillus fermentum* dengan nilai identifikasi 83%. Perbedaan hasil antara uji konvensional dengan hasil uji *kit* API 50 CHL, menunjukkan adanya perbedaan sensitivitas dan spesifitas dari kedua uji, sehingga perlu dikonfirmasi lebih lanjut.

Kata kunci: Bakteri asam laktat; isolat 9A; uji konvensional; uji API 50 CHL

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are the type of bacteria that has benefits in food and health industries as a biopreservative, fermentative, or probiotics. Bali cattle are known as potential host for specific lactic acid bacteria. The aim of this study is to identify phenotypically lactic acid bacteria 9A isolated from bali cattle's colon, that producing a substance which known has potency as antimicrobial. In this study, phenotypic identification included conventional method and API 50 CHL. The result of this study showed that lactic acid bacteria isolate 9A was *Streptococcus sp.*, whereas identification by kit API 50 CHL showed isolate 9A as *Lactobacillus fermentum* with 83% identity. The difference between the results of conventional method and kit API 50 CHL, may indicate the difference in sensitivity and specificity of the two methods, hence it needs further confirmation.

Keywords: Lactic acid bacteria; 9A isolate; conventional method; API 50 CHL test

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri Gram-positif berbentuk batang atau bulat yang tidak membentuk spora, bersifat katalase negatif dan dapat memfermentasikan karbohidrat dengan hasil utamanya adalah asam laktat (Axelsson, 1998 dalam Suryani *et al.*, 2010). Bakteri asam laktat dapat ditemukan di lingkungan yang bervariasi seperti buah dan sayuran (Bae *et al.*, 2006; Nyanga *et al.*, 2007), cairan rumen sapi bali (Suardana

et al., 2007), susu (Imen *et al.*, 2016) dan nasi serta singkong (Reddy *et al.*, 2008).

Bakteri asam laktat secara umum memiliki fungsi sebagai probiotik, *biopreservatif* dan *fermentatif* dalam pangan (Azhar, 2014; Suardana, 2014). Pada kajian ini, identifikasi bakteri asam laktat akan difokuskan secara fenotipik. Identifikasi secara fenotipik adalah identifikasi berdasarkan sifat sitologi (bentuk sel, gerak atau motilitas, dan sifat Gram), sifat morfologi (ukuran, bentuk, warna dan tepian), serta sifat fisiologi (uji

hidrolisis, katalase, dan uji – uji biokimia lainnya). Identifikasi secara fenotipik memiliki keunggulan seperti prosedur yang sederhana, biaya yang lebih murah dan perangkat yang mudah didapatkan (Temmerman *et al.*, 2004).

Sapi bali merupakan plasma nutfah asli yang dimiliki Indonesia dan merupakan hasil domestikasi dari Banteng (*Bos bibos banteng*) yang berasal dari Pulau Bali (Suwiti, 2009). Sapi bali memiliki keunggulan berupa adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan dan terhadap jenis makanan kasar yang memiliki kadar serat yang tinggi, seperti rumput ladang dan jerami padi jika dibandingkan dengan jenis sapi lainnya (Gunawan *et al.*, 2016). Selain itu, faktor makanan yang tinggi serat dan amilum memiliki pengaruh terhadap adanya bakteri asam laktat spesifik di dalam saluran pencernaan (Krause *et al.*, 2003). Hal ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya yang telah menemukan kandidat bakteri asam laktat asal sapi bali yang memiliki potensi probiotik, seperti *Lactococcus lactis spp lactis 1* (Suardana *et al.*, 2009), *Lactobacillus brevis 1* (Suardana 2013), dan *Enterococcus durans* (Suardana *et al.*, 2016). Isolasi asal kolon dipilih berdasarkan tingginya koloni bakteri asam laktat jika dibandingkan dengan saluran usus lainnya (Perdigon *et al.*, 2002).

Berdasarkan hasil dari penelitian Lindawati dan Suardana (2014) ditemukan bahwa isolat 9A yang berasal dari hasil isolasi kolon sapi bali, diketahui menghasilkan suatu substansi yang memiliki potensi sebagai antimikroba berdasarkan daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* (0,593 mm) dan *E. coli* (0,26 mm). Disamping itu, isolat 9A sejauh ini belum dikarakterisasi kemampuannya sebagai kandidat probiotik. Mengacu kepada hal tersebut, maka penelitian ini dilakukan dengan harapan dapat diidentifikasinya bakteri asam laktat dengan karakteristik tertentu dari kolon sapi bali.

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi dari kultur isolat 9A asal kolon sapi bali sebagai hasil dari penelitian Lindawati dan Suardana (2016). Isolat 9A kemudian diinokulasi dan dikultivasi kembali dengan MRS *broth*, kemudian identifikasi dilakukan secara konvensional berdasarkan metode Holzapfel dan Schillinger (1992) dalam Widodo (2003) melalui serangkaian pengujian untuk mengetahui genus, dan terakhir dilakukan identifikasi dengan *kit* API 50 CHL (Suardana *et al.*, 2009) untuk memastikan dan menentukan spesies bakteri asam laktat tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat 9A dikultivasi dengan cara ditanamkan pada MRS *broth*, kemudian dilakukan uji katalase, pewarnaan Gram, serta pengamatan morfologi dan susunan sel bakteri dengan tujuan untuk memastikan kemurnian kultur isolat 9A tersebut.

Tabel 1. Hasil Kultivasi Isolat 9A

Isolat	Jenis Uji	Hasil
Isolat 9A	Penanaman pada MRS <i>broth</i>	Positif
	Uji katalase	Negatif
	Pewarnaan Gram	Positif
	Bentuk	Kokus
	Susunan sel	Berantai

Pada Tabel 1 didapatkan hasil bahwa isolat 9A tersebut memiliki ciri sebagai bakteri asam laktat. selanjutnya dilakukan identifikasi lebih lanjut pada tahap genus secara konvensional, berupa uji produksi gas dan uji pertumbuhan pada suhu 10⁰C.

Setelah dilakukan uji, didapatkan hasil negatif pada uji produksi gas dan uji pertumbuhan pada suhu 10⁰C. Berdasarkan metode Holzapfel dan Shillinger (1992) dalam Widodo (2003), hasil ini menunjukkan bahwa isolat 9A merupakan bakteri *Streptococcus spp.*

Tabel 3. Identifikasi BAL Isolat 9A Menggunakan KitAPI50 CHL

Tube	Jenis Karbohidrat	Isolat 9A	Tube	Jenis Karbohidrat	Isolat 9A
0	Kontrol	-	25	Esculin feric citrate	-
1	Glycerol	+	26	Salicin	-
2	Erythritol	-	27	D-Celiobiose	-
3	D-Arabinose	-	28	Maltose	+
4	L-Arabinose	-	29	D-Lactose	+
5	D-Ribose	+	30	D-Melibiose	-
6	D-Xylose	-	31	D-Saccharose	+
7	L-Xylose	-	32	D-Trehalose	-
8	D-Adonitol	-	33	Inulin	-
9	Methyl-βD-Xylopyranoside	-	34	D-Melezitose	-
10	D-Galactose	+	35	D-Rafinose	-
11	D-Glucose	+	36	Amidon	-
12	D-Fructose	+	37	Glycogen	-
13	D-Mannose	+	38	Xylitol	-
14	L-Sorbose	-	39	Gentiobiose	-
15	L-Rhamnose	-	40	D-Turanose	-
16	Dulcitol	-	41	D-Lyxose	-
17	Inucitol	-	42	D-Tagatose	-
18	D-Mannitol	-	43	D-Fucose	-
19	D-Sorbitol	-	44	L-Fucose	-
20	Methyl- D-Mannopyranose	-	45	D-Arabitol	-
21	Methyl- D-Glucopyranose	-	46	-Arabitol	-
22	N-Acetyl Glucosamine	-	47	Potassium Gluconate	-
23	Amygladin	-	48	Pottasium 2-Ketogluconate	+
24	Arbutin	-	49	Potassium 5-Ketogluconate	-

Keterangan: (+) dapat memfermentasi; (-) tidak dapat memfermentasi

Hasil penelitian ini mendukung beberapa penelitian sebelumnya, yang menyebutkan bahwa *Streptococcus spp.* merupakan bakteri dengan karakteristik homofermentatif, dan dapat bersifat mesofilik hingga termofilik (Moreira *et al.*, 2000). *Streptococcus sp.* adalah bakteri Gram-positif, berbentuk bulat tidak tetrad dan termasuk dalam ordo *Lactobacillales* yang dapat menghasilkan asam laktat. Berdasarkan sifat hemolitik, *Streptococcus sp.* dibagi menjadi tiga tipe yaitu *alpha-hemolytic*, *beta-hemolytic*, dan *gamma/non-hemolytic*. *Streptococcus sp.* umumnya dikenal sebagai bakteri patogen,

namun terdapat spesies tertentu yang bersifat nonpatogenik dan dapat dimanfaatkan dalam bidang pangan sebagai probiotik atau *biopreservatif* seperti *Streptococcus thermophilus* (Wood dan Warner, 2003).

Isolat 9A yang teridentifikasi sebagai *Streptococcus sp.*, selanjutnya diidentifikasi secara biokimiawi berdasarkan kemampuannya memfermentasi karbohidrat menggunakan kit API 50 CHL. Uji fermentasi dengan menggunakan perangkat kit API 50 CHL dengan waktu inkubasi selama 48 jam. Hasil uji API 50 CH menunjukkan bahwa

isolat 9A mampu memfermentasi 10 komponen gula, yaitu komponen gula *Glycerol*, *D-Ribose*, *D-Galactose*, *D-Glucose*, *D-Fructose*, *D-Mannose*, *Maltose*, *D-Lactose*, *D-Saccharose*, *Potassium-2-Ketogluconate*.

Berdasarkan hasil identifikasi spesies dengan menggunakan perangkat *kit* API 50 CHL medium versi 5.1 (*bioMe'rieux, France*) yang dilanjutkan dengan pengolahan dan analisis menggunakan *software* APIWEB, didapatkan bahwa isolat 9A adalah *Lactobacillus fermentum*, dengan nilai identifikasi 83%. Jenis substrat yang difermentasi oleh isolat 9A dalam *kit* API 50 CHL seperti tersaji pada Tabel 3.

Hasil ini jelas berbeda dengan hasil uji konvensional, yang mengelompokkan sebagai *Streptococcus sp.* Namun apabila ditelusuri lebih lanjut, perbedaan hasil uji molekular, konvensional, dan *kit* API adalah hal yang dapat terjadi (Kulwichit, 2007). Hal ini dapat dilihat karena terbatasnya tabel identifikasi bakteri dengan dideteksi oleh *kit* API 50 CHL, sehingga lebih cocok untuk mengidentifikasi jenis bakteri golongan *Lactobacillus sp.* dan bakteri *Streptococcus termophilus* (*bioMe'rieux, France*).

Berdasarkan hal tersebut, dan melihat nilai identifikasi isolat 9A sebesar 83%, serta hasil pengamatan morfologi bakteri yang menunjukkan isolat 9A berbentuk kokus berantai, maka dapat disimpulkan bahwa isolat 9A adalah *Streptococcus sp.* Hal ini juga didukung oleh uji genotipik yang telah dilakukan sebelumnya, yang didapatkan hasil isolat 9A sebagai *Streptococcus bovis* dengan nilai kemiripan 99% (Widyadnyana et al., 2015).

SIMPULAN

Simpulan

Hasil uji konvensional, menunjukkan isolat 9A termasuk genus *Streptococcus spp.* Hasil uji konfirmasi menggunakan *kit* API 50 CHL, didapatkan hasil yang berbeda yaitu bakteri *Lactobacillus fermentum*.

Saran

Identifikasi bakteri asam laktat secara fenotipik dan genotipik sebaiknya tidak dipisahkan. Identifikasi BAL menggunakan *kit* API 50 CHL kurang tepat penggunaannya bila secara konvensional tidak menunjukkan genus *Lactobacilli*, sehingga akan lebih baik bila dilanjutkan dengan uji identifikasi secara molekular, atau dengan *kit* API 20 STREP.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada UPT Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana atas penggunaan fasilitas selama penelitian ini dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Azhar F. 2014. Pengaruh Pemberian Probiotik dan Prebiotik terhadap Performan Juvenile Ikan Kerapu Bebek. *Bul. Vet.* 6(1): 1-9.
- Bae S, Fleet GH, Heard GM. 2006. Lactic acid bacteria associated with wine grapes from several Australian vineyards. *J. Appl. Microbiol.* 100: 712-727.
- Gunawan IW, Suwiti NK, Sampurna P. 2016. Pengaruh Pemberian Mineral Terhadap Lingkar Dada, Panjang dan Tinggi Tubuh Sapi Bali Jantan. *Bul. Vet.* 8(2): 128-134.
- Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Björkroth J, Schillinger U. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clinic. Nutr.* 73(2): 365-373.
- Imen F, Manel Z, Moufida A, Naziha A, Samira A, Mouna A, Touhami K. 2016. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products. *J. Dairy. Technol.* 16(1): 103-113.
- Krause DO, Smith WJ, Conlan LL, Gough JM, Williamson MA, McSweeney CS. 2003. Diet influences the ecology of lactic acid bacteria and *Escherichia coli*

- along the digestive tract of cattle: neural networks and 16S rDNA. *J. Microbiol.* 149(1): 57-65.
- Kulwichit WS, Nilgate T, Chatsuwana S, Krajiw C, Unhasuta, Chongthaleong A. 2007. Accuracies of *Leuconostoc* phenotypic identification: A comparison of API systems and conventional phenotypic assays. *BMC Infect. Dis.* 7(1): 69.
- Lindawati SA, Suardana IW. 2016. Isolasi dan Identifikasi Spesies Bakteri Asam Laktat Penghasil Senyawa Antimikrob Asal Kolon Sapi Bali. *J. Vet.* 17(4): 576-581.
- Mantovani HC, Hu H, Worobo RW, Russell JB. 2002. Bovicin HC5, a bacteriocin from *Streptococcus bovis* HC5. *J. Microbiol.* 148(11): 3347-3352.
- Moreira M, Abraham A, Antoni GD. 2000. Technological properties of milks fermented with thermophilic lactic acid bacteria at suboptimal temperature. *J. Dairy. Sci.* 83(3): 395-400.
- Nyanga LK, Nout MJ, Gadaga TH, Theelen B, Boekhout T, Zwietering MH. 2007. Yeasts and lactic acid bacteria microbiota from masau (*Ziziphus mauritiana*) fruits and their fermented fruit pulp in Zimbabwe. *J. Food. Microbiol.* 120: 159-166.
- Perdigon G, Galdeano CM, Valdez JC, Medici M. 2002. Interaction of lactic acid bacteria with the gut immune system. *Europ. J. Clin. Nutr.* 56(4): 21-26.
- Reddy G, Altaf M, Naveena BJ, Venkateshwar M, Kumar EV. 2008. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation-A review. *J. Elsevier-Biotech. Adv.* 26: 22-34.
- Suardana IW, Suarsana IN, Sujaya IN, Wiryawan KG. 2007. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari cairan rumen sapi bali sebagai kandidat biopreservatif. *J. Vet.* 8(4): 155-159.
- Suardana IW, Suada IK, Sukada IM, Suarsana IN. 2009. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat SR9 asal cairan rumen sapi bali sebagai kandidat probiotik. *J. Medicina.* 40(2): 100-103.
- Suardana IW. 2013. Potensi Isolat *Lactobacillus brevis* 1 Asal Cairan Rumen Sapi Bali sebagai Sumber Senyawa Antimikroba. *Proc. Seminar Nasional Sapi Bali.* Pp: 87-97.
- Suardana IW. 2014. Aplikasi Bakteriosin Asal Yoghurt sebagai Biopreservatif Daging Ayam pada Penyimpanan Suhu Dingin. *Proc. Seminar Nasional Sains dan Teknologi.* Pp: 362-372.
- Suardana IW, Cahyani AP, Pinatih KJP. 2016. Probiotic potency and molecular identification of lactic acid bacteria isolated from bali cattle's colon, Indonesia. *J. Med. & Medical Sci.* 5(5): 143-149.
- Suryani Y, Oktavia AB, Umniyati S. 2010. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah kotoran ayam sebagai agensi probiotik dan enzim kolesterol reduktase. *J. Biota.* 12 (3):177-185.
- Suwiti, NK. 2009. Fenomena Jembrana Disease dan Bovine Immunodeficiency Virus Pada Sapi Bali. *Bul. Vet.* 1(1): 21-25.
- Temmerman R, Huys G, Swings J. 2004. Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. *J. Trends. in Food. Sci. & Tech.* 15(7): 348-359.
- Widodo. 2003. Bioteknologi Industri Susu. Lacticia Press: Yogyakarta
- Widyadnyana DGA, Sukrama IDM, Suardana IW 2015. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali sebagai Probiotik melalui Analisis Gen 16S rRNA. *J. Sain.Vet.* Vol 33 (2): 228-233.
- Wood BJ, Warner PJ. 2003. Genetics of lactic acid bacteria Vol 3. Springer Science & Business Media: USA.