

Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 18A Secara Fenotipik (*LACTIC ACID BACTERIA ISOLATE 18A PHENOTYPIC IDENTIFICATION*)

I Wayan Suardana¹, Hendro Sukoco², Nyoman Semadi Antara³

¹Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner,

²Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Denpasar,

³Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali, *E-mail: iwayansuardana22@yahoo.com

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat (BAL) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, salah satunya adalah BAL isolat 18A. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan spesies BAL dari isolat 18A dengan uji konvensional dan uji KIT API 50 CH. Penelitian ini merupakan penelitian observasional deskriptif, dengan objek penelitian berupa bakteri asam laktat isolat 18A asal kolon sapi bali. BAL isolat 18A direkulturisasi, dengan penumbuhan pada media MRS, uji katalase, dan pewarnaan Gram. Uji identifikasi isolat dengan uji produksi gas CO₂, uji pertumbuhan pada NaCl 15%, uji pertumbuhan pada Suhu 10⁰C, dan uji pertumbuhan pada pH 9,6. Konfirmasi isolat juga dilakukan dengan uji kit API (*Standard Analytical Profile Index*) 50 CH. Hasil rekulturisasi menunjukkan isolate 18A mampu tumbuh dengan baik pada media MRS broth, bersifat katalase negatif, Gram positif, berbentuk bulat, dan berantai. Hasil identifikasi mengindikasikan bahwa isolat 18A bersifat homofermentatif, mampu tumbuh pada suhu 10⁰C, dan tidak tumbuh pada pH 9,6. Uji fermentasi dengan menggunakan perangkat kit API 50 CH, menunjukkan bahwa isolat 18A mampu mendegradasi 15 komponen gula, yaitu komponen gula no : 5, 10, 11, 12, 13, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, dan 39. Hasil identifikasi secara konvensional dapat disimpulkan bahwa isolate 18A merupakan genus *Lactococcus*. Dan berdasarkan uji konfirmasi menggunakan Kit API 50 CHL disimpulkan bahwa isolat 18A merupakan bakteri *Lactococcus Lactis ssp lactis 1*.

Kata kunci: bakteri asam laktat; isolat 18A; uji konvensional; Kit API 50 CH.

ABSTRACT

Lactic Acid Bacteria (LAB) is a bacterium that has an ability to inhibit a pathogenic bacteria growth, including isolates 18A. The aim of this study is to determine the species of LAB isolates 18A by conventional tests and API 50 CH test. This study was a descriptive observational study, with lactic acid bacteria isolates 18A were obtained from bali cattle's colon as an object. LAB isolates 18A were re-cultured on MRS media, catalase test, and Gram staining. Identification test were performed by CO₂ production test, growth in the presence of 15% NaCl, growth at 10⁰C, and growth at pH 9.6. Confirmation test were performed using API 50 CH (*Standard Analytical Profile Index*). The results indicated that LAB isolate 18A were able to grow well on MRS broth media, catalase-negative, Gram-positive, and spherical-chain in shape. Identification test revealed that the bacteria is homofermentative, were able to grow at 10⁰C, and do not grow at pH 9.6. Fermentation test using API 50 CH showed that LAB isolates 18A were able to degrade 15 sugar components, consist of no: 5, 10, 11, 12, 13, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, and 39. Based on conventional identification results, it can be concluded that BAL isolates 18A is a *Lactococcus*. In addition, the result of API 50 CHL test showed that BAL isolates 18A is a *Lactococcus lactis ssp lactis 1*.

Keywords: lactic acid bacteria; isolates 18A; conventional test; API 50CH test

PENDAHULUAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan jenis bakteri yang menguntungkan, karena berperan terhadap dunia pangan dan kesehatan. BAL termasuk ke dalam kelompok bakteri yang memenuhi status *Generally Recognized As*

Safe (GRAS) bagi manusia (Surono, 2004). Dalam dunia industri pangan, bakteri asam laktat pada produk fermentasi mempunyai peranan untuk memperbaiki cita rasa produk pangan (Leisner *et al.*, 2001; Amiza *et al.*, 2006). Selain itu BAL juga mempunyai efek pengawetan pada

produk yang dihasilkannya, sehingga banyak digunakan sebagai bahan pengawet alami (biopreservatif) (Widiasih, 2008).

Selain itu, bakteri asam laktat juga banyak dimanfaatkan sebagai salah satu bahan pangan fungsional berupa probiotik. Hal ini terkait dengan sifat antimikroba dan produksi seyawa mikrobisidal oleh bakteri asam laktat, yang memiliki peran dalam membunuh atau menghambat perlekatan bakteri patogen pada saluran cerna (Ljungh and Wadstrom, 2006). Bakteri asam laktat memiliki aktivitas antimikroba karena dapat menghasilkan bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan dan mematikan bakteri patogen (Zacharof dan Lovitt, 2012). Beberapa penelitian telah membuktikan aktivitas antimikroba bakteriosin terhadap bakteri Gram positif dan negatif yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat hasil isolasi dari daging dan olahan daging (Bromberg *et al.*, 2004), ikan (Vijayabaskar and Somasundaram, 2008), keju dan yogurt (Yang *et al.*, 2012 ; Suarsana, 2011).

Sapi bali sebagai salah satu ternak lokal memiliki ciri genetik yang khas yaitu hidupnya sederhana atau dapat dengan mudah beradaptasi dengan lingkungan yang kurang menguntungkan sehingga disebut sebagai sapi perintis atau sapi pelopor (Sari, *et al.*, 2016; Saptayanti, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Lindawati dan Suardana (2014) telah berhasil mengisolasi bakteri asam laktat asal kolon sapi bali, dengan melakukan serangkaian uji yakni penanaman pada media MRS, uji katalase, pewarnaan Gram dan uji seleksi aktivitas antimikroba. Salah satu isolat tersebut adalah isolat 18A. Berdasarkan hasil uji aktivitas antimikroba, menunjukkan bahwa terbentuk *killing zone* di sekitar tempat pertumbuhan bakteri indikator *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang diuji pada isolat 18A (Lindawati dan Suardana, 2014).

Dengan memperhatikan kemampuan isolat 18A dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, maka isolat 18A potensial untuk diidentifikasi lebih lanjut untuk mengetahui spesies dari isolat yang dimaksud. Identifikasi bakteri asam laktat dapat dilakukan berdasarkan sifat fenotipik dan kemampuan dalam memfermentasi berbagai macam karbohidrat (Nurhayati *et al.*, 2011 ; Surono, 2004). Identifikasi fenotipik didasarkan pada hasil pengamatan morfologi, yaitu bentuk sel, pewarnaan Gram, uji katalase, dan fisiologi. Identifikasi untuk mengetahui sifat biokimia bakteri asam laktat dalam memfermentasi berbagai jenis karbohidrat dapat dilakukan dengan menggunakan uji tes Kit API 50 CHL.

METODE PENELITIAN

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri asam laktat isolat 18A asal kolon sapi bali yang disimpan dalam larutan gliserol 30% pada suhu -20°C . Isolat BAL 18A kemudian di-*thawing* pada suhu 4°C .

Kultivasi Isolat 18A

Penanaman Pada Media MRS Broth

Isolat 18A diambil dari *stock culture* pada suhu -20°C , kemudian ditumbuhkan pada media MRS *broth*. Kemudian, media MRS *broth* diinkubasikan pada kondisi *anaerob* dengan menambahkan dua *sachet* (3600 ml H_2 dan 700 ml CO_2) *gas generating kit* ke dalam tabung *anaerob* untuk selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Suardana, *et al.* 2007).

Uji Katalase

Isolat diambil dari MRS broth dengan menggunakan micropipet. Setelah itu teteskan ke dalam cawan petri, dan tambahkan H_2O_2 10 %. Kemudian amati segera adanya gelembung gas yang terbentuk pada preparat, bila terdapat gelembung gas bakteri tersebut katalase positif, dan apabila tidak terbentuk

gelembung gas bakteri tersebut katalase negatif.

Pewarnaan Gram

Isolat dari MRS broth diambil dengan menggunakan ose lalu disebarakan setipis mungkin di atas kaca objek kemudian dilakukan fiksasi. Kristal violet sebanyak 1 tetes ditambahkan ke permukaan preparat yang terdapat lapisan bakteri tersebut dan didiamkan selama satu menit. Setelah satu menit, preparat dibilas dengan air sampai zat warna luntur. Preparat dikeringkan di atas api spiritus. Setelah kering, larutan lugol sebanyak satu tetes ditambahkan ke permukaan preparat tersebut dan didiamkan selama satu menit. Setelah satu menit, preparat dibilas dengan air. Preparat dibilas dengan alkohol 96% sampai semua zat warna luntur kemudian dicuci dengan air. Preparat dikeringkan di atas api spiritus. Setelah kering, safranin sebanyak satu tetes ditambahkan ke permukaan preparat dan didiamkan selama 45 detik. Preparat dicuci dengan air dan dikeringkan. Preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x (Pratita dan Putra, 2012).

Uji identifikasi isolat 18A

Uji Identifikasi Isolat 18A berdasarkan metode Holzapfel dan Shilinger, (1992) seperti yang disitasi oleh Widodo (2003), yang meliputi uji produksi gas CO₂, pertumbuhan pada suhu 10°C, dan pH 9,6. Hasil uji selanjutnya disesuaikan dengan kunci determinasi.

Uji produksi gas CO₂

Uji Gas CO₂ dilakukan dengan cara mencelupkan ose yang sudah dipanasi ke dalam tabung yang berisi media MRS broth dan isolat BAL. Kemudian amati segera setelah pencelupan ose, adanya gelembung gas yang terbentuk. Apabila bakteri asam laktat yang diuji menghasilkan gelembung gas pada preparat, bakteri asam laktat tersebut dinyatakan sebagai heterofermentatif, sedangkan isolat yang tidak menghasilkan gelembung gas disebut homofermentatif.

Uji pertumbuhan pada suhu 10°C.

Tanam isolat BAL pada media MRS broth, kemudian masukkan ke dalam lemari pendingin dengan suhu 10°C selama 24-48 jam dalam kondisi anaerob. Dan amati kekeruhannya. Hasil positif atau adanya pertumbuhan ditunjukkan dengan terbentuknya kekeruhan dan mempunyai nilai *optical density* lebih dari 0,4, sedangkan apabila nilai *optical density* dibawah 0,4, maka bakteri tersebut tidak tumbuh (Campbell, 2011).

Uji pertumbuhan pada pH 9,6

Isolat BAL diinokulasi pada media MRS broth yang telah diatur pH dengan cara menambahkan NaOH 1% sampai pH mencapai 9,6 kemudian inkubasikan pada suhu 37°C dalam kondisi anerob. Setelah diinkubasikan selama 24-48 jam dilakukan pengukuran OD (*Optical Density*) dengan menggunakan alat spectrophotometer. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya kekeruhan pada media, dan mempunyai nilai *optical density* lebih dari 0,4, sedangkan apabila nilai *optical density* dibawah 0,4, maka bakteri tersebut tidak tumbuh (Campbell, 2011)

Konfirmasi bakteri asam laktat hasil identifikasi dengan uji Kit API 50 CHL.

Isolat 18A diambil dari *stock culture* pada suhu -20°C, kemudian ditumbuhkan pada media MRS broth. Biakan isolat umur 24 jam divortex 2000 rpm selama 10 menit (1ml), kemudian supernatannya dibuang. Setelah itu ditambah dengan saline steril (1ml) seperti volume semula, dan vortex 2000 rpm selama 10 menit. Endapan yang didapat setelah supernatannya dibuang, ditambah saline ± 0,5 ml (isolat siap digunakan). Perangkat API 50 CHL ditetesi dengan aquades steril pada setiap lubang 1 dasar plastik (untuk membuat suasana lembab). Kemudian isi dengan API 50 CHL sesuai urutan nomernya (1-50). Tunggu sekitar lima menit, sambil tutup dengan plastik. Siapkan isolat yang akan diuji dengan cara menanam 100 ml isolat yang telah disiapkan ke dalam media API 50 CHL 10

ml (CHL medium 10 ml) dan vortex. Tanam 100 µl isolat yang telah tercampur dengan medium API 50 CHL setiap lubang dari perangkat kit (0-50) yang masing-masing mengandung jenis gula yang berbeda-beda. Inkubasikan pada 37°C dengan suasana anaerob dengan menambahkan anaerob gas kit dua sachet. Kemudian dibaca dalam 24 jam dan 48 jam., serta analisa menggunakan *software* APIWEB.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Kultivasi Isolat 18A

Penanaman Pada Media MRS broth

Isolat 18A mampu tumbuh dengan baik pada media MRS broth. Pertumbuhan ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Media MRS merupakan media selektif yang pada awalnya dikembangkan untuk menyediakan media pertumbuhan spesifik dari *Lactobacillus* oleh de Man, Rogosa dan Sharpe, dan juga untuk mendukung pertumbuhan bakteri yang sulit tumbuh seperti *L. brevis* dan *L. fermentum* (de Man *et al.*, 1960; Leroy dan Vuyst, 2001; Bujalance *et al.*, 2006). Namun saat ini MRS telah digunakan secara luas untuk bakteri asam laktat secara umum seperti *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* dan *Leuconostoc*. Kandungan amonium sitrat pada pH rendah dapat menghambat pertumbuhan sebagian mikroorganisme, tetapi kondisi tersebut memungkinkan pertumbuhan dari bakteri asam laktat. Dipotassium fosfat dan Sodium asetat merupakan senyawa dalam MRS yang berperan sebagai buffer untuk mempertahankan pH tetap rendah. Kandungan Tween 80 berfungsi untuk emulsifier. Mangan dan Magnesium sulfat merupakan sumber ion dan sulfat. Pepton dan ekstrak daging sapi menyediakan nitrogen, vitamin, mineral dan asam amino esensial untuk pertumbuhan. Ekstrak ragi merupakan sumber vitamin, khususnya B-kompleks. Dextrose adalah karbohidrat

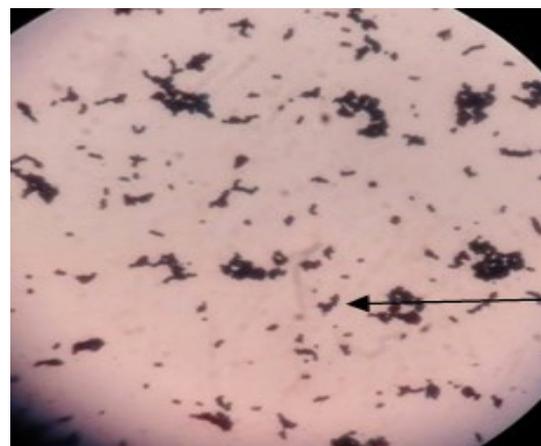
yang dapat difermentasi oleh bakteri asam laktat (Bujalance *et al.*, 2006; Sathyanarayanan *et al.*, 2011).

Uji Katalase

Berdasarkan uji katalase yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa isolat 18A mempunyai sifat katalase negatif. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gelembung gas pada preparat. Hasil ini menunjukkan bahwa isolat yang telah direkultur merupakan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat menunjukkan hasil negatif pada uji katalase karena bakteri ini tidak memiliki enzim katalase, sehingga tidak dapat memecah H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂ (Konig dan Frohlich, 2009). Hasil ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang mengidentifikasi bahwa bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu kedelai (Yusmarini *et al.*, 2009), makanan hasil fermentasi (Bukola *et al.*, 2008), dan cairan rumen sapi bali (Suardana *et al.*, 2007) bersifat katalase negatif.

Pewarnaan Gram

Uji pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat 18A tergolong sebagai bakteri Gram positif dan mempunyai bentuk bulat (*kokus*) berantai (Gambar 1). Menurut Surono (2004), bakteri asam laktat mempunyai variasi karakteristik yang cukup besar, namun salah satu sifat yang mutlak dimiliki oleh bakteri asam laktat adalah sebagai bakteri Gram positif.



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram Isolat 18A yang Dilihat di Bawah Mikroskop dengan Perbesaran 1000 kali.

Pernyataan ini didukung oleh hasil penelitian yang menyebutkan bahwa, bakteri asam laktat yang diisolasi dari yoghurt (Nuryady *et al.*, 2013), susu kedelai (Yusmarini *et al.*, 2009), makanan hasil fermentasi (Bukola *et al.*, 2008), dan cairan rumen sapi bali (Suardana *et al.*, 2007) merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif akan memberikan warna ungu ketika diberi cat Gram. Warna ungu tersebut terjadi karena dinding sel bakteri mengikat cat kristal violet yang diperkuat oleh iodine dan kristal violet tersebut tidak akan hilang pada waktu diberi cat peluntur (Suryani, 2010).

Uji Identifikasi Isolat 18A

Uji Produksi Gas CO₂

Berdasarkan uji produksi gas CO₂ yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa isolat 18A tidak mampu menghasilkan gas CO₂. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gelembung gas pada media MRS broth yang berisi isolat 18A. Sehingga bakteri asam laktat isolat 18A digolongkan sebagai bakteri homofermentatif. Bakteri homofermentatif tidak mampu menghasilkan gas CO₂, karena tidak memiliki enzim piruvat oksidase yang mampu mengkonversi piruvat menjadi CO₂ dan asetil fosfat dengan diikuti pembentukan H₂O₂ (Suro, 2004). Untuk pengembangan sebagai probiotik, bakteri asam laktat yang memiliki sifat homofermentatif lebih disukai karena tidak menghasilkan CO₂ yang dapat menyebabkan perut menjadi kembung (Swartz, 2013).

Uji Pertumbuhan pada Suhu 10°C

Berdasarkan uji pertumbuhan pada suhu 10°C yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa isolat 18A mampu tumbuh pada media MRS broth yang diinkubasi pada suhu 10°C. Pertumbuhan tersebut ditunjukkan dengan kekeruhan pada media, didukung dengan hasil pemeriksaan menggunakan spectrophotometers yang menunjukkan nilai *optical density* sebesar 0,530. Hasil pertumbuhan tersebut lebih rendah

dibandingkan dengan kontrol. Isolat bakteri yang diinkubasi pada suhu 37°C (kontrol) menunjukkan kekeruhan media yang tinggi dengan nilai *optical density* sebesar 1,073.

Uji Pertumbuhan pada pH 9,6

Berdasarkan uji pertumbuhan pada pH 9,6 yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa isolat 18A tidak tumbuh pada media MRS broth yang diinkubasi pada pH 9,6. Hal ini ditunjukkan dengan tidak nampak adanya kekeruhan pada media, didukung dengan hasil pemeriksaan menggunakan spectrophotometers yang menunjukkan nilai *optical density* sebesar 0,255. Hal ini didukung oleh beberapa penelitian terdahulu yang menyebutkan bahwa bakteri dikatakan tumbuh pada suatu media jika memiliki nilai *optical density* lebih dari 0,4 (Campbell, 2011). Jika dibandingkan dengan kontrol, yakni isolat yang ditumbuhkan pada MRS broth dengan pH 6,2, menunjukkan bahwa isolat kontrol dapat tumbuh dengan baik. Isolat bakteri yang diinkubasi pada MRS broth dengan pH 6,2 menunjukkan kekeruhan media yang cukup tinggi dengan nilai *optical density* sebesar 1,112.

Analisis Genus dari Isolat 18A

Berdasarkan hasil penelitian diatas yang kemudian dinilai berdasarkan metode Holzapfel dan Shilinger (1992) dalam Widodo (2003) meliputi uji produksi gas CO₂, pertumbuhan pada suhu 10⁰C, dan pertumbuhan pada pH 9,6 didapatkan hasil bahwa isolat 18A merupakan bakteri genus *Lactococcus*.

Pembahasan

Hasil penelitian ini didukung dengan beberapa penelitian sebelumnya, yang menyebutkan bahwa *Lactococcus sp* merupakan bakteri dengan karakteristik homofermentatif, dapat tumbuh pada suhu 10-40°C, dan tidak tumbuh pada suasana basa dengan pH 9,6 (Mourad *et al.*, 2004). Bakteri *Lactococcus sp* termasuk golongan bakteri homofermentatif tidak memiliki enzim piruvat oksidase yang berperan dalam konversi piruvat menjadi

CO₂ dan asetil fosfat. Ini ditandai dengan hasil negatif pada uji oksidase (Suroño, 2004).

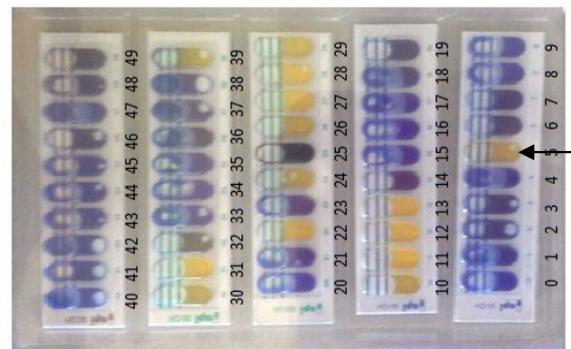
Bakteri *Lactococcus sp*, seperti kebanyakan bakteri asam laktat lainnya, merupakan bakteri mesofilik yang tumbuh optimum pada suhu 20-30°C. Produksi asam umumnya menurun atau bahkan berhenti sama sekali pada saat bakteri diinkubasi pada suhu dibawah 20°C, namun pertumbuhan bakteri yang memiliki rentang 10-42°C tidak dihambat (Ahmed et al., 2006). Suhu tumbuh optimum *Lactococcus sp* adalah 30°C dan dapat tumbuh pada suhu 10°C, namun tidak tumbuh pada suhu 45°C (Batt, 1999). Semakin rendah suhu inkubasi dari *Lactococcus sp* akan mengakibatkan perubahan metabolisme khususnya aktivitas glikolisis yang berakibat pada menurunnya aktivitas pertumbuhan jika dibandingkan pada suhu optimum (Wouters et al., 2000).

Lactococcus sp merupakan bakteri yang dapat bertahan hidup hingga pH 4,0, namun pH optimum untuk pertumbuhan *Lactococcus sp* adalah pada lingkungan dengan pH antara 4,5 dan 6,5. Kemampuan adaptasi yang tinggi dari *Lactococcus sp* dikarenakan respon terhadap stress pH yang cepat terhadap regulasi sintesis protein untuk bertahan pada pH rendah (Rallu et al., 1996; Andersen et al., 2009). Adaptasi ini umumnya meliputi perubahan aktivitas metabolisme (Sanchez et al., 2008). Namun penelitian mendapati bahwa *Lactococcus sp* tidak dapat tumbuh pada pH tinggi (Mourad et al., 2004). Penelitian menunjukkan bahwa peningkatan pH medium kultur *Lactococcus sp* dari pH 6,5 menjadi 9,25 menyebabkan penurunan rasio jumlah bakteri terhadap produksi laktat (Hofvendahl et al., 1999; Klinkenberg et al., 2001).

Konfirmasi bakteri asam laktat hasil identifikasi dengan uji Kit API 50 CHL.

Isolat 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 24 jam, dan penelitian menunjukkan bahwa hasil pengamatan uji API 50 CH setelah waktu inkubasi 24 jam telah memberikan data yang valid (Awan et al., 2005). Hasil uji API 50 CH menunjukkan bahwa isolat 18A mampu mendegradasi 15 komponen gula, yaitu komponen gula no: 5, 10, 11, 12, 13, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, dan 39 (Gambar 2). Komponen gula yang didegradasi oleh isolat 18A antara lain D-Ribose, D-Galactose, D-Glucose, D-Fructose, D-Mannose, N-AcetylGlucosamine, Arbutin, Esculin feric citrate, Salicin, D-Celiobiose, Maltose, D-Lactose, D-Melibiose, D-Saccharose, Gentiobiose.



Gambar 2. Hasil uji kit API 50 CHL inkubasi 24 jam. Tanda panah (→) menunjukkan reaksi positif isolat 18A pada gula No.5 (D-Ribose).

Ket: (+) : dapat memfermentasi;

(-) : tidak dapat memfermentasi

Berdasarkan hasil identifikasi spesies dengan menggunakan perangkat kit API 50 CHL medium versi 5.1 (biomerieux) yang dilanjutkan dengan pengolahan dan analisis menggunakan *software* APIWEB, didapatkan bahwa isolat 18A adalah *Lactococcus lactis ssp lactis 1*, dengan nilai identifikasi 73,5%. Penelitian terdahulu juga telah berhasil mengisolasi bakteri *Lactococcus lactis ssp lactis 1* dari cairan rumen sapi bali (Suardana et al., 2007), saluran cerna ikan (Itoi et al.,

2009), bir komersial (Togo *et al.*, 2002), dan susu (Doutoum *et al.*, 2013) yang dikonfirmasi dengan kit API 50 CHL.

Jika diamati lebih lanjut, nilai identifikasi 73,5% dari hasil penelitian ini cukup rendah jika dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang umumnya mendapati nilai identitas lebih dari 90%, bahkan mencapai 100% (Barbu, 2008). Namun nilai identitas 73,5% masih dapat dikatakan valid, yang didukung dengan hasil penelitian yang menyatakan nilai identitas 70% masih dapat digunakan dalam penentuan spesies bakteri asam laktat (Nigatu, 2000; Mlalazi *et al.*, 2011).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil identifikasi secara konvensional diketahui isolat 18A, sebagai bakteri genus *Lactococcus*. Uji konfirmasi menggunakan Kit API 50 CHL terhadap isolat 18A, didapatkan bakteri *Lactococcus Lactis ssp lactis* 1.

Saran

Perlu dilakukan uji lanjutan untuk mengeksplorasi potensi bakteri asam laktat isolat 18A sebagai kandidat probiotik dan biopreservatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pusat penelitian Universitas Udayana yang telah mendanai penelitian ini melalui proyek penelitian hibah 2014. (Hibah no. 103.56/UN.14.2/PNL.01.03.00/2014).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed T, Kanwal R, Ayub N. 2006. Influence of Temperature on Growth Pattern of *Lactococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* and *Lactobacillus acidophilus* Isolated from Camel Milk. *Biotechnol.* 5: 481-488.
- Amiza MA, Zakiah J, Khim Ng L, Lay KW. (2006). Fermentation of tempoyak using isolated tempoyak culture *Res. J. of Microbiol.* 1: 243-254.
- Andersen AZ, Carvalho AL, Neves AR, Santos H, Kummer U, Olsen LF. 2009. The metabolic pH response in *Lactococcus lactis*: An integrative experimental and modelling approach. *Computational Biol. and Chem.* 33(1): 71-83.
- Awan MB, Ahmed MM, Bari A, Saad AM. 2005. Biochemical characterization of the *Aeromonas* species isolated from food and environment. *Pak. J. Physiol.* 1(1-2).
- Barbu V. 2008. Phenotypical characterization of several lactic acid bacteria strains isolated from wheat's epiphyte microbiota. *Roumania Biotech. Let.* 13(6): 4074-4085.
- Batt CA. 1999. *Lactococcus* Department of Food Science. Cornell University, USA.
- Bromberg R, Moreno I, Zaganini C.L, Delboni R.R, and Oliveira J. 2004. Isolation of Bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity. *Braz. J. of Microbiol.* 35: 137-144.
- Bujalance C, Jiménez-Valera M, Moreno E, Ruiz-Bravo A. 2006. A selective differential medium for *Lactobacillus* plantaru. *J. Microbiol. Met.* 66: 572-575.
- Bukola C. Adebayo- tayo, Onilude AA. 2008. Screening of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Some Nigerian Fermented Foods for EPS Production. *World App. Sci. J.* 4 (5): 741-747.
- Campbell J. 2011. High-throughput assessment of bacterial growth inhibition by optical density measurements. *Curr. Protoc. Chem. Biol.* 3(3): 100-115.
- de Man JC., Rogosa M., Sharpe M. E.1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 23: 130-135.

- Doutoum AA, Tidjani A, Sylla KSB, Tidjani SMT, Alambedji RB, Balde M, Abdelaziz AI, Seydi MG, Togebaye BS. 2013. Identification of lactic acid bacteria in traditional curd in the Sudanian zone of Chad. *Int. Res. J. of Microbiol.* 4(5): 119-124.
- Hofvendahl B, van Niel EWJ, Hahn-Hägerdal B. 1999. Effect of temperature and pH on growth and product formation of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ATCC 19435 growing on maltose. *App. Microbiol. and Biotechnol.* 51(5): 669-672.
- Itoi S, Yuasa K, Washio S, Abe T, Ikuno E, Sugita H. Phenotypic variation in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolates derived from intestinal tracts of marine and freshwater fish. *J. Appl. Microbiol.* 107(3): 867-874.
- Klinkenberg G, Lystad KQ, Levine DW, Dyrset N. 2001. pH-controlled cell release and biomass distribution of alginate-immobilized *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. *J. Appl. Microbiol.* 91(4): 705-714.
- Konig and Frohlich. 2009. Lactic Acid Bacteria. In : H. König et al. (eds.), *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, 3. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Leisner JJ, Vancanneyt M, Rusul G, Pot B, Lefebvre K, Fresi A, Tee LK. (2001). Identification of lactic acid bacteria constituting the predominating microflora in acid-fermented condiment (tempoyak) popular in Malaysia. *Int. J. of Food Microbiol.* 63: 149-157.
- Leroy F, Vuyst LD. 2001. Growth of the Bacteriocin-Producing *Lactobacillus sakei* Strain CTC 494 in MRS Broth Is Strongly Reduced Due to Nutrient Exhaustion: a Nutrient Depletion Model for the Growth of Lactic Acid Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(10): 4407-4413.
- Lidawati, SA, Suardana, IW. 2014. *Isolasi dan Uji Potensi Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi dari Kolo Sapi Bali sebagai Kandidat Unggul Biopreservatif. Laporan Akhir Penelitian Hibah Bersaing.* Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar.
- Ljungh A, Wadström T. 2006. Lactic acid bacteria as probiotics. *Curr. Issues. Intest. Microbiol.* 7(2): 73-89.
- Mlalazi M., Angela R. Winslow, Junia Jean-Gilles Beaubrun, Broderick E.E. 2011. Occurrence of Pediocin PA-1/AcH-Like Bacteriocin in Native Non-starter *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* from retail Cheddar cheese. *Int. J. Food Safety.* 13: 325-331.
- Mourad K, Halima Z, Nour-Eddine K. 2004. Isolation of lactic acid bacteria for its possible use in the fermentation of green Algerian olives. *Grasas. Y. Acites.* 55(4): 385-393.
- Nigatu A. 2000. Evaluation of numerical analyses of RAPD and API 50 CH patterns to differentiate *Lactobacillus plantarum*, *Lact. fermentum*, *Lact. rhamnosus*, *Lact. sakei*, *Lact. parabuchneri*, *Lact. gallinarum*, *Lact. casei*, *Weissella minor* and related taxa isolated from kocho and tef. *J. Appl. Microbiol.* 89(6): 969-78.
- Nurhayati, Jenie BSL, Kusumaningrum HD, Widowati S. 2011. Identifikasi Fenotipik dan Genotipik Bakteri Asam Laktat asal Fermentasi Spontan Pisang var. Agung Semeru (*Musa paradisiacal* formatypica). *J. Ilmu Dasar.* 12(2): 210-225.
- Pratita MYE, Putra S R. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Panas Di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *J. Teknik Pomits.* 1(1): 1-5.
- Rallu F, Gruss A, Maguin E. *Lactococcus lactis* and stress. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 70(2-4): 243-51.
- Sánchez C, Neves AR, Cavalheiro J, dos Santos MM, García-Quintáns N, López

- P, and Santos H. 2008. Contribution of Citrate Metabolism to the Growth of *Lactococcus lactis* CRL264 at Low pH. *Appl. Environ. Microbiol.* 74(4): 1136–1144.
- Saptayanti, NN., Suatha, IK., dan Sampurna, IP. 2015. Hubungan Antara Dimensi Panjang Induk Dengan Pedet Pada Sapi Bali. *Bul. Vet. Udayana.* 7(2) :129-136.
- Sari SR, Suartha, IN, Batan, IW. 2016. Status Pansen Pedet Sapi bali. *Bul.Vet. Udayana.* 8(1): 36-43.
- Sathyanarayanan J, Kunthala J, Gurumurthy K. 2011. Optimization of MRS media components using response surface methodology for the riboflavin production by *Lactobacillus fermentum* isolated from yoghurt sample. *Int. Food Res. J.* 18: 149-158
- Suardana IW, Suarsana IN, Sujaya IN, Wiryawan KG. 2007. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Cairan Rumen Sapi Bali Sebagai Kandidat Biopreservatif. *J. Veteriner.* 8(4) :155-159.
- Suarsana, IN. 2011. Karakterisasi Fisikokimia Bakteriosin Yang Diekstrak Dari Yoghurt. *Bul. Vet. Udayana.* 3(1):1-8.
- Surono IS. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi Dan Kesehatan.* Penerbit YAPPMI. Jakarta.
- Suryani Y, Astuti, Oktavia B, Umniyati S. 2010. *Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Kotoran Ayam Sebagai Agensi Probiotik Dan Enzim Kolesterol Reduktase.* Prosiding Seminar Nasional Biologi. Yogyakarta.
- Togo CA, Feresu SB, Mutukumira AN. 2002. Identification of Lactic Acid Bacteria isolated from Opaque beer (*Chibuku*) for potential use as a starter culture. *J. Food Tech. in Africa* 7(3): 93-97.
- Vijayabaskar P, Somasundaram ST. 2008. Isolation of Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria from Fish Gut and Probiotic Activity Against Common Fresh Water Fish Pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Biotechnol.* 7: 124-128.
- Widiasih, T. 2008. *Aktivitas Substrat Antimikroba Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Daging Sapi Terhadap Bakteri Patogen dan Konsentrasi Minimum Penghambatnya.* Skripsi. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu.* 1. Lacticia Press. Yogyakarta
- Wouters JA, Kamphuis HH, Hugenholtz J, Kuipers OP, de Vos WM, Abee T. 2000. Changes in glycolytic activity of *Lactococcus lactis* induced by low temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(9): 3686-91.
- Yang E, Fan L, Jiang Y, Doucette C, Fillmore S. 2012. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *AMB. Express.* 2(1): 48.
- Zacharof MP, Lovitt R.W. 2012. Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. *APCBEE. Procedia.* 2: 50–56.