

TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) PADA FESES RUSA SAMBAR (*Cervus unicolor*) DI TAMAN RUSA ACEH BESAR

The Total of Lactic Acid Bacteria (LAB) on Feces of Sambar Deer (Cervus unicolor) in Taman Rusa Aceh Besar

Liza Setia Joni¹, Erina², Mahdi Abrar²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

²Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: lizasetiajoni@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui total bakteri asam laktat (BAL) pada feses rusa sambar (*Cervus unicolor*) di Taman Rusa Aceh Besar. Sampel yang digunakan adalah feses dari 6 ekor rusa sambar. Penghitungan total BAL menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Sampel diencerkan dari 10^{-1} sampai dengan 10^{-8} , kemudian diinokulasikan ke dalam media MRS Agar dengan menggunakan metode *spread plate*. Cawan Petri diinkubasi 37°C selama 48 jam. Koloni bakteri asam laktat yang tumbuh kemudian dilakukan pengamatan berdasarkan morfologi koloni, pewarnaan Gram, uji katalase dan penghitungan total bakteri asam laktat yang tumbuh. Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni dapat dilihat ada 5 macam BAL yang tumbuh pada media MRS Agar. Bakteri yang tumbuh semuanya termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif (warna ungu) dan katalase negatif. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa total BAL pada feses rusa sambar adalah 5×10^9 CFU/ml.

Kata Kunci : Bakteri Asam Laktat, Rusa Sambar (*Cervus unicolor*)

ABSTRACT

This study aims to know the total lactic acid bacteria (LAB) on the feces of sambar deer (Cervus unicolor) in Taman Rusa Aceh Besar. The sample used was the feces of 6 sambar deers. Total calculation of BAL used Total Plate Count (TPC) method. Samples were diluted from 10^{-1} to 10^{-8} , then inoculated into MRS Agar medium by using the spread plate method. The Petri dish was incubated 37°C for 48 hours. The colonies of lactic acid bacteria that grew later were observed based on colony morphology, Gram staining, catalase test and total lactic acid bacteria count. Based on the observation of colony morphology, it can be seen that there were 5 kinds of LAB growing on MRS Agar medium. The all-growing bacteria belong to the group of Gram-positive (purple) bacteria and negatif catalase. The results of this study can be concluded that the total LAB from feces of sambar deer was 5×10^9 CFU / ml.

Keywords : Lactic Acid Bacteria, Sambar Deer (*Cervus unicolor*)

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Rusa sambar (*Cervus unicolor*) merupakan salah satu satwa liar endemik Indonesia yang populasinya telah mengalami penurunan karena merupakan salah satu rusa yang paling banyak dipilih pemburu sebagai satwa target (Kartono dkk., 2008). Rusa sambar (*Cervus unicolor*) merupakan rusa yang terbesar ukuran tubuhnya di daerah tropika. Penyebaran rusa sambar di Indonesia hanya terbatas di daerah Sumatera, Kalimantan dan pulau kecil di sekitar Sumatera (Wilson and Reeder, 2013).

Rusa sambar merupakan hewan mamalia pemamah biak (ruminansia). Proses pencernaan pada satwa ruminansia sangat kompleks, karena melibatkan interaksi yang dinamis antara makanan, mikroba dan hewan tersebut (Sita dan Aunurohim, 2013). Gangguan pada sistem pencernaan yang disebabkan oleh infeksi bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Vibrio cholerae* dan *Vibrio parahaemolyticus* sering terjadi. Hal ini juga dapat menjadi salah satu penyebab terjadinya penurunan populasi.

Penanggulangan pada kasus diare yang disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme patogen dapat diatasi dengan pemberian probiotik (Tambekar dan Bhutada, 2010). Menurut Aslam dan Qazi (2010), probiotik adalah suplemen pakan atau makanan yang

berisi mikroorganisme hidup yang bermanfaat bagi kesehatan dengan menjaga keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan inang.

Lactobacillus, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* dan *Propionibacterium* merupakan genera BAL dalam saluran pencernaan (Savodago dkk., 2006). Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri Gram positif, tidak berspora, berbentuk basil atau kokus, fakultatif anaerob dan mampu memfermentasi karbohidrat dengan asam laktat sebagai hasil utamanya (Widyadnyana dkk., 2015). BAL menghasilkan antibakteri berupa asam organik, bakteriosin, metabolit primer, hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida, dan asetaldehid (Tambekar and Bhutada, 2010).

BAL dapat berperan sebagai probiotik dengan beberapa persyaratan diantaranya adalah tidak patogen, mempunyai viabilitas yang tinggi, tumbuh, dan aktif dalam sistem pencernaan, tahan terhadap asam dan garam empedu (*bile salt*), bersifat anaerob, mampu tumbuh dengan cepat dan menempel (melakukan kolonisasi) pada dinding saluran pencernaan, mampu menghambat atau membunuh bakteri patogen (Pundir dkk., 2013).

Drasar dan Hill, 1974 dalam Suardana dkk., 2007 menyatakan bahwa sebagian besar flora normal di dalam saluran cerna hewan merupakan bakteri asam laktat (BAL). Pada kolon sapi ditemukan 10^4 - 10^9 BAL pergram isi kolon (Lambert and Hull, 1996). Dari latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk menghitung total bakteri asam laktat yang ada pada feses rusa sambar (*Cervus unicolor*) di Taman Rusa Aceh Besar.

MATERIAL DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan November sampai Desember 2017.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, Erlenmeyer, timbangan analitik, *Hot plate*, gelas *Baker*, inkubator, autoklaf, sterilisator, mikroskop, vortex, gunting, ose, bunsen, lemari es, mikropipet, gelas objek, rak tabung reaksi, dan kamera untuk dokumentasi selama penelitian. Sampel yang digunakan adalah feses dari 6 ekor rusa sambar (*Cervus unicolor*). Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah MRS (*De Man Rogosa Sharpe*) Agar (Oxoid), alkohol 96%, lugol, safranin, kristal violet, aquades steril, kertas label, tissue, dan kapas.

Prosedur Penelitian

Persiapan Peralatan

Semua peralatan yang digunakan selama penelitian harus disterilkan terlebih dahulu, seperti cawan petri, tabung reaksi, dan erlenmeyer harus disterilkan menggunakan sterilisator dengan suhu 160 °C selama 2 jam.

Pengambilan Sampel

Sampel feses diambil dari 2 ekor rusa sambar jantan dan 4 ekor rusa sambar betina yang berasal dari Taman Rusa Aceh Besar pada pagi hari setelah defekasi. Feses yang diambil \pm 10 gram.

Pembuatan Media

Media MRS Agar dibuat sebanyak 2 liter yaitu dengan menggunakan 2 liter NaCl fisiologis ditambah 124 gram MRS Agar bubuk di dalam gelas Erlenmeyer. Kemudian larutan tersebut dipanaskan sampai mendidih dengan *hot plate*. Setelah mendidih, gelas Erlenmeyer

ditutup menggunakan kapas dan disterilkan selama 15 menit di dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksploratif yang dilakukan di dalam laboratorium. Sampel yang digunakan adalah feses dari 6 ekor rusa sambar (*Cervus unicolor*) yang terdiri dari 2 ekor rusa sambar jantan dan 4 ekor rusa sambar betina. Isolasi bakteri asam laktat dilakukan dengan menggunakan media selektif bakteri asam laktat yaitu MRS Agar (Judoadmidjojo dan Darwis, 1990). Sebelum dilakukan penghitungan, sampel feses rusa sambar sebanyak 2,5 gram terlebih dahulu dimasukan kedalam 22,5 ml NaCl fisiologis. Selanjutnya dilakukan pengenceran, pengenceran ini bertujuan untuk memperkecil kuantitas mikroba yang tersuspensi di dalam media, sehingga mempermudah dalam mengamati koloni yang tumbuh. Pengenceran yang dilakukan adalah pengenceran decimal (10^{-1} s/d 10^{-8}). Siapkan 8 buah tabung reaksi, selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan 9 ml NaCl fisiologis. Isi 1 ml stock bakteri ke dalam tabung no.1 dan homogenkan dengan vortex, kemudian ambil 1 ml suspensi bakteri dari tabung no.1 pindahkan ke tabung no.2 homogenkan lagi dan ambil 1 ml suspensi bakteri dari tabung no.2 pindahkan lagi ke tabung no.3 dan homogenkan lagi. Setelah itu ambil lagi 1 ml suspensi bakteri dari tabung no.3 pindahkan lagi ke tabung no.4 dan homogenkan lagi begitu seterusnya hingga tabung no.8.

Setelah dilakukan pengenceran, hasil pengenceran tersebut dikultur ke dalam plate berisi media MRSA dengan metode *spread plate* menggunakan kaca bengkok (cawan sebar). Pengenceran yang dikultur pada plate berisi media MRSA dimulai dari pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-8} . Dari masing- masing pengenceran tersebut, diambil 1 ml dengan menggunakan mikropipet dan dituangkan ke atas 2 plate berisi media MRSA (duplo). Selanjutnya, cawan Petri tersebut diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh kemudian dilakukan pengamatan berdasarkan morfologi koloni (bentuk, tepian, elevasi, dan warna).

Kemudian dilakukan pewarnaan Gram bertujuan untuk melihat bentuk bakteri dan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif ataupun Gram negatif. Langkah awal yang dilakukan adalah membersihkan gelas objek dengan menggunakan alkohol. Setelah bersih kemudian diambil 1 tetes aquadest dan diletakan di atas gelas objek. Selanjutnya, dengan ose steril diambil koloni bakteri yang tumbuh secara dominan pada media MRSA dan dihomogenkan dibuat sediaan dengan diameter dan dikering anginkan. Setelah kering sediaan difiksasi dengan cara melewatkan 3-5 kali di atas lampu spiritus.

Preparat yang sudah difiksasi lalu diberi pewarnaan kristal violet selama 3 menit. Kemudian preparat dicuci dengan air mengalir. Setelah dicuci, preparat digenangi lugol selama 1 menit, lalu preparat dicuci kemudian digenangi lagi dengan alkohol 96% selama 10-20 detik dan selanjutnya dicuci kembali dengan air mengalir. Preparat yang sudah dicuci dengan air mengalir kemudian digenangi dengan safranin dan dibiarkan selama 1 menit. Selanjutnya, preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara dianginkan. Setelah kering, preparat ditetesi dengan minyak emersi dan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x100 (Waluyo, 2007).

Penghitungan Jumlah Koloni dan Total Bakteri Asam Laktat

Koloni yang tumbuh pada masing-masing media MRSA yaitu pada pengenceran 10^{-1} sampai pengenceran 10^{-8} dihitung seluruhnya. Setelah diperoleh jumlah koloni dari setiap pengenceran, selanjutnya dihitung total bakteri asam laktat yang tumbuh dengan cara mengalikan jumlah koloni dengan satu per faktor pengenceran yang dipakai. Jumlah koloni yang digunakan untuk menghitung total bakteri asam laktat adalah koloni yang berjumlah

antara 25-250. Satuan yang digunakan untuk penghitungan jumlah bakteri adalah cfu/ml (Fardiaz, 1993).

Jumlah bakteri per ml dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah bakteri} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

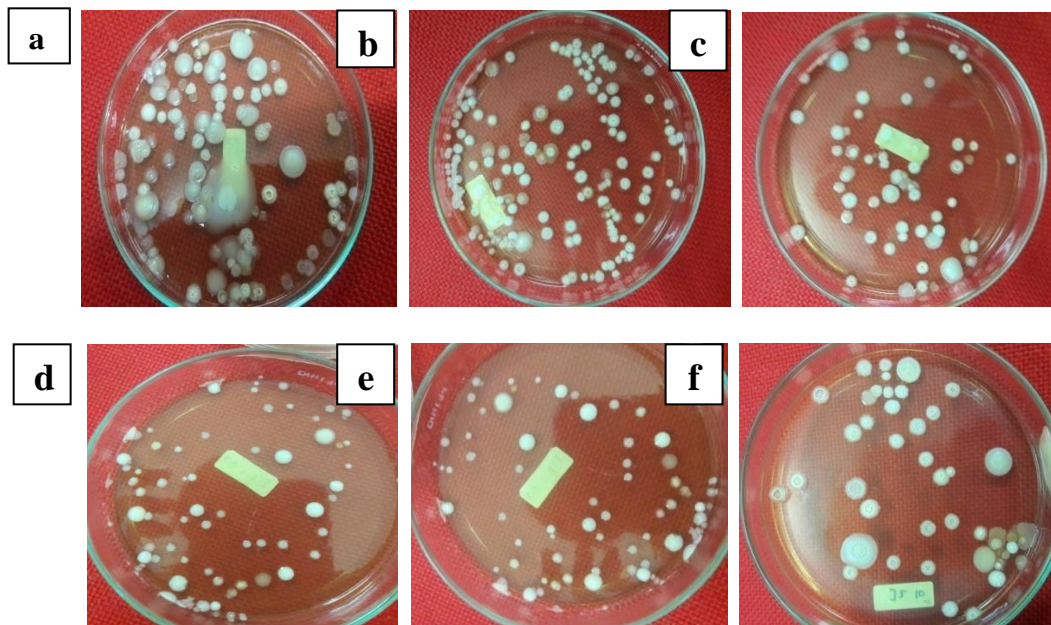
Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Koloni Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri asam laktat (BAL) yang berasal dari sampel feses rusa sambar (*Cervus unicolor*) di Taman Rusa Aceh Besar dilakukan dengan menggunakan media selektif bakteri asam laktat yaitu media MRSA (*De Man Rogosa Sharpe*) Agar. Feses yang dikultur ke dalam media MRSA sebelumnya dilakukan pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻⁸. Setelah diinkubasikan selama 48 jam, koloni bakteri terlihat tumbuh menyebar pada permukaan media MRSA dari pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻⁸. Koloni bakteri yang tumbuh pada media MRSA dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Koloni bakteri yang tumbuh pada media MRS agar. (a)RSJ1 (b)RSB1 (c) RSJ2 (d)RSB2 (e)RSB4 (f)RSB3

Hasil pengamatan secara makroskopis, mikroskopis, uji katalase dan penghitungan total BAL yang tumbuh dari setiap rusa sambar dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Total bakteri asam laktat, morfologi koloni, hasil pewarnaan Gram dan uji katalase.

No.	Asal Sampel	Jumlah Koloni	Morfologi Koloni				Morfologi Sel		Uji Katalase
			Bentuk	Elevasi	Tepian	Warna	Bentuk	Gram	
1.	RSJ1	2,4 x 10 ⁷ CFU/ml	Bulat	Cembung	Rata	Putih susu	basil	+	-
			Filamentous	Datar	Irregular	Krem	Basil	+	-
			Bulat	Cembung	Rata	Kuning	Kokus	+	-

2.	RSJ2	2,2 x 10 ⁹ CFU/ml	Bulat	Cembung	Rata	Putih Susu	Basil	+	-
			Filamentous	Datar	Irregular	Krem	Basil	+	-
			Rhizoid	Datar	Irregular	Krem	Basil	+	-
			Bulat	Cembung	Rata	Kuning	Kokus	+	-
			Irregular	Datar	Irregular	Putih Susu	Basil	+	-
3.	RSB1	4 X 10 ⁶ CFU/ml	Bulat	Cembung	Rata	Putih Susu	Basil	+	-
			Bulat	Cembung	Rata	Kuning	Kokus	+	-
			Filamentous	Datar	Irregular	Krem	Basil	+	-
4.	RSB2	5 X 10 ⁶ CFU/ml	Bulat	Cembung	Rata	Putih Susu	Basil	+	-
			Filamentous	Datar	Irregular	Krem	Basil	+	-
			Rhizoid	Datar	Irregular	Krem	Basil	+	-
			Bulat	Cembung	Rata	Kuning	Kokus	+	-
5.	RSB3	14 X 10 ⁹ CFU/ml	Bulat	Cembung	Rata	Putih Susu	Basil	+	-
			Filamentous	Datar	Irregular	Krem	Basil	+	-
6.	RSB4	14 X 10 ⁹ CFU/ml	Bulat	Cembung	Rata	Putih Susu	Basil	+	-
			Filamentous	Datar	Irregular	Krem	Basil	+	-
			Rhizoid	Datar	Irregular	Krem	Basil	+	-
			Bulat	Cembung	Rata	Kuning	Kokus	+	-

Secara makroskopis pengamatan morfologi koloni menunjukkan ada 5 macam BAL yang dapat tumbuh. Pada pewarnaan Gram bakteri yang tumbuh berbentuk batang dan kokus, termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif (bewarna ungu). Uji katalase menghasilkan katalase negatif (tidak terbentuk gelembung).

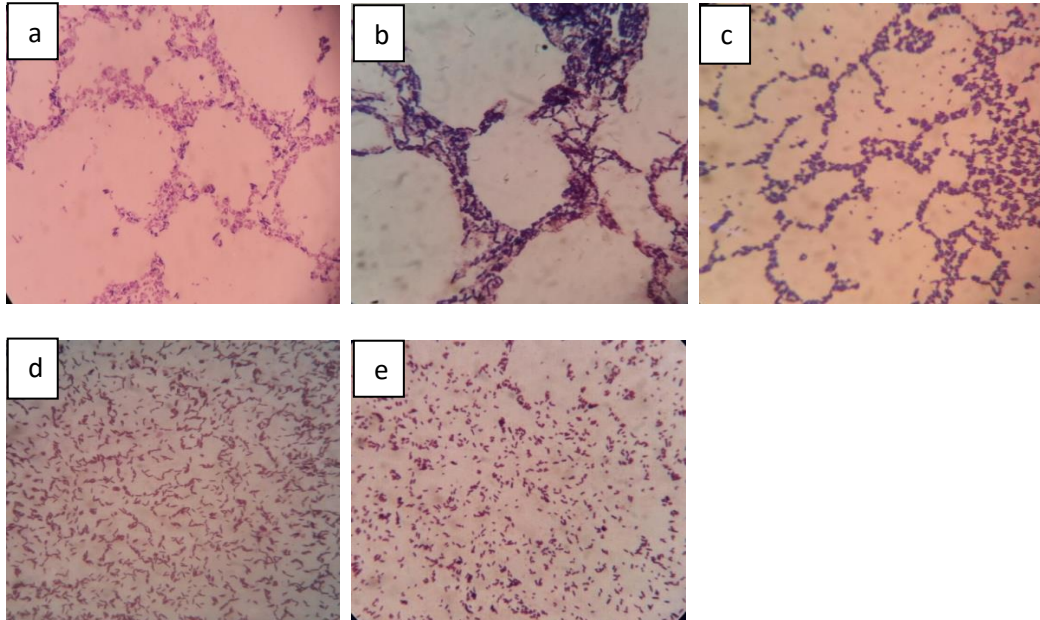
MRSA merupakan media selektif yang digunakan untuk mengisolasi bakteri asam laktat (Judoamidjojo dan Darwis., 1990). Penggunaan media selektif untuk isolasi bakteri adalah untuk mempermudah pertumbuhan suatu galur mikroba tertentu dan menghalangi tumbuhnya galur mikroba lainnya. Media MRSA mengandung polysorbat, asetat, magnesium dan mangan yang merupakan faktor dalam pertumbuhan *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc* (Putra, 2015). Oxoid (1982) menambahkan bahwa media MRSA juga mengandung sodium asetat yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri lain. Dengan sifat selektifnya tersebut, secara keseluruhan koloni bakteri asam laktat dari beberapa strain dapat tumbuh pada media ini.

Warna koloni yang tumbuh tampak berbeda-beda karena dipengaruhi oleh pigmen yang dihasilkan oleh bakteri. Beberapa pigmen yang terdapat pada bakteri antara lain *melanin*, *antosianin*, *karotenoid*, *fenazin* dan *tripirilmethene*. Pigmen-pigmen tersebut kemudian akan memberikan warna yang berbeda-beda pada setiap koloni bakteri. Pigmen melanin akan memberikan warna coklat, jingga, merah dan hitam. Pigmen antosianin akan memberikan warna merah dan biru. Pigmen karotenoid akan memberikan warna merah, jingga, kuning, krem dan putih susu. *Fenazin* memberikan warna jingga tua, jingga kekuningan, dan merah jingga. *Tripirilmethene* merupakan pigmen yang dihasilkan oleh bakteri *Serratia marcescens* yang memberikan pigmen merah (Savitri, 2006). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan koloni bakteri yang tumbuh pada media MRS Agar bewarna

kuning, krem dan putih susu. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut mengandung pigmen karotenoid.

Pewarnaan Gram

Terdapat 5 jenis koloni bakteri yang berbeda berdasarkan pengamatan morfologi koloni yang selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram terhadap koloni bakteri tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil pewarnaan Gram dengan pembesaran 1000 terhadap 5 macam koloni BAL. (a) Bentuk Irregular berwarna putih susu (b) Bentuk filamentous berwarna krem (c) Bentuk bulat berwarna kuning (d) Bentuk bulat berwarna putih susu (e) Bentuk rhizoid berwarna krem

Hasil pewarnaan Gram terhadap koloni bakteri yang berwarna putih susu, berbentuk bulat dan elevasi cembung, memperlihatkan warna ungu dengan morfologi bakteri berbentuk basil. Warna ungu pada bakteri menunjukkan bahwa bakteri merupakan golongan bakteri Gram positif. Demikian juga dengan koloni bakteri berwarna krem, berbentuk bulat, dan elevasi cembung, memperlihatkan warna ungu dengan bentuk kokus.

Koloni bakteri berbentuk filamentous dan rhizoid yang berwarna krem, berbentuk irregular dan elevasi datar memperlihatkan warna ungu dengan morfologi bakteri berbentuk basil, sedangkan koloni putih susu, bentuk irregular dan elevasi datar juga memperlihatkan warna ungu bentuk basil. Hal ini sesuai dengan ciri-ciri bakteri asam laktat yang merupakan bakteri Gram positif dan dapat berbentuk basil, kokobasil, dan berbentuk kokus.

Dari hasil pewarnaan Gram juga diketahui bahwa terdapat korelasi antara perbedaan koloni bakteri yang tumbuh dengan hasil pengamatan mikroskopis terutama perbedaan pada morfologi bakterinya. Bakteri Gram positif merupakan bakteri yang dapat mempertahankan zat warna kristal violet pada proses pewarnaan Gram. Bakteri golongan ini akan memperlihatkan warna biru keunguan (violet), sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah muda pada saat dilakukan pengamatan di bawah mikroskop. Perbedaan warna dari proses pewarnaan Gram ini didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel yang menyusun bakteri.

Dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari lapisan peptidoglikan yang membentuk suatu struktur yang tebal dan kaku. Lapisan peptidoglikan yang tebal ini membuat bakteri

Gram positif dapat tahan terhadap pembilasan oleh alkohol, sehingga mampu mencegah keluarnya zat warna utama gentian violet (Widyadnyana dkk., 2015).

Peptidoglikan pada dinding sel bakteri Gram positif memiliki ketebalan sekitar 90% dari total komposisi dinding sel bakteri, sedang peptidoglikan pada dinding sel bakteri Gram negatif hanya memiliki ketebalan 10% dari total komposisi dinding sel bakteri. Sebagian besar dinding sel bakteri Gram negatif berupa lipid, sehingga pada saat pencucian dengan alkohol 96% lipid tersebut akan luruh dan menyebabkan zat warna utama gentian violet tidak dapat dipertahankan oleh dinding sel bakteri pada proses pewarnaan gram (Widyadnyana dkk., 2015).

Uji Katalase

Menurut Lay (1994) uji katalase digunakan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada isolat bakteri. Katalase merupakan enzim yang dapat mengkatalisis penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). Hasil yang diperoleh adalah negatif karena tidak terbentuknya gelembung yang berarti isolat tidak mampu menghasilkan enzim katalase. Hal ini sesuai dengan pernyataan Khalil dan Anwar (2016) bahwa bakteri asam laktat bersifat katalase negatif. Hasil uji katalase pada isolat BAL dapat dilihat pada Gambar 4



Gambar 4. Hasil uji katalase pada koloni BAL bentuk bulat berwarna putih susu.

Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri Asam Laktat

Penghitungan jumlah koloni bakteri asam laktat dilakukan mulai dari pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-8} . Hasil penghitungan jumlah koloni bakteri asam laktat dari sampel feses rusa sambar untuk masing-masing rusa dapat dilihat pada Tabel 1.

Prinsip pengenceran adalah untuk mengurangi kuantitas bakteri, sehingga apabila semakin besar pengenceran yang dilakukan maka semakin sedikit jumlah koloni yang tumbuh pada media. Faktor utama yang menyebabkan terjadinya kegagalan pertumbuhan koloni bakteri pada media biakan adalah kesalahan dalam prosedur pengenceran dan pengenceran yang terlalu besar, misalnya mengambil terlalu banyak atau terlalu sedikit bakteri dari larutan suspensi awal. Salah-satu faktor yang dapat menyebabkan terjadi kesalahan adalah akibat larutan suspensi yang kurang homogen, sehingga jumlah bakteri yang terambil tidak mewakili populasi bakteri yang ada (Putra, 2015).

Hasil penghitungan total bakteri asam laktat per ml pada feses rusa sambar adalah 5×10^9 CFU/ml. Jumlah bakteri asam laktat di dalam saluran pencernaan dipengaruhi oleh keseimbangan flora normal yang ada di dalamnya. Apabila bakteri baik dan bakteri patogen tidak seimbang, maka akan mempengaruhi jumlah bakteri asam laktat pada saluran pencernaan (Lambert and Hull, 1996).

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni, pewarnaan Gram, uji katalase dan hasil penghitungan bakteri yang tumbuh pada media MRSA maka dapat disimpulkan bahwa total BAL pada feses rusa sambar di Taman Rusa Aceh Besar adalah 5×10^9 CFU/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Agnes. 2006. Tanggapan masyarakat tentang penangkaran rusa sambar Universitas Lampung. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Alikodra, A.H.S. 1990. *Pengelolaan Satwa Liar*, Jilid 1. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antara Universitas Ilmu Hayati. IPB, Bogor.
- Aslam, S. and J.I. Qazi. 2010. Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic to microbial contaminants. *Pakistan Journal of Zoology*. 42(5): 567-573.
- Aurora, S.P. 1989. *Pencernaan Mikroba Pada Ruminansia*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Czerkawski, J.W. 1988. *An Introduction to Rumen Studies*. 1sted. Studies Pergamon Press . New York.
- English. 1984. *Kemampuan Hidup dan Adaptasi pada Rusa (Cervus timorensis) dalam Penangkaran*. University of California, California.
- Fardiaz, S. 1993. *Mikrobiologi Pangan I*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fuller, R. 1989. A review probiotic in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 66: 365-378.
- International Union for Conservation of Nature. 2010. IUCN Red List Threatened species. [http: www.iucnredlist.com](http://www.iucnredlist.com). 15 September 2017.
- Jin, L.Z., Y.W. Ho, N. Abdullah and S. Jalaludin. 1998. Probiotic in poultry : modes of action. *World's Poult. Sci. J*. 53: 351 – 368.
- Judoamidjojo, M. dan A.A. Darwis. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Institut Pertanian Bogor Press, Bogor.
- Kartono, A.P., Y. Santosa, D. Darusman dan A.M. Thohari. 2008. Penentuan kuota buru dan introduksi populasi rusa sambar untuk menjamin perburuan lestari. *Media Konservasi*. 13(2):53-58.
- Khalil, M. I dan M.N. Anwar. 2016. Isolation, identification and characterization of lactic acid bacteria from milk and yogurts. *Research and Reviews: Journal of Food and Dairy Technology*. 4(3):17-26.
- Lambert, J. and R. Hull. 1996. Upper gastrointestinal tract disease and probiotics. *Asia Pacific J Clin Nutr*. 5(1): 31-35.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikrobiologi di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Oxoid. 1982. *The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients and Other Laboratory Services*. 5th ed. Basingtoke, Hampshire.
- Prescott, L.M., J.P. Harley, and D.A. Klein. 2002. *Microbiology*. 5th ed. McGraw Hill, London.
- Pundir, R.K., S. Rana, N. Kashyap and A. Kaur. 2013. Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from food samples: an in vitro study. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 3(3): 85-93.
- Putra, Y.S. 2015. Isolasi bakteri asam laktat (BAL) pada feses orangutan sumatra (*Pongo abelli*) di Kebun Binatang Bukittinggi Sumatra Barat. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Raja, B.R. dan K.D. Arunachalam. 2011. Market potential for probiotic nutritional supplements in India. *African Journal of Business management*. 5(14):5418-5423.

- Savadago, A., C.A.T. Ouattara, I.H.N. Bassole and S.A. Traore. 2006. Bacteriocins and lactic acid bacteria – a minireview. *African Journal of Biotechnology*. 5(9):678-683.
- Savitri, S.D.N. 2006. Isolasi dan karakterisasi bakteri halotoleran pada peda ikan kembung (*Rastrelliger sp.*). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Semiadi, G dan R.T.P. Nugraha 2004. *Panduan Pemeliharaan Rusa Tropis*. Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor.
- Sita, V. dan Aunurohim. 2013. Tingkah laku makan rusa sambar (*Cervus unicolor*) dalam konservasi ex-situ di Kebun Binatang Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1): 34-45.
- Suardana, I.W., I.N. Suarsana, I.N. Sujaya dan K.G. Wiryawan. 2007. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari cairan rumen sapi bali sebagai kandidat biopresentatif. *Jurnal Veteriner*. 8(4): 155-159.
- Suwandi. 1997. Peranan mikroba rumen pada ternak ruminansia. *Lokakarya Fungsional Non Peneliti*. Balai Penelitian Ternak Ciawi, Bogor.
- Tambekar, D. H. and Bhutada, S. A. 2010. Studies on antimicrobial activity and characteristics of bacteriocins produced by *Lactobacillus* strains isolated from milk of domestic animals. *The Internet J Microbiol*. 8:1-6.
- Trisna dan N. Wahud. 2012. Identifikasi molekuler dan pengaruh pemberian probiotik bakteri asam laktat (BAL) asal dadih dari Kabupaten Sijunjung terhadap kadar kolestrol daging pada itik pitalah sumber daya genetic Sumatra Barat. *Artikel*. Universitas Andalas, Padang.
- Waluyo. 2007. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press, Malang.
- Widyadnyana, D.G.A., I.D.M. Sukrama dan I.W. Suardana. 2015. Identifikasi bakteri asam laktat isolat 9A dari kolon sapi bali sebagai probiotik melalui analisis gen 16S rRNA. *JSV*. 33(2): 228-233.
- Wilson, E. and D.A.M. Reeder. 2013. *Cervidae. Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd ed). Johns Hopkins University Press, Baltimore.