

ISOLASI BAKTERI ASAM LAKTAT GENUS *Lactobacillus* DARI FESES RUSA SAMBAR (*Cervus unicolor*)

Isolation of Lactic Acid Bakteria Genus Lactobacillus from Feces of Sambar Deer (Cervus unicolor)

Amelia Andika Putri¹, Erina², Fakhrurrazi³

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

²Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

Email: ameliaputri560@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri asam laktat (BAL) pada feses rusa sambar. Sampel yang digunakan yaitu feses segar yang berasal dari 6 ekor rusa sambar yang ada di Taman Rusa Sibreh, Aceh Besar. Isolasi bakteri BAL dilakukan dengan menggunakan metode Carter (1976). Koloni BAL yang tumbuh diamati morfologi koloninya secara makroskopis dan mikroskopis. Selanjutnya dilakukan uji katalase dan pewarnaan spora dengan metode Schaeffer and Fulton. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang diisolasi termasuk kedalam kelompok bakteri Gram positif, katalase positif dan ada juga yang negatif, serta tidak berspora. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri asam laktat (BAL) genus *Lactobacillus* dapat diisolasi pada feses rusa sambar di Taman Rusa Sibreh, Aceh Besar.

Kata kunci: Rusa sambar, Bakteri Asam Laktat, *Lactobacillus*

ABSTRACT

This study aim to isolate lactic acid bacteria (BAL) from sambar deer. The samples used in this study. Study were fresh feces from 6 sambar deers in Taman Rusa Sibreh, Aceh Besar. Isolation of BAL was done based on Carter method (1976). The BAL colonies were observed, macroscopically and microscopically. Then, katalase test and spore with Schaeffer and Fulton technique were done. The data were analyzed descriptively. The results showed that isolated bacteria belonged to Gram positive bacterial groups, catalase positif and there was also a negative, and not spore. Based on the results of this study it can be concluded that lactic acid bacteria (BAL) of *Lactobacillus* genus can be isolated from sambar deers feces.

Keywords: Sambar deer, Lactic acid bacteria (BAL), *Lactobacillus*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi di dunia. Keanekaragaman hayati tersebut perlu dijaga dan dilestarikan. Hal ini bertujuan untuk mencegah terjadinya penurunan jumlah populasi yang dapat menyebabkan kepunahan. Salah satu spesies yang populasinya mengalami penurunan adalah rusa sambar (*Cervus unicolor*). Penyebaran rusa sambar di Indonesia hanya terbatas di daerah Sumatera dan Kalimantan. Rusa sambar merupakan rusa yang terbesar ukurannya di daerah tropika, dan paling banyak dipilih pemburu sebagai satwa target buruan (Sita dan Aunurohim, 2013).

Rusa sambar mempunyai nilai ekonomis yang tinggi, selain menghasilkan daging, manfaat lain dari rusa adalah tanduk, kulit dan susu yang sering dijadikan sebagai obat (Semiadi, 1998). Penyakit zoonosis juga merupakan salah satu penyebab menurunnya produktivitas pada rusa. Zoonosis adalah penyakit yang ditularkan secara alamiah antara hewan ke manusia, begitu juga sebaliknya (Khairiyah, 2011). Salmonellosis dan *Escherichia coli* merupakan salah satu penyakit zoonosis yang sering menginfeksi sistem pencernaan pada ruminansia (Darmono dan Hadirman, 2011).

Salmonellosis pada rusa, gejalanya dapat berupa anoreksia, penurunan berat badan, depresi setelah 2-3 hari, diare atau gangguan pencernaan pada beberapa spesies rusa, dan mengakibatkan dehidrasi (Reenen, 1982). Namun salmonellosis pada manusia berupa penyakit gastrointestinal, masa inkubasi nya 12-36 jam dengan gejala diare, mual, nyeri lambung dan muntah (Soeharsono, 2002). Menurut Wiradikusumah (2011), *Shigella*, *Vibrio*

cholera, dan *Escherichia coli* juga dapat menyebabkan disentri, dan kolera pada saluran pencernaan.

Penanggulangan infeksi bakteri pada gangguan sistem pencernaan, dapat diatasi dengan memanfaatkan probiotik yang berfungsi untuk meningkatkan produktivitas, nilai cerna dan efisiensi pakan (Sinurat dkk., 2003). Antibakteri seperti asam laktat dan bakteriosin yang dimiliki oleh probiotik mempunyai efek yang sangat penting untuk menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen. Hal ini karena asam laktat mampu menurunkan pH menjadi rendah dan menyebabkan bakteri patogen akan sulit bertahan atau mati. Sedangkan bakteriosin bekerja dengan menghambat produksi energi dan biosintesis protein pada bakteri patogen (Fauziah dkk., 2014).

Bakteri genus *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, dan *Vagococcus* (Rahayu dan Margino, 1997), merupakan golongan bakteri asam laktat (BAL) yang bersimbiosis dengan mikroflora usus dan mampu melawan bakteri patogen (Anastiawan, 2014). BAL merupakan golongan mikroorganisme yang bermanfaat dengan sifat tidak toksik terhadap inangnya dan mampu menghasilkan senyawa yang dapat membunuh bakteri patogen (Septiani dkk., 2012).

BAL dapat dijadikan probiotik untuk melawan bakteri patogen. Pemberian BAL sebagai probiotik mampu memberikan efek yang menguntungkan bagi tubuh inang yang mengalami gangguan atau infeksi penyakit pada sistem pencernaan. Salah satu probiotik dari golongan BAL dapat diperoleh dari genus *Lactobacillus*. *Lactobacillus* berperan dalam mengontrol pH usus, melalui produksi asam yang menurunkan pH usus sehingga membatasi pertumbuhan bakteri patogen yang menyebabkan pembusukan (Lee dan Salminen, 2009). *Lactobacillus* mempunyai suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen di dalam usus. Senyawa ini dikenal sebagai bakteriosin seperti casein yang dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* dan bulgarin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* (Rosiana, 2008).

Penelitian tentang BAL pada rusa sambar (*Cervus unicolor*) belum pernah dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala. Oleh karena itu, penelitian untuk mengisolasi BAL genus *Lactobacillus* sebagai kandidat probiotik dari feses rusa sambar di Taman Rusa Sibreh, Aceh Besar perlu dilakukan.

MATERI DAN METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator (memmert), mikroskop (olympus), lemari pendingin, sterilisator, spiritus, osse, objek glass, cawan petri, Erlenmayer, spidol, tissue, plastik setril, label, kapas, sarung tangan, masker, tabung reaksi, dan rak tabung reaksi.

Bahan-bahan yang digunakan adalah feses segar dari 6 ekor rusa sambar, yang diambil di Taman Rusa di Desa Lamtanjong, Kecamatan Sibreh, Aceh Besar. Media selektif MRSA (*De Man Rogoso Sharpe Agar*), NaCl fisiologis, aquades, minyak emersi, parafin cair, bahan pewarnaan Gram (kristal violet, lugol, safranin, dan etanol), H₂O₂ 3% untuk uji katalase, dan *malachite green* untuk pewarnaan spora.

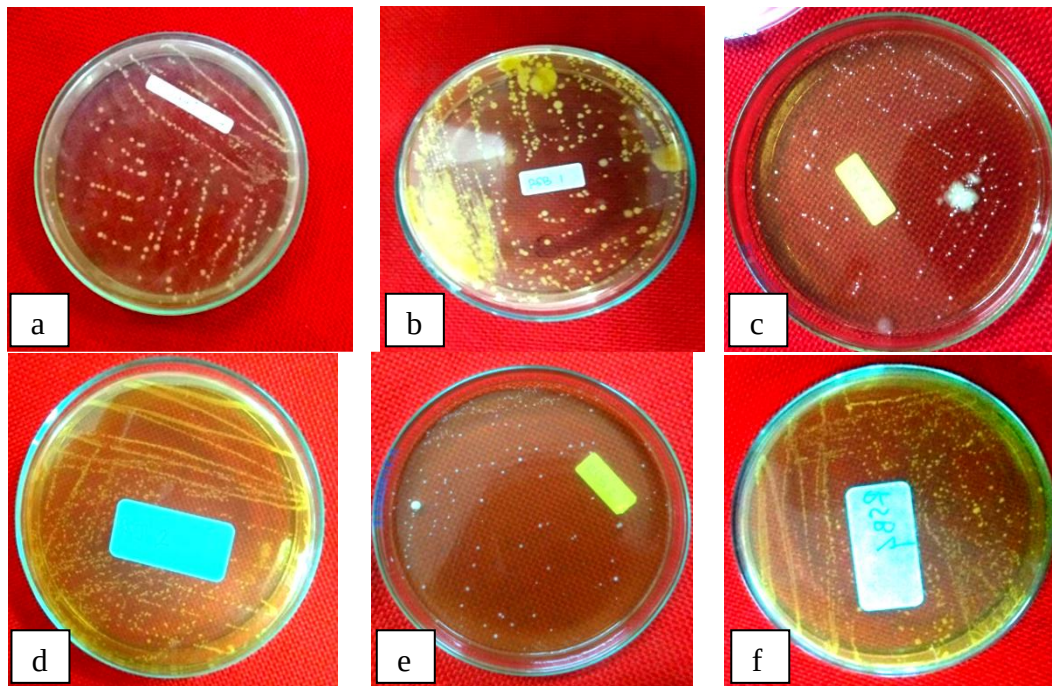
Analisis Data

Data penelitian ini di analisis dengan cara deskriptif.

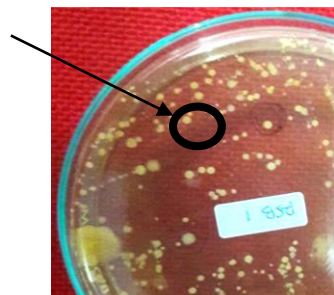
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isoalasi BAL dari sampel feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*) di Taman Rusa, Sibreh pada media MRSA diperoleh pertumbuhan koloni BAL seperti yang terlihat pada gambar 1. Hasil pengamatan morfologi koloni yang tumbuh berbentuk bulat, berwarna krem

(putih susu), ukurannya 0,1–0,3 cm, permukaan cembung dan halus, padat, pinggirannya rata dan tidak tembus cahaya. Morfologi koloni BAL dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 1. Koloni bakteri pada Media MRSA (a) feses rusa jantan 1 (b) feses rusa betina 1 (c) feses rusa betina 2 (d) feses rusa jantan 2 (e) feses rusa betina 3 (f) feses rusa betina 4.



Gambar 2. Koloni berbentuk bulat, berwarna putih susu, ukuran 0,2 cm.

Isolasi suatu bakteri merupakan sebuah teknik untuk mendapatkan koloni tunggal suatu bakteri. Isolasi BAL melalui proses pembusukan untuk mendapatkan bakteri asam laktat dan dengan menggunakan media selektif MRSA yang bertujuan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan mendapatkan koloni BAL yang diinginkan dan menghambat pertumbuhan bakteri lain atau bakteri yang tidak diinginkan (Ibrahim dkk., 2015). Kandungan Media MRSA menurut (Liofilchem, 2008) 1% *peptone*, 1% *beefextract*, 0,5% *yeast extract*, 2% glukosa, 0,5% sodium asetat, 0,2% Kalium fosfat, 0,2% ammonium sitrat, 0,02% magnesium sulfat, dan 0,005% mangan, yang menjadi sumber makanan bagi *Lactobacillus* dan BAL lainnya. Hasil pengamatan secara makroskopis terhadap BAL dapat dilihat pada tabel 1.

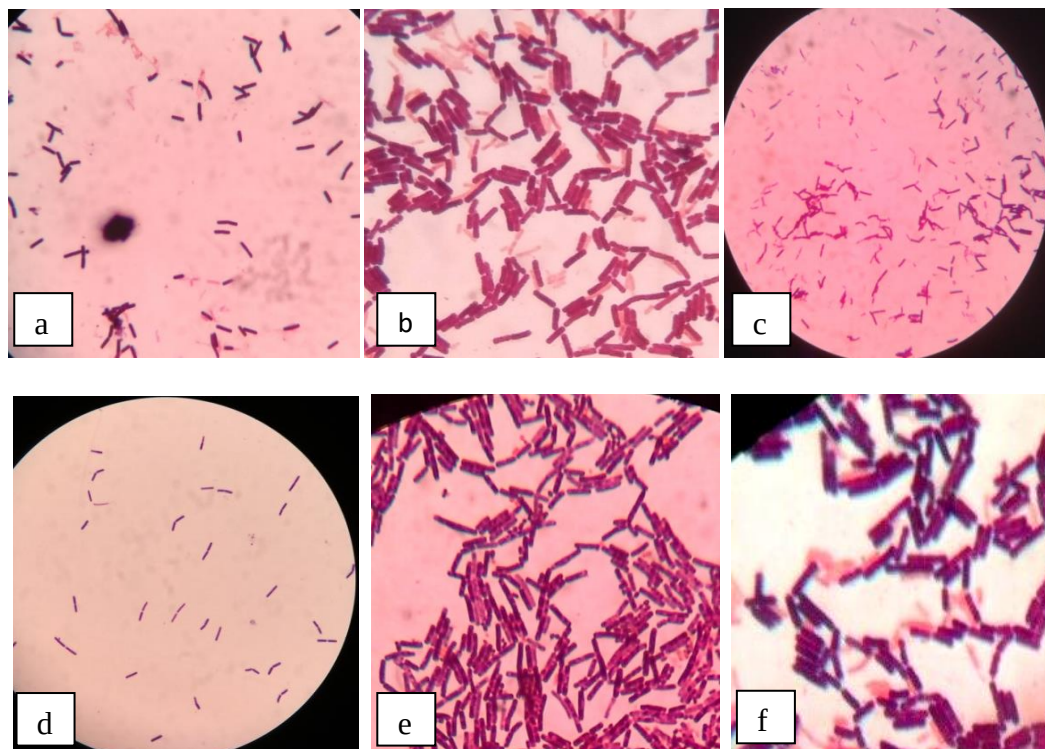
Tabel 1. Hasil pengamatan morfologi BAL yang tumbuh pada Media MRSA

Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Warna	Permukaan	Pinggiran	Ukuran
Rusa ♂ 1	Bulat	Putih Susu	Cembung	Rata	0,2 cm
Rusa ♀ 1	Bulat	Putih Susu	Cembung	Rata	0,2 cm

Rusa ♀ 2	Bulat	Putih Susu	Cembung	Rata	0,1 cm
Rusa ♂ 2	Bulat	Putih Susu	Cembung	Rata	0,1 cm
Rusa ♀ 3	Bulat	Putih Susu	Cembung	Rata	0,3 cm
Rusa ♀ 4	Bulat	Putih Susu	Cembung	Rata	0,2 cm

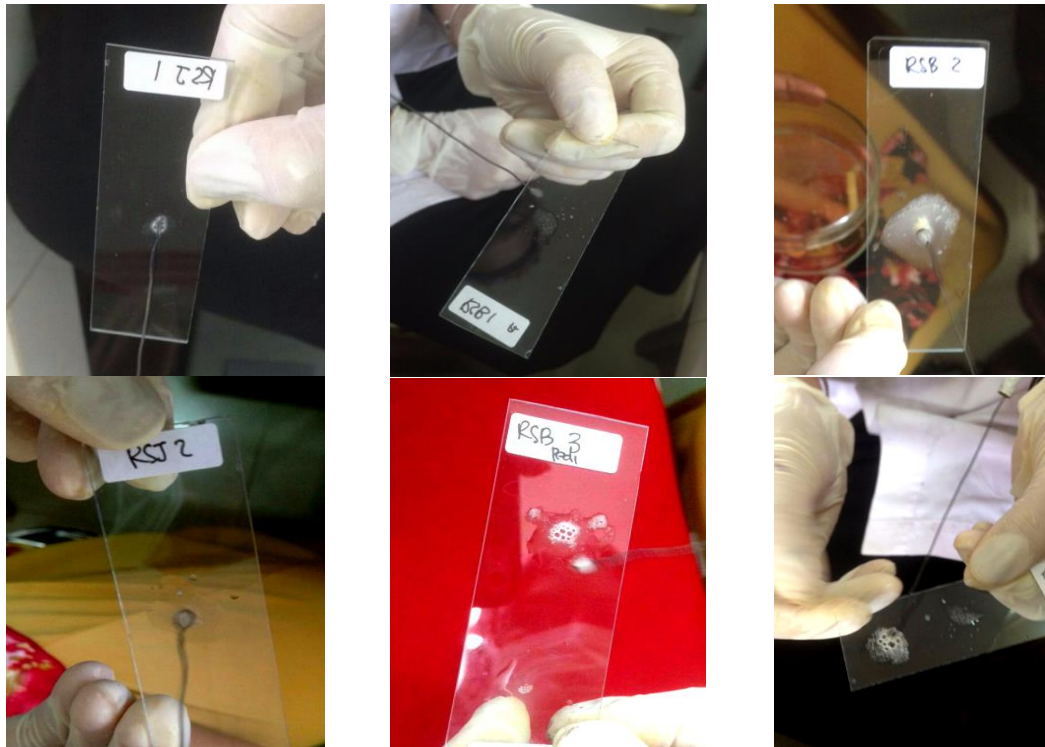
Maka diperoleh koloni yang berbentuk bulat, warna putih susu, permukaan cembung, pinggiran rata, serta dengan ukuran berkisar antara 0,1-0,3 cm.

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi pada koloni bakteri yang tumbuh secara terpisah pada media MRSA selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram bertujuan untuk melihat morfologi koloni secara mikroskopis dan untuk membedakan golongan bakteri Gram negatif dan golongan bakteri Gram positif. Menurut James dkk. (2008), dari pewarnaan Gram, dapat pula diketahui sifat dinding sel bakteri terhadap pewarna kristal violet dan safranin. Bakteri yang menyerap Kristal violet akan tetap berwarna ungu setelah pelunturan dengan alkohol disebut Bakteri Gram positif, sedangkan bakteri yang warna ungunya luntur pada pencucian dengan alkohol, akan menyerap zat warna Safranin sehingga akan berwarna merah muda disebut Bakteri Gram negatif. Struktur dinding sel juga akan menentukan respon pewarnaan. Bakteri Gram positif yang sebagian besar dinding selnya mengandung peptidoglikan akan menyerap warna violet (Campbell dkk., 2003). Hasil pengamatan secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Hasil pengamatan di bawah Mikroskop dengan pembesaran 1000x dapat dilihat bakteri berbentuk basil, dan berwarna ungu, karena bakteri tersebut termasuk kedalam kelompok bakteri Gram positif.

Menurut Lay (1994), uji katalase digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya katalase pada isolat bakteri. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Enzim katalase diduga penting untuk pertumbuhan aerobik karena H_2O_2 yang dibentuk dengan pertolongan berbagai enzim respirasi bersifat racun terhadap sel mikroba. Hasil uji katalase terhadap isolat BAL dapat dilihat pada gambar 4.

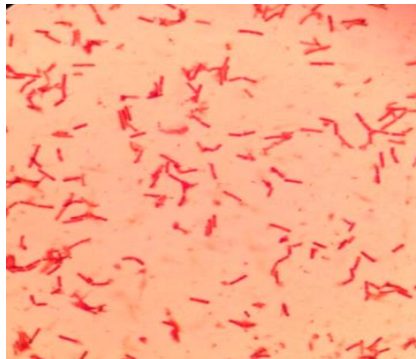


Gambar 4. Hasil uji katalasedari koloni berdasarkan (a) rusa jantan 1 (b) rusa betina 1 (c) rusa betina 2 (d) rusa jantan 2 tidak adanya gelembung (buih) menandakan hasil katalase negatif, sedangkan yang berasal dari (e) feses rusa betina 3 (f) fese rusa betina 4 hasil katalasenya positif.

Hasil uji katalase bahwa 2 isolat menghasilkan katalase positif, dan 4 isolat menghasilkan katalase negatif. Sesuai dengan pernyataan Djide dan Wahyuddin (2008), menjelaskan bahwa dari hasil uji biokimia berupa uji katalase terhadap BAL menunjukkan hasil yang negatif. Berbeda halnya dengan pendapat Whittenbury (1964), yang menyatakan bahwa beberapa spesies *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, dan *Pediococcus* juga dapat menghasilkan katalase positif tergantung pada jenis mikroorganisme dan media pertumbuhannya. Media MRSA mengandung hematin, oleh sebab itu bakteri mampu mensintesis apoenzim, serta adanya korelasi antara aktivitas pemisahan H_2O_2 .

Menurut Anastiwan (2014), mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H_2O_2 . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H_2O_2 dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H_2O_2 yang dihasilkannya sendiri. Bakteri katalase positif akan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 dimana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah buble (buih) berupa gelembung-gelembung oksigen. Bakteri katalase negatif tidak menghasilkan gelembung-gelembung tersebut. Hal ini berarti H_2O_2 yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri katalase negatif sehingga tidak menghasilkan oksigen. Bakteri katalase negatif tidak memiliki enzim katalase yang dapat mengurai H_2O_2 .

Setelah dilakukan uji katalase, selanjutnya dilakukan pewarnaan spora dengan metode *Schaeffer and Fulton* menggunakan zat warna *malacyte green* untuk menentukan ada atau tidaknya spora pada bakteri yang diisolasi. Hasil pewarnaan spora dapat dilihat pada gambar 5. Dari 6 sampel yang telah diuji tidak didapat adanya bakteri yang mempunyai spora.



Gambar 5. Hasil pengamatan pewarnaan spora dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari pewarnaan Gram, uji katalase dan pewarnaan spora, dapat dilihat berbentuk batang dan termasuk kelompok Gram positif, sebagian katalase negatif, dan tidak berspora. Hal ini sesuai dengan pendapat Nurmalinda dkk. (2013), BAL umumnya berbentuk batang bersifat Gram positif, dan non-spora umumnya tergolong kepada BAL. Schlegel dan Schimidt (1994), juga menyatakan bahwa BAL adalah bakteri-bakteri Gram positif, tidak pembentuk spora yang dapat tumbuh di lingkungan oksigen dan pada peragian karbohidrat (glukosa, laktosa) akan dapat membentuk asam laktat. Termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat ini adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Bifidobacterium*.

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* dapat diisolasi dari sampel feses rusa sambar di Taman Rusa Sibreh, Aceh Besar.

Saran

Perlu dilakukan uji lebih lanjut dengan menggunakan Kit API 50 CHL untuk mengidentifikasi spesies isolat *Lactobacillus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anastiawan. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Usus Itik Pedaging *Anas domestica*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
- Campbell, N.A., J.B. Reece., dan L.G. Mitchell. 2003. *Biologi*. Jilid 2. Edisi Kelima. Alih Bahasa: Wasmen. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- Darmono dan Hadirman. 2011. Penyakit Utama Yang Sering Ditemukan Pada Ruminansia Kecil (Kambing dan Domba). *Workshop Nasional Diversifikasi Pangan Daging Ruminansia Kecil*. Balai Besar Penelitian Veteriner.
- Djide, M.N dan E. Wahyuddin. 2008. Isolasi Bakteri Asam Laktat dan Air Susu Ibu dan Potensinya Menurunkan Kadar Kolesterol secara *In-vitro*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 12(3) : 73-78.
- Fauziah, P. N., J. Nurhajati, dan Chrysanti. 2014. Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* KS1 dalam Menghambat Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* Strain ATCC 700603, CT1538 dan S941. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran. *Majalah Kedokteran Bandung*. 47(1):35-41.

- Ibrahhim, A., A. Fridayanti, dan F. Delvia. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L). *Jurnal Ilmiah Manuntung* 1(2):159-163.
- James, J., C. Baker., dan H. Swain. 2008. *Prinsip-prinsip Sains untuk Keperawatan, Alih Bahasa Wardhani*. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- Khairiyah. 2011. Zoonosis dan Upaya Pencegahannya (Kasus Sumatera Utara). *Jurnal Litbang Pertanian* (30)3:117-124.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikrobiologi di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada: Jakarta.
- Lee, Y.K. dan S. Salminen. 2009. *Handbook of Probiotics and Prebiotics 2nd Ed*. New Jersey: John Wiley & Sons Publisher. Hal.177-540.
- Liofilchem. 2008. MRS Agar. *Diagnostic Liofilchem Technical sheet TS610024 Rev 1*: 1-2.
- Nurmalinda, A., Periadnadi dan Nurmiati. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Bakteri Indigenous Pemfermentasi dari Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2(1):8-13.
- Rahayu, E.S dan S. Margino. 1997. Bakteri Asam Laktat : Isolasi dan identifikasi. *Materi Workshop*. Diselenggarakan di PAU Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada: Yogyakarta. 13-14 Juni 1997.
- Reenen, G.V. 1982. Diseases of Deer In Yarex D. (Ed) : *The Farming of Deer : World Trend and Modern Techniques*. Wright and Carman Ltd Printer, Upper Hutt. 1982. Hal: 119-134.
- Rosiana A.D., N.S.N Erma., dan Isnaeni. 2008. Pengaruh Asam-Asam Organik Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Lactobacillus casei* (Bakteri Asam Laktat). *Majalah Farmasi Airlangga*. 6(2):53-56.
- Schlegel, H.G dan K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Semiadi, G. 1998. *Budidaya Rusa Tropika sebagai Hewan Ternak Masyarakat Zoologi Indonesia*: Bogor.
- Septriani, W.E., M.C Padaga, dan D.A. Oktaviane. 2012. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diisolasi dari Feses Orangutan (*Pongo pygmaeus*) terhadap Penghambatan Bakteri Enterik Patogen secara *In Vitro*. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter Hewan. Universitas Brawijaya.
- Sinurat, A.P., T. Purwadaria., M.H. Togatorop., dan T. Pasribu. 2003. Pemanfaatan Bioaktif Tanaman sebagai Feed Additive pada Ternak Unggas : Pengaruh Pemberian Gel Lidah Buaya atau Ekstraknya dalam Ransum terhadap Penampilan Ayam Pedaging. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner*. 3(8) :139-145.
- 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):1-8.
- Soeharsono. 2002. *Zoonosis Penyakit Menular dari Hewan ke Manusia*. Kanisius: Yogyakarta.
- Whittenbury, R. 1964. Hydrogen Peroxide Formation and Catalase Activity in the Lactic Acid Bacteria. *Jurnal General Microbial*. 35: 13- 26.
- Wiradikusumah, N. 2011. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen pada Air Minum Rusa Jawa (*Cervus timorensis*) di Hutan Pantai Bama Taman Nasional Baluran Jawa Timur. *Skripsi*. Universitas Padjajaran Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Jatinangor.