



Isolasi dan Skrining Bakteri Asam Laktat dari Daging Kerbau Aceh

Cut Yulvizar,^{1*}, Misrahanum², Elvira Iskandar³, Yulia Sari Ismail¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh 23111

²Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh 23111

³Jurusan Agribisnis, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh 23111

INFO ARTIKEL

* Penulis koresponden
email: cut-yulvizar@unsyiah.ac.id

Kata kunci: Bakteri Asam Laktat (BAL)
Isolasi
Karakterisasi

Keywords: Lactic Acid Bacteria(LAB)
Isolation
Characterization

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat (BAL) mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida dan senyawa metabolit lainnya sebagai produk utama dari metabolisme anaerobik dan bermanfaat pada produk makanan fermentasi. Produk metabolit berupa asam laktat dapat dikembangkan sebagai biopreservatif (pengawet alami) pada makanan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengkarakterisasikan isolat BAL lokal dari Aceh. Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat 2 BAL isolat lokal dari daging kerbau Aceh. Isolat I dan isolat III memiliki karakteristik morfologi sel, morfologi koloni dan uji fisiologis yang berbeda.

ABSTRACT

Lactic Acid Bacteria (LAB) are well known for their ability to produce lactic acid, hydrogen peroxide and other metabolites as the main end-product of their anaerobic metabolism and give beneficially for fermented food products. Lactic acid metabolite products can be developed as biopreservatives (natural preservatives) in food. The purpose of this study was to isolate and characterize local LAB isolates from Aceh. The results of this study indicated that there were 2 local isolates LAB from indigenous buffalo of Aceh. Isolate I and isolate III have different cell morphological characteristics, colony morphology and physiological tests.

1. PENDAHULUAN

Adanya isu pangan terutama kontroversi penggunaan Bahan Tambahan Pangan (BTP) telah meresahkan masyarakat. Penggunaan BTP tidak dilarang oleh pemerintah tetapi harus sesuai dengan regulasi yang aman bagi kesehatan manusia. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 722/MENKES/PER/IX/1988 tentang bahan tambahan makanan, yang dimaksud dengan pengawet adalah bahan tambahan makanan yang mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman atau penguraian lain terhadap pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Salah satu fungsi BTP adalah memperpanjang umur simpan suatu produk pangan atau BTP tersebut sering disebut dengan istilah pengawet. Pengembangan pengawet alami nonkimia menjadi alternatif untuk memperpanjang masa simpan tanpa mengubah sifat sensorinya. Salah satu bahan pengawet secara alami adalah dengan menggunakan senyawa yang

dihasilkan bakteri yang memiliki kemampuan untuk memperpanjang daya simpan makanan, dikenal dengan istilah biopreservatif. Biopreservatif yang dimaksudkan adalah supernatan bebas sel dari antimikroba yang berasal dari Bakteri Asam Laktat (BAL).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang memproduksi asam laktat, kelompok bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk batang atau bulat, katalase dan oksidase negatif serta bersifat aerotoleran anaerob (Adam dan Moss, 1997; Shah, 2007)). Bakteri asam laktat menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi, serta menghasilkan asam laktat sebagai produk tunggal atau produk utama dalam metabolismenya (Salminen *et al.*, 2004). Bakteri asam laktat (BAL) dapat ditemukan secara alami di susu (fermentasi), daging dan sayuran, saluran pencernaan dan urogenital manusia dan hewan, serta tanah dan air (Liu *et al.*, 2014). Bakteri asam laktat (BAL) mempunyai produk metabolit seperti substrat antimikroba diantaranya

bakteriosin, asam laktat, asam organik dan hidrogen peroksida. bakteriosin (Davidson *et al.*, 2005). Bakteri asam laktat telah berhasil diisolasi dari berbagai makanan tradisional berbasis umbi-umbian, buah, dan ikan seperti gatot, growol, tape singkong, pekasam, peda, wadi, dari susu kuda Sumbawa, dadih, dan terasi (Sujaya *et al.*, 2008). Umumnya BAL yang ditemukan adalah *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus* dan *Pediococcus acidilactici*.

Peranan utama BAL adalah sebagai kultur starter produk-produk yang melibatkan fermentasi untuk memperoleh produk akhir dengan tingkat konsistensi yang tinggi dan memiliki efek mengawetkan produk fermentasi yang diinginkan. Bakteri asam laktat homofermentatif digunakan dalam pengawetan makanan (biopreservatif) karena mampu memproduksi asam laktat dalam jumlah besar dan menghambat bakteri penyebab pembusukan dan pathogen (Fardiaz, 1992).

Penggunaan substrat antimikroba, yang diperoleh dari Bakteri Asam Laktat (BAL) perlu dikaji sebagai biopreservatif dan aman dikonsumsi. Eksplorasi mikroba lokal dari berbagai ekologi semakin banyak dikaji dan berkembang sangat pesat. Kajian karakteristik mikrobiologis dari kerbau Aceh belum pernah dilakukan secara ilmiah. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan isolat murni dan mengkarakterisasi isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) lokal dari daging kerbau Aceh yang akan dikembangkan sebagai biopreservatif pada makanan.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian utama pengembangan BAL sebagai biopreservatif pada makanan. Tahap awal penelitian ini dibagi menjadi dua tahap, yaitu isolasi dan karakterisasi isolat BAL secara morfologi dan fisiologis serta skrining BAL isolat lokal dari daging kerbau Aceh. Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah kerbau Aceh (memiliki kemampuan adaptasi dengan baik pada keterbatasan lingkungan). Bagian yang akan diambil dari kerbau Aceh adalah organ dalam (usus dan lambung). Media untuk isolasi dan identifikasi BAL, terdiri dari medium *Man Rogosa Sharpe Agar*, *Nutrien Broth* (NB), *Nutrien Agar* (NA), *Phosphat Buffer Saline* (PBS), NaCl 0.85%, HCl, paper disk serta bahan-bahan kimia untuk uji fisiologis dan biokimia bakteri asam laktat. Media yang digunakan untuk penyegaran kultur starter yaitu *de Man Rogosa Sharp Broth* (MRS-B) dan *yeast extract* 3%. Peralatan yang digunakan untuk membuat kultur kerja adalah tabung reaksi, cawan petri, ose, penyaring Milipore dan inkubator.

Isolasi Dan Pemurnian Isolat Bakteri Asam Laktat lokal Dari Daging Kerbau Aceh

Isolasi dilakukan dengan mensuspensikan 10 g daging kerbau Aceh ke dalam 90 ml larutan NaCl 0,85% steril secara aseptis. Pengenceran berseri dilakukan dari 10^{-2} sampai 10^{-7} . Pengenceran 10^{-6} dan 10^{-7} diambil 1 ml dan dilakukan penanaman secara duplo, kemudian ditambahkan MRS Agar cair dan diratakan lalu diinkubasi dengan posisi cawan terbalik selama 48 jam pada temperatur 37°C (Darmayasa, 2008). Koloni yang terpisah dengan bentuk dan ukuran yang berbeda, digoreskan pada MRS Agar yang telah beku dan diinkubasi kembali dengan posisi cawan terbalik selama 48

jam pada temperatur 37°C. Kultur bakteri asam laktat (BAL) ditanam dalam *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB). Kultur kerja yang disiapkan tersebut ditumbuhkan selama 20 jam pada suhu 37°C.

Skrining Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Lokal dari Kerbau Aceh

Isolat hasil skrining awal BAL, kemudian diidentifikasi dengan berpedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994). Pengamatan pada morfologi koloni meliputi bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni (Hadioetomo, 1993). Pengamatan morfologi sel yang meliputi uji pewarnaan Gram, bentuk sel dan uji motilitas, serta uji sifat fisiologis yaitu uji katalase, pertumbuhan pada suhu berbeda, Pertumbuhan pada konsentrasi garam yang berbeda.

a. Uji katalase

Dua loop H_2O_2 diletakan pada kaca objek yang bersih. Isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose, kemudian dipindahkan ke atas kaca objek dan dicampurkan. Uji positif ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung oksigen yang menunjukkan bahwa organisme yang bersangkutan menghasilkan enzim katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

b. Pertumbuhan pada suhu berbeda

Sebanyak 1 loop kultur isolat diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi MRSB, diinkubasi satu seri pada suhu 15°C dan satu seri lainnya pada suhu 45 °C selama selama 7-14 hari. Adanya pertumbuhan ditandai dengan kekeruhan pada tabung.

c. Pertumbuhan pada konsentrasi garam yang berbeda

Satu loop kultur isolate diinokulasi ke dalam tabung yang berisi MRSB yang ditambahkan NaCl 6,5 %. Kemudian tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 7-14 hari. Pengamatan pertumbuhan bakteri dapat dilihat penampakan kekeruhan.

d. Produksi CO₂ dari glukosa

Media Gibsons semi solid dicairkan dan diturunkan suhunya sampai 45 °C. Sebanyak 0,5 ml kultur isolat bakteri ditambahkan kemudian ditambahkan agar cair di atasnya dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2-5 hari. Bakteri asam laktat heterofermentatif akan membentuk gas yang ditandai dengan pecahnya agar sedangkan yang homofermentatif tidak terjadi.

e. Uji Reaksi Hemolisis

Isolat BAL yang dipilih akan diuji aktivitas hemolisisnya untuk mengetahui salah satu parameter patogenisitasnya yaitu kemampuan memproduksi hemolisin yang dapat melisis sel darah merah. Tahap uji reaksi hemolisis ini merujuk pada metode yang dilakukan oleh Bernal *et al.* (2015). Tahapan yang dilakukan meliputi isolat BAL digoreskan pada media *Sheep Blood Agar*, kemudian diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C. Setelah masa inkubasi, dilakukan pengamatan terhadap zona bening disekitar koloni. Zona bening yang terbentuk menunjukkan terjadinya lisis darah akibat adanya aktivitas hemolisin yang terbentuk dan dapat diduga isolat tersebut bersifat patogen.

3.HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Kerbau Aceh

Hasil isolasi BAL dari kerbau Aceh didapatkan dua isolat BAL yaitu isolat I dan isolat III. Kedua isolat tersebut dilakukan uji morfologi koloni, morfologi sel serta uji biokimia. Uji biokimia merupakan tahapan lanjutan yang diperlukan untuk mengidentifikasi suatu bakteri (Darmayasa *et al.*, 2008). Uji biokimia yang dilakukan antara lain adalah uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji TSIA, uji MR, uji VP, uji tipe fermentasi, uji simmon sitrat, uji ketahanan suhu dan uji ketahanan garam.

Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni, dan morfologi sel dan uji Biokimia

No	Karakteristik	Isolat	
		Isolat I	Isolat III
1	Morfologi Koloni		
	Bentuk	Bundar	Bundar
	Warna	Krem	Putih susu
	Tepian	Licin	Licin
	Elevasi	Cembung	Cembung
2	Morfologi Sel		
	Bentuk sel	Basil	Kokus
	kelompok Gram	Gram positif	Gram positif
3	Uji Biokimia		
	Uji katalase	-	-
	Uji motilitas	-	-
	Uji indol	-	-
	Uji ketahanan suhu		
	Suhu 14°C	+	+
	Suhu 37°C	+	+
	Uji ketahanan garam		
	NaCl 5%	+	+
	NaCl 6,5%	+	+
	NaCl 10%	+	+
	Uji tipe fermentasi	ho	ho
	Uji TSIA	y/y	y/r
	Uji MR	+	+
	Uji VP	-	-
	Uji simmon sitrat	-	-

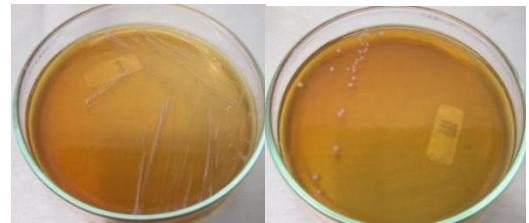
Keeterangan

- + : Hasil uji positif
 : But kuning/slant kuning
 - : Hasil uji negatif
 : but kuning/slant merah
 ho : Homofermentif

y/y

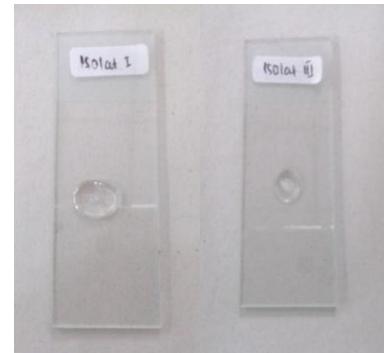
y/r

Berdasarkan Tabel 1 kedua isolat BAL yang diisolasi dari daging kerbau Aceh memiliki bentuk koloni bundar (100%), tepian licin (100%), elevasi cembung (100%), warna krem (50%) dan putih susu (50%). Morfologi kedua isolat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi koloni isolat bakteri

Hasil pewarnaan Gram kedua isolat BAL yang diamati dengan mikroskop pembesaran 10x menunjukkan warna ungu (Gram positif). Isolat I memiliki bentuk sel basil, sedangkan isolat III adalah kokus. Hasil uji katalase isolat I dan isolat III menunjukkan katalase yang negatif (Gambar 2). 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 dan O_2 . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel bakteri karena mampu menonaktifkan enzim dalam sel dan berbahaya bagi sel bakteri itu sendiri.



Gambar 2. Hasil uji katalase

Kedua BAL pada uji motilitas menunjukkan motilitas negatif, hal ini ditandai dengan pertumbuhan bakteri hanya di sekitar tusukan jarum ose. Hasil uji indol menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri negatif indol. Indol merupakan senyawa yang mengandung nitrogen yang terbentuk sebagai hasil pemecahan asam amino tryphosphat.

Isolat BAL I dan III pada uji ketahanan suhu kedua isolat menunjukkan pertumbuhan pada suhu 14°C maupun suhu 37°C. Uji ketahanan garam kedua isolat menunjukkan pertumbuhan pada semua konsentrasi NaCl yang diuji (NaCl 5%, 6.5% dan 10%).

Hasil uji tipe fermentasi menunjukkan bahwa kedua isolate BAL lokal bersifat homofermentatif. Hal ini ditandai dengan tidak timbulnya gelembung gas pada tabung durham. Menurut Suryani *et al.* (2010), terdapat dua tipe fermentasi pada bakteri asam laktat yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat sebagai produk utama fermentasinya.

Hasil uji TSIA menunjukkan adanya perubahan warna pada media. Isolat BAL I menunjukkan warna kuning pada seluruh media, sedangkan Isolat BAL III menunjukkan warna kuning pada bagian *butt* dan merah pada bagian *slant*. Warna kuning pada seluruh media menandakan bahwa terjadinya fermentasi ketiga gula yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Warna merah pada media menunjukkan reaksi basa

dan warna kuning menunjukkan reaksi asam. Menurut Fardiaz (1992), fermentasi glukosa, laktosa maupun sukrosa akan menghasilkan senyawa asam.

Hasil uji *methyl red* (MR) menunjukkan bahwa kedua isolat BAL dapat mengoksidasi glukosa yang berarti menunjukkan hasil positif. Menurut Sudarsono (2008) uji MR bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam dengan konsentrasi tinggi sebagai hasil akhir. Jika media MR-VP akan menjadi merah setelah ditambahkan *reagen methyl red* menunjukkan bahwa hasil uji positif, sedangkan jika media tetap berwarna kuning menunjukkan hasil uji negatif.

Hasil uji VP menunjukkan negatif pada kedua isolat. Hal ini ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna pada media setelah penambahan larutan KOH 3% dan alfanafтол. Hasil uji simmon sitrat menunjukkan hasil negatif pada kedua isolat. Hasil uji negatif ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna media menjadi biru. Menurut Hadioetomo (1993), media simmon sitrat merupakan salah satu medium yang digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon yang digunakan. Bila bakteri mampu tumbuh dengan menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon maka akan terlihat perubahan warna pada media tumbuh bakteri pada permukaan agar miring akan menjadi warna biru.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan hasil isolasi bakteri dari daging kerbau Aceh didapatkan dua isolat Bakteri Asam Laktat yaitu isolat I dan isolat III dengan karakteristik morfologi sel, morfologi koloni dan uji fisiologis yang berbeda-beda.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M.R., and Moss.1997. Food Microbiology. Cambridge The royal society of chemistry.
- Bernal, M.G, Campa-Cordova A.I, Saucedo, P.E,Gonzalez, M.C, Marrero, R.M, Suastegu,i M. 2015. Isolation and in vitro selection of actinomycetes strais as potential probiotics for aquaculture. Veter World. 8(2): 170-176.
- Darmayasa, I. B. G. 2008. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lipid (Lemak) pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah dan Estuari DAM Denpasar. Jurnal Bumi Lestari 8:122-127
- Davidson, P. M, Sofos, J.N, Branen, A.L. 2005. Antimicrobial in Food Third Edition. CRC .Press Taylor, Francis Group, United States Of America
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Hadioetomo, R. S. 1993. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Penerbit Gramedia, Jakarta.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., and William, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippicolt William and Wilkins, New York.
- Lay, B. W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Liu W., Pang H., Zhang H., Cai Y. 2014. Biodiversity of lactic acid bacteria. In: Zhang Y., Cai Y., editors. Lactic Acid Bacteria. Springer; Dordrecht, The Netherlands. Pp: 103–203
- Salminen, S, Wright A.V, Ouwehand, A. 2004. Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects. Marcel Dekker, INC., New York.
- Shah, N. P. 2007. Functional cultures and health benefits. Int. Dairy J Elsevier Inc, USA. 17:1262- 1277,.
- Sudarsono, A. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (*Lepidocibium flavobronneum*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sujaya, .I.N, Ramona, Y, Widarini, N.P, Suariani, .N.M.U, Dwipayanti, K..A, Nocianitri dan Nursini, N.W. 2008. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. J. Vet. 9 (2) : 52 -59.
- Suryani, Y., Astuti., Bernadeta, O., Siti, U. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Kotoran Ayam sebagai Agensia Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase. Biologi dan Pengembangan Profesi Pendidikan. ISBN: 978-602-97298-0
- Shah, N. P. 2007. Functional cultures and health benefits. Int. Dairy J Elsevier Inc, USA. 17:1262- 1277,.
- Sudarsono, A. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (*Lepidocibium flavobronneum*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sujaya, .I.N, Ramona, Y, Widarini, N.P, Suariani, .N.M.U, Dwipayanti, K..A, Nocianitri dan Nursini,
- Suryani, Y., Astuti., Bernadeta, O., Siti, U. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Kotoran Ayam sebagai Agensia Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase. Biologi dan Pengembangan Profesi Pendidikan. ISBN: 978-602-97298-0