

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa

(CHARACTERIZATION OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED
FROM SUMBAWA MARE MILK)

¹Nengah Sujaya^{1,2}, Yan Ramona^{2,3}, Ni Putu Widarini¹, Ni Putu Suariani¹,
Ni Made Utama Dwipayanti¹, Komang Ayu Nocianitri^{2,4}, Ni Wayan Nursini²

¹Program Studi Ilmu Kesehatan Masyarakat,

²UPT. Laboratorium Terpadu Biosain dan Bioteknologi

³Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

⁴Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Badung, Bali.

Tel/Fax : +62 361 701 805; Email : inengah_sujaya@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat (BAL) dari susu kuda sumbawa. Isolasi BAL dilakukan pada medium *Man Rogosa Sharpe* (MRS) agar. Karakterisasi isolat dilakukan dengan metode standar seperti pewarnaan Gram, pengamatan morfologi sel, serta kemampuannya untuk memfermentasi glukosa. Daya hambatnya terhadap bakteri patogen ditentukan dengan metode *dual culture assay*. Isolat yang menunjukkan spektrum daya hambat paling luas diidentifikasi lebih lanjut dengan menggunakan kit API 50 CHL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa susu kuda sumbawa didominasi oleh bakteri *lactobacilli* dan *weisella/leuconostoc*. Sebanyak 26 dari 36 isolat yang diisolasi merupakan kelompok *lactobacilli* homofermentatif dan 10 isolat merupakan kelompok *lactobacilli heterofermentatif/weissella/leuconostoc*. Sebanyak 24 isolat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* 25922, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, dan *Staphylococcus aureus* 29213. Dua isolat yang mempunyai daya hambat terbesar, yaitu *Lactobacillus* sp. SKG34 dan *Lactobacillus* sp. SKG49, berturut-turut teridentifikasi sebagai *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 dan *L. rhamnosus* SKG49. Kedua strain ini merupakan strain yang khas untuk susu kuda sumbawa dan sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi probiotik.

Kata kunci : Susu kuda sumbawa, bakteri asam laktat, *Lactobacillus rhamnosus*, probiotik

ABSTRACT

A study was carried out to isolate and characterize lactic acid bacteria (LAB) from the Sumbawa mares milk. The Isolation of LAB was conducted in *Man Rogosa Sharpe* (MRS) agar. The isolates were characterized by standard methods, such as Gram staining, cell morphology study and fermentation activities. The ability of the isolates to inhibit some pathogenic bacteria was studied by dual culture assay. Isolates showing the widest spectrum of inhibiting pathogenic bacteria were further identified using API 50 CHL. The results showed that Sumbawa mare milk was dominated by *lactobacilli* and *weisella/leuconostoc*. As many as 26 out of 36 isolates belong to homofermentative *lactobacilli* and another 10 isolates belong to both heterofermentative *lactobacilli* and *weissella* or *leuconostoc*. Twenty four isolates inhibited the growth of *Escherichia coli* 25922, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, and *Staphylococcus aureus* 29213. Two promising isolates with the widest spectrum of inhibiting pathogenic bacteria, *Lactobacillus* sp. SKG34 and *Lactobacillus* sp. SKG49, were identified respectively as *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 and *L. rhamnosus* SKG49. These two isolates were specific strains of the sumbawa mare milk and are very potential to be developed as probiotic for human.

Key Words : Sumbawa mare milk, lactic acid bacteria, *rhamnosus*, probiotic

PENDAHULUAN

Pergeseran pola makan masyarakat modern dengan konsumsi bahan makanan yang mengandung protein dan lemak yang tinggi serta kandungan serat yang rendah diduga sebagai salah satu pemicu munculnya berbagai penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan (Saarela *et al.* 2002). Modifikasi komposisi bakteri saluran pencernaan dapat dilakukan melalui konsumsi bakteri hidup sehingga dapat menjaga keseimbangan bakteri yang menguntungkan di dalam saluran pencernaan, yang disebut dengan probiotik (Fuller, 1989). Bakteri probiotik bakteri yang beredar di pasaran umumnya dari golongan bakteri asam laktat (BAL), khususnya dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Adanya klaim menyehatkan telah memicu perburuan strain BAL dari berbagai sumber alamiah, seperti saluran pencernaan manusia dan hewan serta makanan terfermentasi secara tradisional.

Probiotik telah banyak dimanfaatkan dalam penanggulangan berbagai penyakit infeksi di negara-negara maju, seperti menanggulangi diare pada anak-anak (Marteau *et al.*, 2001), atopi (Kalliomaki *et al.* 2003), kelainan sistem imun (Isolauri *et al.* 2002), infeksi *Helicobacter pylori*, vaginosis (Reid *et al.*, 2001), dan kanker kolon (Hirayama dan Rafter, 1999). Probiotik yang beredar di pasar ditujukan, 1) untuk mencegah diare (*Lactobacillus acidophilus* dikombinasikan dengan *Lactobacillus bulgaricus*, *L. rhamnosus* GG, *Enterococcus faecium* SF68i dan *Bifidobacterium longum*, *Saccharomyces boulardi*; 2) untuk menanggulangi gastroenteritis akut *L. rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* strain Shirota, *Enterococcus faecium* SF68 dan *Sacc. boulardi*; 3) untuk mengatasi *Traveller's* diarrhoea: *L. acidophilus*, *L. acidophilus* dikombinasikan dengan *L. bulgaricus*, *L. fermentum* strain KLD, *L. rhamnosus* GG dan *Sacc. boulardi* (Marteau *et al.* 2001).

Susu kuda sumbawa merupakan salah satu jenis susu hasil pemerahan kuda yang dilepas di padang rumput di Nusa Tenggara Barat, khususnya di Kabupaten Dompu, Bima dan Sumbawa, dan di pasaran dikenal dengan nama "susu kuda liar" yang banyak diklaim mempunyai berbagai efek menyehatkan. Beberapa efek kesehatan yang diklaim dari meminum susu kuda liar adalah penyembuhan

bronchitis, paru-paru basah, tifus, menurunkan kolesterol, hipertensi dan sebagainya. Susu kuda sumbawa dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* (Rijatmiko, 2003) dan bakteri patogen perusak bahan pangan (Hermawati *et al.*, 2004). Susu terfermentasi alamiah memang banyak diklaim memberikan dampak menyehatkan seperti *yoghurt*, susu terfermentasi dengan menggunakan *L. acidophilus* yang dapat mencegah konstipasi, diare dan beberapa penyakit saluran pencernaan (Steinkraus, 1996). Hal tersebut memunculkan hipotesis bahwa dampak penyehatan yang ditimbulkan oleh konsumsi susu kuda sumbawa sebagai akibat aktifitas BAL dan atau metabolik mikroba pada susu kuda sumbawa. Di lain pihak terbatasnya penelitian yang dilakukan khususnya pada aspek mikrobiologi dari susu kuda sumbawa menyebabkan kurangnya bukti ilmiah aspek penyembuhan penyakit melalui konsumsi susu kuda sumbawa. Mengingat susu kuda sumbawa mempunyai potensi yang khas, perlu dilakukan penelitian yang mendasar untuk dapat menggali lebih dalam potensi susu kuda liar sebagai makanan kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi BAL dalam susu kuda sumbawa untuk pengembangan probiotik isolat lokal Indonesia guna meningkatkan derajat kesehatan masyarakat Indonesia.

METODE PENELITIAN

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa

Susu kuda sumbawa yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah susu kuda sumbawa terfermentasi (susu asam) dalam kemasan yang diperoleh dari penjual susu dan susu segar (tidak terfermentasi) yang diperoleh dari Sumbawa. Sebanyak 1 ml dari masing-masing sampel susu diperkaya dengan menggunakan 100 ml medium MRS cair (*de Man Rogosa Sharpe broth*, Pronadisa) yang terdiri atas 20 g/l dekstrosa, 10g/l pepton, 8g/l *beef extract*, 5g/l Na-asetat, 4g/l *yeast extract*, 2g/l dipotasium posfat, 1g/l tween 80, 2g/l diamonium sitrat, 0,2g/l magnesium sulfat, dan 0,05g/l mangan sulfat, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam keadaan anaerob (*anaerobic chamber*, Oxoid) yang diisi dengan *gas generating kit* (Mitsubishi gas). Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dilakukan pengenceran bertingkat dan selanjutnya 0,1 ml disebar pada

media MRS agar mengandung 60 ppm *bromocresol purple* dalam cawan petri (Sujaya *et al.* 2000). Cawan petri diinkubasi kembali pada kondisi yang sama dengan pemupukan di atas. Koloni BAL akan nampak sebagai koloni yang dikelilingi oleh zona berwarna kuning selanjutnya diisolasi dan digores pada media MRS agar. Isolat murni selanjutnya disimpan pada larutan gliserol dengan konsentrasi akhir 15% dan disimpan sebagai stok kultur pada suhu -20°C. Untuk biakan kerja (*working culture*) dibuat dalam bentuk kultur tusuk (*stab*).

Untuk konfirmasi isolat BAL dilakukan uji katalase dan pengecatan Gram. Satu tetes kultur di atas ditetaskan di atas larutan 30% H₂O₂. Katalase positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara (Kozaki *et al.* 1992). Pengecatan Gram dilakukan untuk melihat bentuk sel dan sifat Gram. Pembentukan gas dari glukosa dilakukan loop panas yang ditandai dengan terbentuknya buih (Sperber dan Swan, 1976).

Identifikasi dilakukan pada strain yang berpotensi dikembangkan sebagai probiotik berdasarkan karakteristik penghambatan terhadap mikroorganisme patogen dan karakteristik pertumbuhan pada MRS *broth*. Isolat BAL dalam gliserol yang disimpan dalam *freezer* -20°C ditrasfer ke dalam MRS *broth* dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolat BAL dimurnikan dengan menggores kembali (*re-streaking*) pada medium MRS agar untuk mendapatkan koloni tunggal (*single colony isolation*) selanjutnya dipergunakan dalam penelitian ini. Identifikasi untuk menentukan spesies isolat *Lactobacillus* spp, dilakukan dengan menggunakan API 50 CHL kit (*bioMerieux, Marcy l'Etoile, France*) mengikuti protokol kerja yang diberikan (Annuk *et al.* 2003).

Uji Daya Hambat Isolat Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri Lain

Isolat BAL ditumbuhkan pada media MRS cair dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Sebanyak 1 ml dari kultur aktif diambil, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm, selama 10 menit. Pengujian penghambatan isolat BAL terhadap beberapa bakteri patogen dilakukan menurut metode Schillinger dan Lucke (1989) terhadap beberapa mikroba uji: *Escherichia coli* 25922, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium*, dan *Staphylococcus aureus* 29213. Sebanyak 0,1 ml kultur cair

mikroba uji ditambahkan ke dalam 15 ml *nutrient agar* (NA, yang komposisinya mengandung 1g/l *beef extract*, 2g/l *yeast extract*, 5g/l pepton, 5g/l NaCl, pH 7,4 ± 0,2 serta 0,85% agar) yang suhunya 55°C. Media NA yang telah diinokulasi dengan bakteri indikator dituang ke dalam cawan petri. Setelah agar membeku, dibuat sumur dengan menggunakan ujung pipet biru (*blue tip*) yang dipotong sehingga besarnya diameter sumur sekitar 3-4 mm. Sebanyak 10 µl supernatan dari isolat BAL yang telah dipersiapkan sebelumnya ditetaskan ke dalam sumur pada media NA dan selanjutnya didiamkan selama 15-20 menit. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dan penghambatan ditandai dengan terbentuknya zona bening. Isolat yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji dipergunakan untuk penelitian selanjutnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Susu Kuda Sumbawa

Sebanyak 36 isolat Gram positif dan katalase negatif diisolasi dari susu kuda sumbawa yang terdiri dari golongan homofermentatif (26 isolat) and heterofermentatif (10 isolat) dengan bentuk sel didominasi oleh bentuk batang pendek dan batang panjang dengan konfigurasi sel batang tunggal dan berbentuk rantai (Tabel 1). Isolat dengan kode SKG mempunyai bentuk dan rangkaian sel yang khas, yaitu batang kurus dan panjang seperti benang (foto mikroskopik tidak tersedia). Sementara isolat yang teridentifikasi sebagai *Lactobacillus* sp., *Weissella* sp. atau *Leuconostoc* sp. mempunyai bentuk sel batang pendek Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pada susu kuda sumbawa segar ditemukan BAL lebih beragam dari pada susu kuda sumbawa kemasan. Pada susu subawa segar lebih banyak ditemukan BAL yang mampu membentuk gas (heterofermentatif BAL) dibandingkan dengan pada susu sumbawa kemasan (asam dengan pH 3,1). Pembentukan asam diduga berasal dari BAL dan *khamir* pada susu kuda sumbawa selama fermentasi yang membunuh *lactobacilli* heterofermentatif.

Kandungan nutrisi yang baik pada susu dan hasil olahannya memicu pertumbuhan BAL alamiah sehingga secara ekologis BAL mendominasi komunitas mikroba. Cepatnya pertumbuhan BAL pada susu akan menyebabkan penurunan pH susu secara dramatis

karena pembentukan asam laktat yang menghambat pertumbuhan bakteri lainnya. Salah satu produk susu terfermentasi secara alamiah yang diketahui adalah *koumis* yaitu minuman beralkohol yang merupakan produk susu kuda terfermentasi dari Rusia (Steinkraus, 1996). Susu kuda mengandung laktosa paling tinggi (6, 2 g/100 g susu kuda) susu yang diproduksi oleh hewan lainnya seperti susu sapi 4,7 gr/100 gr (Tamime dan Robinson, 1993). Di lain pihak, susu kuda mengandung protein yang paling rendah (1,9 gr/100 gr) sementara susu sapi mengandung 3,9 gr/100 gr protein. Kandungan laktosa yang tinggi ini menyebabkan susu kuda sumbawa terfermentasi mempunyai pH yang rendah (pH 3,1) yang kemungkinan akibat fermentasi BAL dan *khamir* (*yeasts*) pada suhu tropis sehingga cenderung membentuk asam organik yang berlebihan dibandingkan dengan pembentukan alkohol.

Karakteristik Bakteri Asam Laktat

Identifikasi dilakukan pada isolat yang terpilih berdasarkan kemampuannya untuk menghambat bakteri patogen yang dipergunakan sebagai indikator karakteristik individu strain seperti pertumbuhan dan kemampuan memproduksi massa sel yang banyak pada media cair. Dengan harapan bahwa strain yang diidentifikasi dapat dipergunakan untuk studi pengembangan probiotik maka paling tidak strain yang terpilih memenuhi kriteria pengembangan probiotik BAL (Klaenhammer dan Kullen, 1999) yang antara lain strain harus teridentifikasi dengan baik, kemudahan teknologi produksi massa sel (kultivasi) dan mempunyai aktivitas penghambatan terhadap bakteri pathogen. Dengan pertimbangan ini maka isolat *Lactobacillus* sp. SKG34 dan *Lactobacillus* sp. SKG49 dipilih untuk diidentifikasi lebih lanjut.

Lactobacillus sp. SKG34 dan *Lactobacillus* sp. SKG49 mempunyai bentuk sel yang mirip, yaitu batang lurus dengan sel yang panjang (ukuran sel tidak bisa diberikan karena keterbatasan kemampuan mikroskop yang ada), tidak membentuk gas dari glukosa (homofermentatif *lactobacilli*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah dibandingkan dengan standar strain yang disediakan pada panduan Kit API 50 CHL, *Lactobacillus* sp SKG34 dan *Lactobacillus* sp. SKG49 diidentifikasi sebagai *Lactobacillus rhamnosus*.

Kedua isolat mempunyai pola fermentasi yang sangat mirip (Tabel 2, 3 dan 4). Perbedaan pada kedua strain ini hanya terlihat pada kemampuan *Lactobacillus* sp. SKG34 dalam memfermentasi maltosa (*microtube* nomor 28) dan amidon (*microtube* nomor 36), yang tidak dimiliki oleh *Lactobacillus* sp. SKG49. Hal ini menunjukkan bahwa kedua strain mempunyai karakteristik yang berbeda. Hal yang menarik dari kedua strain tersebut adalah bahwa dari standar kit yang ada menunjukkan bahwa 99% *L. rhamnosus* mampu memfermentasi manosa (*microtube* nomor 28) tetapi tidak ditemukan *L. rhamnosus* memfermentasi amidon (*microtube* nomor 36). Hal kontradiktif terjadi dimana *L. rhamnosus* SKG34 memfermentasi maltosa dan amidon sementara *L. rhamnosus* SKG 45 tidak memfermentasi kedua karbohidrat tersebut sehingga secara fisiologis kedua strain ini mempunyai kekhasan sendiri-sendiri dimana *L. rhamnosus* SKG34 bersifat amidon positif sementara di lain pihak *L. rhamnosus* SKG49 bersifat maltosa positif.

Berdasarkan deskripsi species *L. rhamnosus* dikelompokkan ke dalam *group Bb Lactobacillus* (Hammes and Vogel, 1995). Kelompok *lactobacilli* ini terdiri dari spesies dengan tipe fakultatif heterofermentatif, sehingga sesuai dengan pengamatan dalam penelitian ini bahwa *Lactobacillus* sp. SKG34 dan *Lactobacillus* sp. SKG49 tidak nampak membentuk gas dari glukosa. Susu merupakan salah satu habitat *L. rhamnosus* (Hammes and Vogel, 1995) sehingga adalah rasional apabila species ini juga terisolasi dari susu kuda sumbawa. Di lain pihak adanya kekhasan fisiologis strain ini menimbulkan pertanyaan riset mengenai klasifikasi dan sistematika strain ini yang perlu diteliti dimasa yang akan datang. Keunikan kedua strain ini perlu diteliti lebih lanjut untuk mengetahui apakah perbedaan pola fermentasi karbohidrat juga berasosiasi dengan potensi yang berbeda untuk pengembangannya sebagai probiotik seperti daya kolonisasi dalam saluran pencernaan, stimulasi sistem imun yang ditimbulkan serta hubungannya dengan efek menyehatkan lainnya bagi manusia.

Uji Daya Hambat Isolat Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri Patogen

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 24 dari 36 isolat menghambat pertumbuhan ke 4 indikator mikroorganisme yang dipergunakan dan sisanya 12 isolat tidak menunjukkan peng-

Tabel 1 Karakteristik bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu kuda sumbawa

No	Isolat	Gas	Bentuk sel	Identifikasi presuntif	Diameter zone hambatan (cm)			
					Ec	Slr	Shf	Sta
1	SK1	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
2	SK2	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
3	SK4	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	1,1	1,1	0,7	1,1
4	SK9	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
5	SK10	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
6	SK12	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
7	SK13	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
8	SK14	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,7	0,7	0,7	0,7
9	SK16	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
10	SK18	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
11	SK23	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
12	SK24	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
13	SK27	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	0,0	1,0	0,7	0,7
14	SK28	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	0,7	0,7	0,7	1,0
15	SKA 4	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,8	1,0	0,7	0,8
16	SKA14	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,7	0,6	0,7	0,7
17	SKA27	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,3	1,0	0,7	0,7
18	SKA28	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,6	0,7	0,6	0,9
19	SKA12	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
20	SKA3	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,0	0,0	0,0	0,0
21	YSK1	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	0,8	0,8	1,1	0,8
22	YSK2	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	0,9	0,9	1,2	1,0
23	YSK3	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	0,9	0,9	1,2	1,0
24	YSK4	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	0,8	0,8	1,2	1,0
25	YSK7	+	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp./ <i>Weissella</i> sp./ <i>Leuconostoc</i> sp.	0,9	0,9	1,1	1,1
26	SKA13	-	Batang pendek	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,9	0,9	1,1	1,2
27	SKG5	-	Batang panjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,7	0,7	1,2	1,2
28	SKG7	-	Batang panjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,8	0,8	1,2	1,2
29	SKG9	-	Batang panjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,8	0,8	1,2	1,4
30	SKG10	-	Batang panjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,9	0,9	1,5	1,3
31	SKG11	-	Batang panjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,9	0,9	1,3	1,1
32	SKG12	-	Batang panjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,9	0,9	1,2	1,1
33	SKG13	-	Batang panjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	1,0	1,0	1,1	1,1
34	SKG34	-	Batang anjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,8	0,8	1,2	1,0
35	SKG44	-	Batang anjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,7	0,7	1,2	0,9
36	SKG49	-	Batang anjang	<i>Lactobacillus</i> sp.	0,7	0,7	1,5	1,0

Ec: *Escherichia coli*; Slr: *Salmonella thypimurium*; Shf: *Shigella flexneri*; Sta: *Staphylococcus aureus*

Tabel 2. Pola fermentasi *Lactobacillus* sp. SKG34 dan strain standar yang paling mendekati pada Kit API 50 CHL

Nomor <i>microtube</i>																									
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
-	G	-	G	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	G	-	G	+	G	-	+	+	G	+	
-	G	-	G	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	G	-	G	+	+	-	+	+	+	+	
0	42	0	9	8	100	0	0	0	0	100	100	100	100	92	100	14	42	100	100	7	85	100	99	100	
Nomor <i>microtube</i>																									
25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
B	+	+	+	++	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	G	-	-	G	-		
B	+	+	+	+	-	G	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	G	-		
85	100	100	99	100	9	71	99	0	99	7	0	7	0	85	92	42	99	0	7	0	7	85	0	00	

Tabel 3. Pola fermentasi *Lactobacillus* sp. SKG49 dan strain standar yang paling mendekati pada Kit API 50 CHL

Nomor <i>microtube</i>																									
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
-	G	-	G	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	G	-	G	+	G	-	+	+	+	+	
-	G	-	G	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	G	-	G	+	+	-	+	+	+	+	
0	42	0	9	8	100	0	0	0	0	100	100	100	100	92	100	14	42	100	100	7	85	100	99	100	
Nomor <i>microtube</i>																									
25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
B	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	G	-	-	+	-	G	-	-	G	-		
B	+	+	+	+	-	G	+	-	+	-	-	-	-	±	-	-	+	-	±	-	-	G	-		
85	100	100	99	100	9	71	99	0	99	7	0	7	0	85	92	42	99	0	7	0	7	85	0	00	

1. *Microtube* no 25 hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna dari ungu menjadi hitam (B); (2), + = hasil positif (warna pada *microtube* kuning), (3) G = hasil positif namun pertumbuhan isolat relatif lambat (warna pada *microtube* hijau keunguan), dan (4), - = hasil negatif (warna pada *microtube* ungu)
2. Angka pada strain standar yang paling mendekati pola fermentasi isolat SKG34 dan SKG49 menunjukkan jumlah strain yang memberikan hasil uji positif dari 100 strain yang berbeda yang diuji pada masing-masing *microtube* (prosentase strain yang menunjukkan hasil uji positif)
3. Std: pola fermentasi karbohidrat oleh standar *Lactobacillus rhamnosus* pada API50 CHL.

hambatan pada indikator mikroorganisme yang dipergunakan (Tabel 1).

Susu kuda sumbawa dilaporkan mempunyai aktivitas antimikrobia dengan spektrum yang cukup luas (Hermawati *et al.* 2004). Tetapi, penghambatan yang didapatkan berasal dari komponen bahan aktif hasil ekstraksi langsung dari susu kuda sumbawa. Pada penelitian ini beberapa isolat BAL mampu menghambat mikroorganisme patogen. Tetapi, aktivitas penghambatan terhadap mikroorganisme patogen tidak nampak setelah pengaruh asam pada supernatan yang diperoleh dari isolat BAL dihilangkan melalui netralisasi dengan NaOH. Hal ini menunjukkan bahwa penghambatan yang terdeteksi sebelumnya kemungkinan disebabkan oleh metabolit lain selain bakteriosin BAL. Penghambatan BAL terhadap patogen melalui produksi asam laktat serta asam organik yang lainnya seperti asetat serta adanya hidrogen peroksida. Namun demikian, masih perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk lebih memahami secara mekanistik penghambatan BAL terhadap bakteri patogen. Adanya penghambatan patogen oleh isolat BAL susu kuda sumbawa menunjukkan bahwa BAL memenuhi salah satu persyaratan dalam pengembangan probiotik (Klaenhammer dan Kullen, 1999), walaupun masih diperlukan serangkaian penelitian tahap *in vivo*. Aktivitas penghambatan ini dijadikan dasar dalam pemilihan isolat yang dipergunakan untuk penelitian selanjutnya dengan tujuan dalam pengembangan potensi BAL isolat susu kuda sumbawa sebagai probiotik.

SIMPULAN

Ganus *Lactobacillus*, *Weissella* dan atau *Leucostoc* adalah BAL dominan pada susu kuda sumbawa. Tidak diketemukan BAL yang membentuk bakteriosin sehingga aktivitas antimikrobia BAL yang diisolasi dari susu kuda sumbawa terhadap *E. coli* 25922, *Sh. flexneri*, *S. typhimurium* 29213 dan *Staph. aureus* disebabkan oleh asam dan metabolit lainnya. Dua isolat, *Lactobacillus* sp. SKG34 dan *Lactobacillus* sp. SKG49 yang mempunyai kemampuan membentuk masa sel yang baik serta dapat menghambat beberapa bakteri patogen diidentifikasi sebagai *L. rhamnosus*. Kedua strain ini mempunyai karakteristik fisiologis yang berbeda dengan umumnya *L.*

rhamnosus dalam kemampuannya memfermentasi maltosa dan amidon sehingga *L. rhamnosus* yang diisolasi dari susu kuda sumbawa merupakan strain yang khas.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengeksplorasi potensi probiotik BAL yang diisolasi dari susu kuda sumbawa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Bejamin, S.KM. atas bantuannya mendapatkan sampel susu kuda sumbawa segar. Penelitian ini didanai dari dana Pengembangan Staf PS. IKM Univ. Udayana tahun 2006 serta Pengembangan Penelitian Unggulan di UPT. Lab. Terpadu Biosain dan Bioteknologi, Univ. Udayana Tahun 2006.

DAFTAR PUSTAKA

- Annuk JS, Kullisaar T, Songisepp E, Zilmer M, Mikelsaar M. 2003. Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotics candidates. *J Appl Microbiol* 94: 403-412.
- Fuller R. 1989. A Review: Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 66: 365-378.
- Gibson GR, Roberfroid MB. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota-introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 125: 1401-1412.
- Hirayama K, Rafter J. 1999. The role of lactic acid in prevention of colon cancer: mechanistic consideration. *Ann van Leewenhoek*, 76: 391-394.
- Hammes WP, Vogel RF. 1995. *The genus Lactobacillus*. In: Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H. (Ed). *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Blackie Academic & Professional. London. Pp: 18-124.
- Hermawati D, Sudarwanto M, Soekerto ST, Zakaria FR, Sudardjat S, Tjatur Rasa, F.S. 2004. Aktivitas antimikroba pada susu kuda sumbawa, *J Teknol Industri Pangan*. 15: 47-53.
- Isolauri E, Rautava S, Kalliomaki M, Kirjavainen P, Salminen, S. 2002. Role of probiotics in food hypersensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2:263-267.

- Kalliomaki M, Salminen S, Pusa T, Arvilommi H, Isolauri E. 2003. Probiotics and prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 61:1869-1871.
- Klaenhammer TR, Kullen MJ. 1999. Selection and design of probiotics. *Int J Food Microbiol*. 50:45-57
- Kozaki M, Uchimura Y, Okada S. 1992. Manual for isolation and identification of lactic acid bacteria. Asakura shoten. Tokyo.
- Marteau PR, de Vrese M, Cellier CJ, Schrezenmeier J. 2001. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 73: 430S-436S.
- Reid G, Howard J, Gan BS. 2001. Can bacterial interference prevent infection?. *Trends in Microbiol*. 9: 424-427.
- Rijatmoko D. 2003. Pengaruh susu kuda sumbawa terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*. Thesis. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Saarela M, Lahteenmaki L, Crittenden R, Salminen S, Mattila-Sandholm T. 2002. Gut bacteria and health foods: the European perspective. *Int J Food Microbiol* 78: 99-117.
- Schillinger U, Lucke F. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl Environ Microbiol* 55: 1901-1906.
- Sperber WH, Swan J. 1976. Hot-loop test for the determination of carbon dioxide production from glucose by lactic acid bacteria. *App. Environ Microbiol* 31: 990-991.
- Sujaya I N, Amachi S, Yokota A, Asano A, Tomita F. 2000. Isolation and characterization of lactic acid bacteria in ragi tape. *World J Microbiol Biotechnol* 17:349-357.
- Steinkraus KH. 1996. *Indigenous Fermented Foods Involving and Acid Fermentation: Preserving and Enhancing Organoleptic and Nutritional Qualities of Fresh Food*. In Steinkraus, K.H., (Ed) Handbook of Indigenous Fermented Foods, 2nd Ed. New York : Marcel Dekker, Inc. Pp: 111-348.
- Tamime AY, Robinson RK. 1999. *Yoghurt, Science and Technology*. CRC Press. New York. Pp: 1-9.