

## ISOLASI DAN PENGAYAAN BAKTERI LACTOBACILLUS DARI RUMEN SAPI

Hamid Aqil<sup>1\*</sup>, Dian Risdianto<sup>1</sup> dan Indah Hartati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknik Kimia, Universitas Wahid Hasyim, Semarang.

Jl Menoreh Tengah X/ 22 Sampangan Semarang 50236

Telp (024) 8505680 fax (024) 8505681

\* aqil\_hamid61@yahoo.com

### Abstrak

Probiotik dikonsumsi dengan tujuan memberi banyak manfaat untuk kesehatan makhluk hidup. Bakteri probiotik memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia diantaranya dalam sistem imunitas, sistem intestinal, sistem urogenital, memperlancar sistem pencernaan, dan menurunkan efek alergi. Probiotik umumnya berasal dari golongan bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat yang digunakan untuk fermentasi keju adalah dari genus *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* dan *Streptococcus*. *Lactobacillus* telah banyak digunakan secara ekstensif untuk menghasilkan produk-produk fermentasi yang dibutuhkan untuk konsumsi hewan maupun manusia. Bakteri *lactobacillus* banyak ditemukan dalam sistem pencernaan hewan, salah satunya adalah dalam rumen sapi. Isolasi bakteri bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang terkandung dalam rumen sapi. Isolasi dilakukan menggunakan media *Glucose Yeast Peptone (GYP)*. Selanjutnya isolat bakteri disimpan pada media MRS (*De Man Rogosa Sharpe*) cair dan selanjutnya dikayakan menggunakan media MRS (*De Man Rogosa Sharpe*) broth. Pengayaan dilakukan untuk mengetahui waktu inkubasi serta pH optimum untuk perkembangbiakan bakteri. Selain itu dilakukan juga perbandingan antara Glukosa dan Molase sebagai nutrisi pada media pengayaan tersebut. Pengayaan dilakukan dengan proses duplo dan dilakukan pada variabel pH pengayaan dengan nilai 3, 4, 5 dan 6. Dilakukan juga pada waktu inkubasi 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Isolasi didapatkan dalam rumen sapi terdapat 12 jenis bakteri asam laktat dan 4 diantaranya adalah *Lactobacillus*. Pengayaan media yang diformulasi dengan glukosa didapatkan pada pH 6 dan waktu inkubasi 72 jam menghasilkan biakan yang paling tinggi yaitu  $4,1 \times 10^6$  col/ml. Sedangkan pada pengayaan media yang diformulasi dengan molase didapatkan pada pH 6 dan waktu inkubasi 72 jam menghasilkan biakan yang paling tinggi yaitu sebesar  $2,6 \times 10^5$ .

**Kata kunci:** bakteri asam laktat, *lactobacillus*, isolasi, pengayaan

### PENDAHULUAN

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang dapat memperbaiki keseimbangan mikrobial dan memiliki efek yang menguntungkan bagi manusia. Probiotik dikonsumsi dengan tujuan memberi banyak manfaat untuk kesehatan makhluk hidup. Bakteri yang bermanfaat sebagai probiotik diantaranya *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Lactococcus sp.*, dan *Streptococcus sp.* (Elis, 2008)

Bakteri probiotik memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia diantaranya dalam sistem imunitas, sistem intestinal, sistem urogenital, memperlancar sistem pencernaan, dan menurunkan efek alergi (Annisa, 2005). Pada sistem imunitas, probiotik bertanggung jawab dalam merangsang daya tahan tubuh baik selular maupun humoral sehingga dapat

melindungi tubuh dari berbagai infeksi. Efek biologis yang berhubungan dengan sistem imunitas adalah kemampuan bakteri probiotik melawan bakteri dan virus patogen dan mencegah tumor. Hal ini diduga karena probiotik dapat memperbaiki sistem metabolisme mikroflora sehingga dapat mengurangi jumlah bakteri patogen (Irianto, 2003).

Probiotik umumnya berasal dari golongan bakteri asam laktat (BAL). Khususnya genus *Lactobacillus* yang merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan manusia (Sujaya dkk., 2008). Di industri pangan, bakteri asam laktat digunakan dalam fermentasi susu menjadi yoghurt dan keju. Bakteri asam laktat yang digunakan untuk fermentasi keju adalah dari genus *Lactobacillus*,

*Lactococcus*, *Leuconostoc* dan *Streptococcus*. (Lilis, 2012)

*Lactobacillus* telah banyak digunakan secara ekstensif untuk menghasilkan produk-produk fermentasi yang dibutuhkan untuk konsumsi hewan maupun manusia. (Warsito, 1997).

Perkembangan teknologi modern telah memungkinkan sistem transfer gen dari *Lactobacillus* tersebut sehingga dapat dilakukan rekayasa genetik biologi dan plasmid *Lactobacillus* yang diharapkan dapat menghasilkan produk barang dan jasa yang bermanfaat untuk ternak, manusia atau tumbuhan. Bakteri *lactobasillus* banyak ditemukan dalam sistem pencernaan hewan, salah satunya adalah dalam rumen sapi. Rumen sapi umumnya hanya dibuang dan pemanfaatannya hanya digunakan sebagai kompos saja. Padahal potensi kuantitas limbah berupa cairan rumen sapi sangat tinggi. Beberapa jenis bakteri yang ada dalam rumen sapi adalah : (a) bakteri pencerna selulosa (*Bakteroidessuccinogenes*, *Ruminococcus flavafaciens*, *Ruminococcus albus*, *Butyriofibrio fibrisolvans*), (b) bakteri pencerna hemiselulosa (*Butyriofibrio fibrisolvans*, *Bakteroides ruminocola*, *Ruminococcus sp*), (c) bakteri pencerna pati (*Bakteroides ammylophilus*, *Streptococcus bovis*, *Succinimonas amylolytica*), (d) bakteri pencerna gula (*Triponema bryantii*, *Lactobasillus ruminus*), (e) bakteri pencerna protein (*Clostridium sporogenus*, *Bacillus licheniformis*) (Arora, 1989).

Menimbang bahwa rumen sapi mengandung berbagai jenis bakteri yang dapat dimanfaatkan lebih lanjut, maka dipandang perlu untuk dilakukan isolasi bakteri yang terdapat pada cairan rumen sapi. Selain isolasi, teknik lain untuk mendapatkan bakteri yang bermanfaat adalah dengan pengayaan. Pengayaan bakteri bertujuan untuk mendapatkan biakan bakteri agar bakteri yang diisolasi dapat berkembang biak dan dimanfaatkan sesuai kebutuhannya. Beberapa faktor yang mempengaruhi perkembangan biakan bakteri antara lain adalah nutrisi, suhu, tekanan osmotik, sinar ultraviolet dan pH. Selain itu faktor habitat atau media penyimpanan juga berpengaruh pada pengayaan bakteri untuk mendapatkan biakan yang optimum.

Berdasarkan bentuknya, media tumbuh dapat dibagi menjadi media cair dan media padat (agar) (Aini, 2010). Mikroba sama dengan makhluk hidup lainnya, memerlukan suplai nutrisi sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. peran utama nutrisi adalah sebagai sumber energi, bahan pembangun sel, dan sebagai asektor elektron dalam reaksi bioenergetik (reaksi yang menghasilkan energi).

Molase dan glukosa mengandung unsur karbon, hidrogen dan oksigen yang dapat digunakan sebagai nutrisi pada pengkayaan bakteri. Berdasarkan uraian diatas, maka dipandang perlu untuk dilakukan kajian mengenai isolasi bakteri dari cairan rumen sapi dan pengayaannya.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan- bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Rumen sapi, NaCl, quadest, glukosa, molase, media GYP (Glucose Yeast Peptone) dengan komposisi glukosa, pepton dan ekstrak khamir. Media MRS (de Man Rogosa Sharpe) cair, dibuat dengan komposisi: protein dari kasein, ekstrak daging, ekstrak khamir, glukosa, dipotassium hydrogen fosfat, Tween, diammonium hidrogen sitrat, sodium asetat, magnesium sulfat, mangan sulfat, agar-agar. Media *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) *broth*, dibuat dengan komposisi: Kasein/ daging pepton, Ekstrak daging, Ekstrak *yeast*, *di-Pot assium hydrogen phosphate*, Tween 80, *Diammonium hydrogen citrate*, Sodium asetat, Magnesium sulfat, Mangan sulfat.

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Inkubator, magnetic stirer, gelas ukur, autoklaf, saringan, cawan petri.

### Variabel percobaan

Variabel berupa pH (3-6), waktu inkubasi (24-72 jam) dan senyawa untuk pengayaan media yakni glukosa dan molase

### Langkah percobaan

#### Langkah percobaan isolasi

Rumen didapatkan dari rumah pemotongan hewan dan disiapkan pada tempat isolasi. Isolasi dilakukan dengan mengencerkan 1 g sampel dengan larutan saline (0,85% NaCl) secara duplo pada media GYP (*Glucose Yeast*

*Peptone*). Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 2-3 hari. Hasil uji isolat di Quality Control.

#### Langkah percobaan pengayaan

Mengencerkan media MRS *broth* pada akuades dengan megatur pH sebesar 3, 4, 5 dan 6. Aduk menggunakan stirrer dan dipanaskan sampai terlarut merata. Tanamkan mikroba dengan metode cawan tuang.

Inkubasi selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Cek hasil isolat di laboratorium QC.

### PEMBAHASAN

#### Hasil identifikasi bakteri

Hasil identifikasi bakteri asam laktat yang diisolasi dari cairan rumen sapi menunjukkan bahwa didalamnya terdapat 12 jenis bakteri asam laktat dan 4 diantaranya adalah *Lactobacillus*. Hasil identifikasi bakteri asam laktat dapat dilihat pada Tabel.1.

Tabel 1. Hasil identifikasi isolasi bakteri

No	Jenis Bakteri
1	<i>Leuconostoc citreum</i>
2	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
3	<i>Bifidobacterium indicum</i>
4	<i>Bifidobacterium lactis</i>
5	<i>Streptococcus bovis</i>
6	<i>Enterococcus cecorum</i>
7	<i>Enterococcus faecalis</i>
8	<i>Streptococcus pneumonia</i>
9	<i>Lactobacillus spicheri</i>
10	<i>Lactobacillus casei</i>
11	<i>Lactobacillus bulgarycus</i>
12	<i>Lactobacillus kefir</i>

#### Hasil pengayaan bakteri dengan formulasi glukosa

Tabel 2: Hasil pengkayaan *Lactobacillus* menggunakan media MRS *Broth* formulasi glukosa

Waktu Inkubasi (jam)	Jumlah Koloni (col/ml)			
	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6
24	$3,5 \times 10^2$	$4,8 \times 10^3$	$2,3 \times 10^2$	$3,4 \times 10^3$
48	$2,1 \times 10^3$	$4,3 \times 10^4$	$6,9 \times 10^4$	$2,8 \times 10^5$
72	$3,3 \times 10^2$	$7,1 \times 10^3$	$5,9 \times 10^4$	$4,1 \times 10^6$

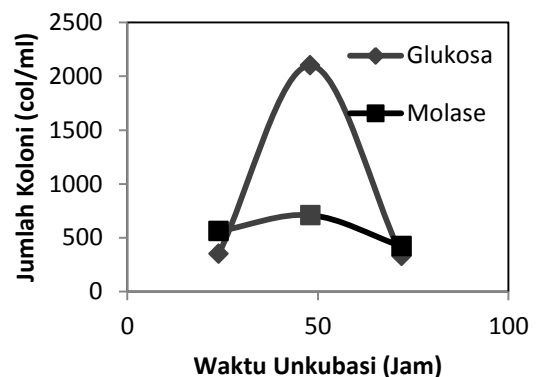
#### Hasil pengayaan bakteri dengan formulasi molase

Tabel 3: Hasil pengkayaan *Lactobacillus* menggunakan media MRS *Broth* dengan penambahan molase

Waktu Inkubasi (jam)	Jumlah Koloni (col/ml)			
	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6
24	$5,6 \times 10^2$	$3,4 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$8,1 \times 10^4$
48	$7,1 \times 10^2$	$4,1 \times 10^3$	$3,1 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$
72	$4,2 \times 10^2$	$7,7 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$	$2,6 \times 10^5$

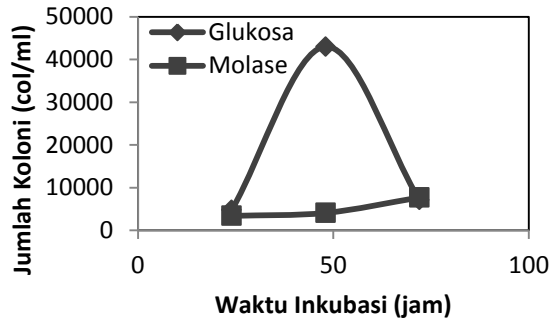
#### ➤ Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Perkembangbiakan Mikroba

Hasil penelitian menunjukkan pengkayaan bakteri *Lactobacillus* pada media MRS *Broth* menunjukkan pada pH 3 dan waktu inkubasi optimum adalah pada waktu 48 jam, untuk formulasi glukosa sebanyak  $2,1 \times 10^3$  col/ml dan  $7,1 \times 10^2$  col/ml untuk formulasi molase.



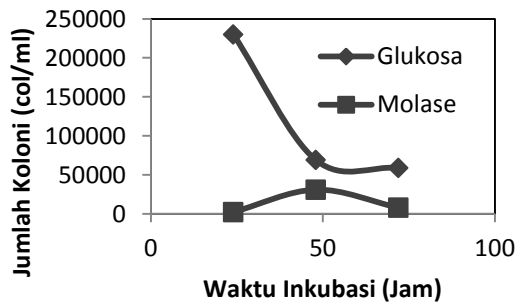
Gambar. 1: Perbandingan hasil pengkayaan bakteri *Lactobacillus* pada pH 3 dengan nutrisi Glukosa dan Molase

Hasil penelitian pada pH 4 didapatkan waktu inkubasi optimum untuk waktu inkubasi 48 jam untuk pengayaan menggunakan formulasi glukosa yaitu sebesar  $4,3 \times 10^4$  col/ml sedangkan untuk pengayaan bakteri dengan menggunakan formulasi molase didapatkan waktu inkubasi pada 72 jam yaitu sebesar  $7,7 \times 10^3$  col/ml.



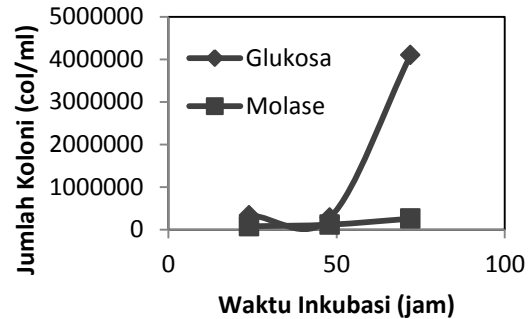
**Gambar. 2:** Perbandingan hasil pengkayaan bakteri *Lactobacillus* pada pH 4 dengan nutrisi Glukosa dan Molase

Hasil penelitian pada pH 5 menunjukkan waktu inkubasi optimum adalah 24 jam untuk pengayaan menggunakan formulasi glukosa yaitu sebesar  $2,3 \times 10^5$  col/ml, sementara pengkayaan dengan formulasi molase didapatkan waktu inkubasi pada 48 jam yaitu sebesar  $3,1 \times 10^4$  col/ml.



**Gambar.3:** Perbandingan hasil pengkayaan bakteri *Lactobacillus* pada pH 5 dengan nutrisi Glukosa dan Molase

Hasil penelitian untuk pH 6 didapatkan jumlah mikroba paling banyak adalah untuk waktu inkubasi selama 72 jam yaitu sebesar  $4,1 \times 10^6$  col/ml untuk pengayaan menggunakan formulasi glukosa sedangkan untuk pengayaan menggunakan formulasi molase didapatkan waktu inkubasi optimum pada waktu 72 jam yaitu sebesar  $2,6 \times 10^5$  col/ml.

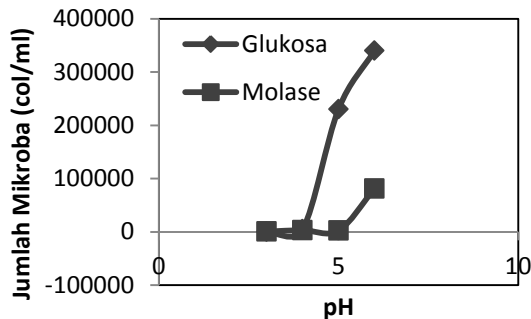


**Gambar 4:** Perbandingan hasil pengkayaan bakteri *Lactobacillus* pada pH 6 dengan nutrisi Glukosa dan Molase.

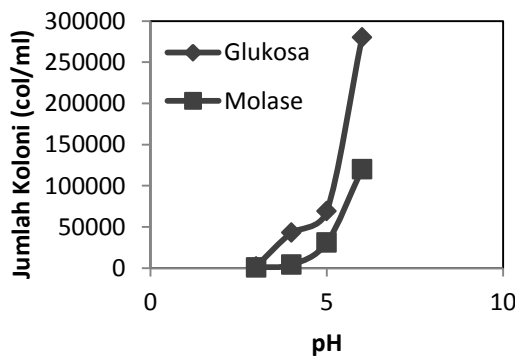
Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengayaan mikroba menggunakan formulasi glukosa akan mendapatkan biakan mikroba yang lebih besar bila dibandingkan dengan molase. Hal ini dikarenakan glukosa sebagai monosakarida yang akan langsung diserap sebagai energi untuk memperkembangkan mikroba, sedangkan molase merupakan sumber sukrosa yang masih harus terhidrolisis menjadi sukrosa dan fruktosa untuk selanjutnya diserap sebagai energi untuk memperkembangkan mikroba. Selain itu proses hidrolisis pada sukrosa berlangsung cukup lama (Nani, 2013).

#### ➤ Pengaruh pH Terhadap Hasil Pengayaan Mikroba

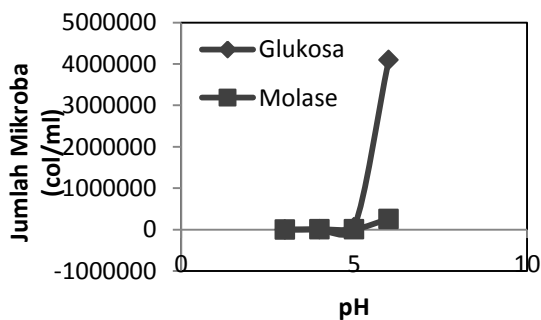
Hasil penelitian menunjukkan pengayaan mikroba pada pH asam antara 3 sampai 6, dari berbagai variabel waktu inkubasi selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam didapatkan waktu inkubasi optimum adalah pada pH 6 (Gambar 8, 9, 10), hal ini disebabkan karena bakteri *Lactobacillus* lebih toleran terhadap asam (Conway dkk, 1987). Bila dibandingkan dengan isolat yang diinokulasi pada pH 6 dengan inkubasi selama 24 sampai 72 jam, terlihat kenaikan nilai jumlah mikroba. Pada pH 6 menunjukkan pertumbuhan isolat-isolat *Lactobacillus* yang paling tinggi, karena pH 6 merupakan pH optimum untuk pertumbuhan bakteri *Lactobacillus*.



**Gambar. 5:** Perbandingan hasil pengayaan *lactobacillus* pada waktu inkubasi 24 jam



**Gambar. 6:** Perbandingan hasil pengayaan *lactobacillus* pada waktu inkubasi 48 jam.



**Gambar. 10:** Perbandingan hasil pengayaan *lactobacillus* pada waktu inkubasi 72 jam.

#### KESIMPULAN

Hasil isolasi bakteri dari rumen sapi didapatkan dua belas macam bakteri asam laktat dan empat diantaranya adalah *Lactobacillus*.

Hasil pengayaan, media dengan menggunakan formulasi glukosa dapat menghasilkan biakan bakteri yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan media yang diformulasi menggunakan molase.

Pengayaan bakteri *Lactobacillus* menghasilkan isolate paling tinggi pada pH 6.

#### DAFTAR PUSTAKA

Aini, 2010. *Pengaruh Lama Penyimpanan, Suhu dan Media terhadap Kemampuan Antibakteri yang Dihasilkan Lactobacillus dalam Menghambat pertumbuhan Beberapa Bakteri Patogen*. [Laporan Teknik]. Bogor: Proyek penelitian Pengembangan dan Pendayagunaan Biota Darat, Pusat Penelitian Biologi LIPI.

Annisa, Utami, N.A., 2005, Aktivitas Penghambatan Bubuk Ekstrak Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat, Fakultas Teknologi Pertanian, ITB, Bogor (Skripsi).

Arora, 1989. *Majalah Peternakan dan Kesehatan Hewan*. Jakarta

Conway, Napitupulu, N., T. Yulinery, dan R. Hardiningsih. 1987. *Pengaruh Lama Penyimpanan, Suhu dan Media terhadap Kemampuan Antibakteri yang Dihasilkan*

Elis, 2008. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *American J Clin Nutr.* 72:399- 405.

Irianto, 2003, Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Cincalok Hasil formulasi Skala Laboratorium, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Pontianak (Skripsi).

Lilis, 2012. Production and Characterization of Bacteriosin of *Lactobacillus plantarum* F12 with Inhibitory Activity Against *Listeria monocytogenes*, *TOJSAT*, 2 (1): 55-61.

Nani, 2013. Penambahan Bahan Organik Terlarut (Glukosa) pada media pemeliharaan untuk menanggulangi Serangan Parasit Pada Larva Kapiting

Bakau (*Scylla Serrata*). Usulan Penelitian. Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Makassar. 1-30 hal.

Sujaya, Robins-Browne, R.M. and M. Levine. 2008. The fase of ingested

Lactobacilliin the proximal small intestine. *American Journals of Clinical Nutrition* 34: 514-519

Warsito, 1997. Modern Food Microbiology. 5th ed. D. Van Nostrand Company. New York.