

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus Halus Itik Mojosari (*Anas platyrinchos*)

Isolasi bakteri asam laktat (BAL) pada usus halus itik Mojosari dilakukan dengan cara usus halus dipotong kemudian digesta dikeluarkan dengan cara ditekan menggunakan ibu jari sampai bersih. Selanjutnya usus halus direndam ke dalam media *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) broth dan diinkubasi selama 24 jam untuk pengayaan BAL. Selanjutnya dilakukan pengenceran mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-10} . Kemudian hasil pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-10} ditanam ke dalam media MRS agar dengan metode tuang (*pour plate*) dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah 48 jam dilakukan pengamatan morfologi koloni berdasarkan bentuk, tepian, elevasi, struktur dalam dan warna. Koloni tersebut kemudian dimurnikan dengan metode *quadrant streak* pada media MRS agar dan diinkubasi kembali selama 48 jam pada suhu ruang. Koloni murni yang diperoleh ditumbuhkan pada media MRS agar miring dan dipakai sebagai stok isolat untuk uji selanjutnya.

Tabel 4.1 Karakter Morfologi Koloni Bakteri dari Usus Halus Itik Mojosari

No	Kode Isolat	Morfologi Koloni			
		Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
1	UI1	bulat	Entire	convex	putih susu
2	UI2	bulat	Entire	convex	putih susu
3	UI3	bulat	Entire	convex	putih susu
4	UI4	bulat	Entire	flat	Krem
5	UI5	bulat	Entire	flat	Putih susu
6	UI6	bulat	Entire	convex	Krem
7	UI7	bulat	Entire	convex	Krem
8	UI8	bulat	Entire	convex	putih susu
9	UI9	bulat	Entire	convex	putih susu
10	UI10	bulat	Entire	convex	putih susu
11	UI11	bulat	Entire	convex	putih susu
12	UI12	bulat	Entire	flat	Krem
13	UI13	bulat	Entire	convex	putih susu

Hasil isolasi dari usus halus itik Mojosari diperoleh tiga belas jenis isolat yang mampu tumbuh pada media MRS agar dengan karakter morfologi koloni seperti ditunjukkan pada Tabel 4.1. Isolat yang didapat selanjutnya akan diuji lanjut untuk mencari isolat yang masuk dalam kategori BAL. Menurut Dwijoseputro (2005), pengamatan makroskopis morfologi koloni meliputi bentuk koloni (dilihat dari atas), permukaan koloni (dilihat dari samping), tepi koloni (dilihat dari atas) dan warna koloni bakteri.

Menurut buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1994), bakteri merupakan kelompok prokariotik karena belum memiliki organel-organel sel yang kompleks, sehingga terdapat perbedaan struktur dinding sel bakteri. Oleh sebab itu ada 4 kategori umum bakteri yaitu bakteri gram positif dan negatif yang mempunyai dinding sel, bakteri berdinding sel tidak sempurna dan *archaeobacteria*. Bakteri asam laktat (BAL) termasuk dalam kategori gram positif yang mempunyai dinding sel (Holt *et al.*, 1994).

4.2 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah besar. Ciri-ciri bakteri asam laktat secara umum adalah selnya bereaksi positif terhadap pewarnaan gram, bereaksi negatif terhadap katalase dan tidak membentuk spora. Dari fermentasi glukosa akan dihasilkan asam laktat (Widyastuti, 1999).

4.2.1 Pewarnaan Gram (*Gram Staining*)

Pewarnaan gram merupakan penentuan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri gram positif dan negatif. Lapisan peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel bakteri gram positif lebih tebal jika dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Menurut Brooks *et al.*, (2005), bakteri gram positif memiliki unsur khusus yaitu *teichoic* sebanyak 50% dari berat kering dinding sel. Unsur ini memiliki fungsi untuk menjaga transportasi ion, integritas dinding sel, penggantian *choline* oleh *ethanolamine* sehingga resisten terhadap autolisis dan menjaga permeabilitas eksternal. Kemampuan tersebut menjadi salah satu dasar dipilihnya bakteri gram positif sebagai probiotik karena secara morfologi dan biokimia lebih mampu bertahan hidup selama dalam saluran pencernaan.

Hasil isolasi yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan pada kultur bakteri umur 48 jam yang ditumbuhkan pada media MRS agar miring. Bakteri gram positif akan memberikan warna ungu ketika diberi cat gram. Hal tersebut disebabkan karena bakteri ini mempunyai kandungan lipid yang lebih rendah, sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah

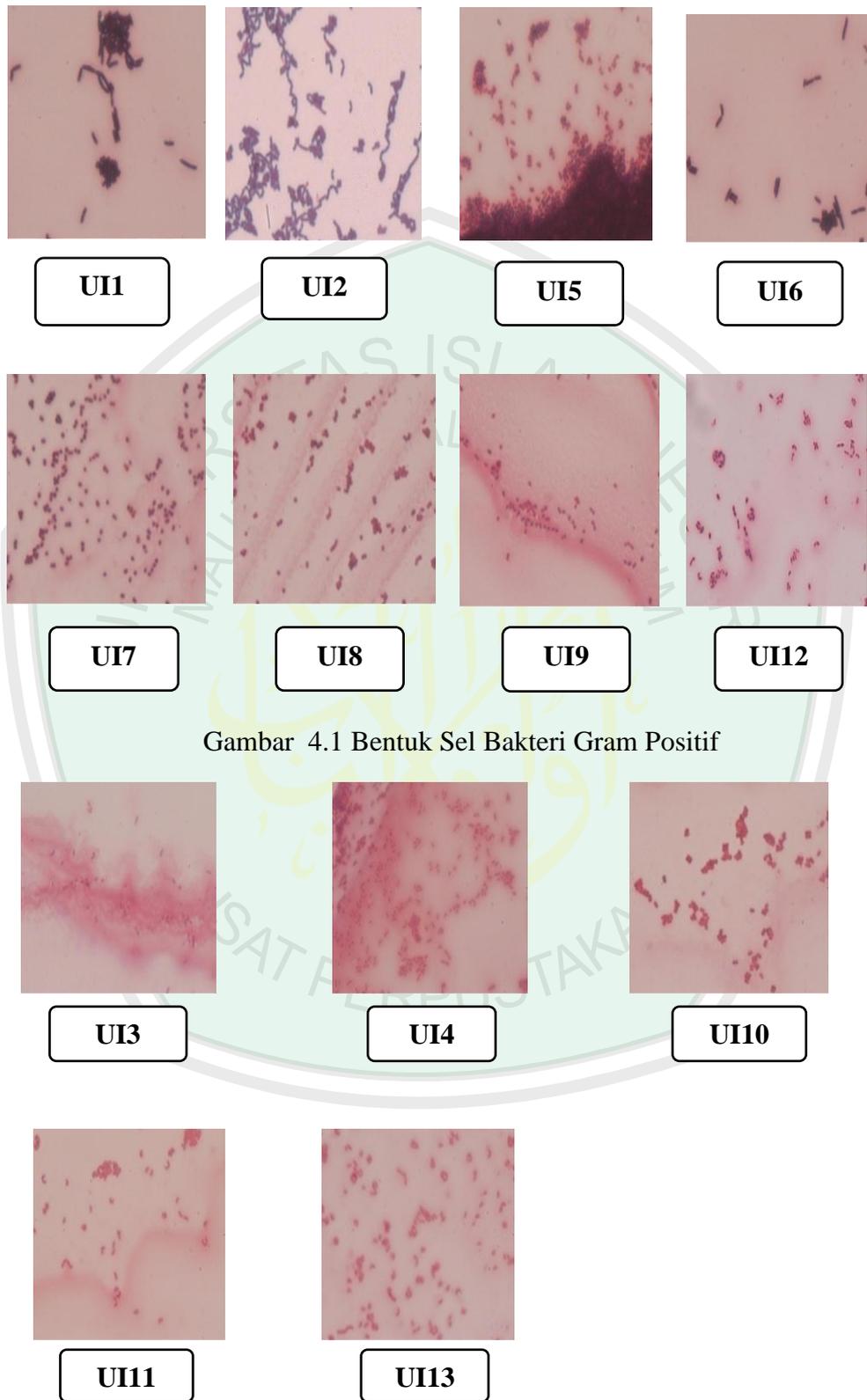
terdehidrasi akibat perlakuan dengan alkohol. Dinding sel yang terdehidrasi menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat warna ungu kristal yang merupakan zat warna utama tidak dapat keluar dari sel dan sel akan tetap berwarna ungu. Sedangkan gram negatif terlihat warna merah karena bakteri ini kehilangan warna pewarna Kristal violet pada waktu pembilasan dengan alkohol, namun mampu menyerap pewarna tandingan yaitu safranin. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif juga lebih tipis daripada dinding sel bakteri gram positif (Pelczar dan Chan, 1986).

Hasil pengecatan gram juga dapat digunakan untuk melihat bentuk dan susunan sel bakteri asam laktat. Pengamatan dilakukan pada perbesaran 1000x. Pewarnaan gram pada isolat BAL asal usus halus itik Mojosari diperlukan untuk melakukan konfirmasi BAL yang telah diperoleh. Sebagaimana diketahui bahwa BAL merupakan kelompok bakteri gram positif (Yousef dan Clastrom, 2003). Hasil uji pewarnaan gram selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri dari Usus Halus Itik Mojosari

No	Kode Isolat	Gram	Bentuk Sel
1	UI1	+	Batang
2	UI2	+	Batang
3	UI3	-	Batang
4	UI4	-	Batang
5	UI5	+	Bulat
6	UI6	+	Batang
7	UI7	+	Bulat
8	UI8	+	Bulat
9	UI9	+	Bulat
10	UI10	-	Bulat
11	UI11	-	Batang
12	UI12	+	Batang
13	UI13	-	Batang

Berdasarkan Tabel 4.2 menunjukkan bahwa telah diperoleh 13 isolat yang terbagi dalam dua kelompok bakteri, yaitu 8 isolat bakteri gram positif dan 5 isolat bakteri gram negatif dengan bentuk sel bulat dan batang. Delapan isolat yang termasuk ke dalam bakteri gram positif, yaitu isolat UI1, UI2, UI5, UI6, UI7, UI8, UI9 dan UI12, yang ditandai dengan warna ungu pada sel bakteri (Gambar 4.1), sedangkan sisanya (UI3, UI4, UI10, UI11 dan UI13) adalah gram negatif yang ditandai dengan warna merah pada sel bakteri (Gambar 4.2). Berdasarkan hasil uji pewarnaan gram, maka ditetapkan isolat bakteri yang termasuk dalam genus *Lactobacillus* ada 4 isolat, karena selnya berbentuk batang. Selanjutnya keempat isolat tersebut akan dilakukan uji lanjutan.



Gambar 4.1 Bentuk Sel Bakteri Gram Positif

Gambar 4.2 Bentuk Sel Bakteri Gram Negatif

Menurut buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, ciri-ciri dari genus *Lactobacillus* adalah berbentuk batang, Gram positif, *facultative anaerob*, dengan ciri koloni (ukuran 2-5 mm, *convex, entire*, keruh dan tanpa pigmen) (Holt *et al.*, 1994). Bakteri yang paling banyak digunakan sebagai probiotik adalah bakteri dari golongan *Lactobacillus* karena memiliki hampir semua karakter yang diperlukan suatu bakteri untuk digunakan sebagai probiotik. Lebih tahan terhadap asam daripada jenis-jenis streptococcus dan pseudococcus (Wahyudi dan Samsundari, 2008). Sehingga hanya isolat yang berbentuk batang saja yang akan diuji lebih lanjut.

4.2.2 Uji Katalase

Hasil dari uji pewarnaan gram selanjutnya dilakukan uji katalase. Uji katalase dilakukan hanya pada isolat yang masuk dalam bakteri gram positif yang berbentuk batang karena termasuk dalam kandidat genus *Lactobacillus*. Sehingga dari hasil pewarnaan gram ada empat isolat yang termasuk gram positif yang berbentuk batang, yaitu UI1, UI2, UI6 dan UI12. Uji katalase yang dilakukan pada isolat untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen. Enzim katalase merupakan enzim yang mampu mengkatalis langsung konversi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang toksik bagi sel menjadi air dan oksigen. Bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* merupakan kelompok bakteri yang tidak memiliki enzim katalase, tetapi memiliki enzim peroksidase untuk mengubah H_2O_2 yang bersifat toksik menjadi H_2O . Berikut persamaan reaksinya (BSC1424, 2000):



Berbeda dengan enzim katalase yang secara langsung mengkatalisasi H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , enzim peroksidase membutuhkan reduktan seperti NADH untuk mengkatalisasi H_2O_2 menjadi H_2O . Berikut merupakan persamaan reaksi kimia yang dihasilkan oleh katalisasi enzim peroksidase terhadap H_2O_2 (Brooks, dkk, 2005; Garbutt, 1997):



Uji katalase dilakukan dengan meneteskan 1-2 tetes H_2O_2 3% pada kultur BAL yang berumur 24 jam. Reaksi positif uji katalase ditunjukkan dengan membentuk gelembung-gelembung, yang berarti ada pembentukan gas Oksigen (O_2) sebagai hasil pemecahan H_2O_2 oleh enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri tersebut. Bakteri asam laktat termasuk bakteri katalase negatif (Stamer, 1979), sehingga hasil reaksi uji katalase tidak terbentuk gelembung udara yang berarti tidak terbentuk gas.

Hasil uji katalase pada keempat isolat gram positif yang berbentuk batang yang ditemukan pada usus halus itik Mojosari menunjukkan hasil negatif, yang ditunjukkan dengan tidak dihasilkannya gas oksigen setelah penetesan H_2O_2 pada isolat, sehingga semua isolat hasil isolasi tersebut memiliki karakter anaerob fakultatif.

Tabel 4.3 Hasil Uji Katalase Bakteri dari Usus Halus Itik Mojosari

No	Kode Isolat	Katalase
1	UI1	-
2	UI2	-
3	UI6	-
4	UI12	-

Menurut Sneath *et al.*, (1980), berdasarkan pada Bergey's *Manual of Systematic Bacteriology*, kelompok bakteri asam laktat berbentuk batang yang mempunyai katalase negatif dan hasil pengecatan Gram bersifat positif merupakan bakteri asam laktat genus *Lactobacillus*.

4.2.3 Pewarnaan Endospora

Langkah selanjutnya dilakukan pewarnaan endospora pada isolat hasil uji cat gram yang berbentuk basil dan katalase negatif. Pewarnaan endospora dilakukan untuk mengetahui adanya pembentukan endospora oleh bakteri. Endospora yang dihasilkan oleh bakteri mampu bertahan dari faktor lingkungan yang kurang menguntungkan seperti panas, asam dan garam untuk jangka waktu yang lama, hingga kondisi lingkungan kembali cocok bagi perkembangannya (Travis, 2007). Hasil pewarnaan endospora pada keempat isolat dari usus halus itik Mojosari menunjukkan hasil negatif (Tabel 4.4). Hal ini menunjukkan bahwa keempat isolat bakteri yang diisolasi dari usus halus itik Mojosari adalah bakteri asam laktat.

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri gram positif, tidak membentuk spora, katalase negatif, *facultative anaerob*, tahan asam, fermentatif, berbentuk batang dan bulat, habitatnya harus kaya nutrisi (*fastidious*) dengan

komposisi basa DNA yang kurang dari 50% mol G+C (Axelsson, 1998; Adam dan Moss, 1995). Oleh karena itu pewarnaan endospora dapat digunakan sebagai salah satu uji untuk seleksi BAL.

Tabel 4.4 Hasil Uji Endospora Bakteri dari Usus Halus Itik Mojosari

No	Kode Isolat	Endospora
1	UI1	-
2	UI2	-
3	UI6	-
4	UI12	-

Endospora merupakan bentuk dorman dari sel vegetatif, sehingga metabolismenya bersifat inaktif dan mampu bertahan dalam tekanan fisik dan kimia seperti panas, kering, dingin, radiasi dan bahan kimia. Tujuan dilakukannya pewarnaan endospora adalah membedakan endospora dengan sel vegetatif, sehingga pembedaannya tampak jelas. Endospora tetap dapat dilihat di bawah mikroskop meskipun tanpa pewarnaan dan tampak sebagai bulatan transparan dan sangat refraktil. Namun jika dengan pewarnaan sederhana, endospora sulit dibedakan dengan badan inklusi (kedua-duanya transparan, sel vegetatif berwarna), sehingga diperlukan teknik pewarnaan endospora (Itis, 2008).

4.2.4 Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Sampai Tingkat Spesies dari Usus Halus Itik Mojosari

Berdasarkan hasil uji cat gram yang kemudian dilanjutkan dengan uji katalase dan endospora, maka bisa dipastikan bahwa keempat isolat adalah bakteri asam laktat kelompok *Lactobacillus*. Selanjutnya akan dilakukan identifikasi sampai tingkat spesies dengan menggunakan *Kit Microbact 12B* terhadap keempat isolat BAL tersebut yaitu UI1, UI2, UI6 dan UI12. Identifikasi dengan menggunakan *microbact 12B* ini melibatkan beberapa fermentasi gula-gula diantaranya gelatin, malonate, inositol, sorbitol, rhamnosa, sukrosa, laktosa, arabinosa, adonitol, raffinosa, salicin dan arginin. Identifikasi sampai tingkat spesies juga melibatkan pengujian yang lain, diantaranya uji BGP, uji pertumbuhan pada suhu (25 °C, 35 °C, 37 °C, 40°C dan 45 °C), uji NaCl (3%, 4%, 6,5% dan 10%), uji pertumbuhan pada media (*Nutrient Broth*, MCA, TSI, Citrat, Indol, MR dan VP) dan uji karakteristik (Motilitas, Oksidase, Proteolitik, Amilolitik dan lipolitik). Evaluasi hasil identifikasi dilihat melalui sumur-sumur *Microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. Nama spesies bakteri dilihat dengan *Microbact software* berdasarkan angka *oktal* yang didapat.

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri asam laktat dengan uji biokimia yang dilakukan dengan menggunakan test *Microbact 12B*, maka isolat bakteri asam laktat UI1 dan UI2 cenderung masuk dalam spesies *Lactobacillus plantarum*, isolat bakteri asam laktat UI6 teridentifikasi sebagai spesies

Lactobacillus brevis dan isolat bakteri asam laktat UI12 teridentifikasi sebagai spesies *Lactobacillus buchneri*.

Umumnya bakteri menggunakan sumber karbon yaitu gula yang paling sederhana untuk difermentasi. Tidak tersedianya sumber gula sederhana membuat bakteri memanfaatkan sumber gula yang lebih kompleks untuk difermentasi (Yousef dan Clastrom, 2003). Hal tersebut dapat terlihat dari kemampuan keempat isolat yang mampu memfermentasi beberapa komponen gula kompleks. Komponen gula yang mampu difermentasi oleh keempat isolat tersebut adalah fruktosa, glukosa dan maltosa. Berdasarkan hasil dari uji fermentasi karbohidrat dengan menggunakan *Microbact 12B*, maka diperoleh isolat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus brevis* dan *Lactobacillus buchneri*.

4.2.4.1 Identifikasi Bakteri *Lactobacillus plantarum*

Hasil identifikasi isolat UI1 dan UI2 menunjukkan hasil positif pada uji BGP, Pada fermentasi gula-gula dihasilkan nilai positif (gelatin, laktosa, arabinosa salicin, fruktosa, glukosa, maltosa, mannitol dan xylosa), sedangkan pada malonate, inositol, sorbitol, rhamnosa, sukrosa, adonitol, raffinosa dan arginin bernilai negatif (Tabel 4.5). Hasil fermentasi yang bernilai positif ditandai dengan warna kuning pada sumur *microbact 12B*, kecuali pada fermentasi gelatin, malonate dan arginin. Adapun fermentasi gelatin bernilai positif ditandai dengan warna hitam, malonate dan arginin berwarna biru (Lampiran 5). Dengan demikian, isolat tersebut mampu memfermentasikan gula-gula. Adapun pada uji NaCl 3%, 4%, 6,5% dan 10% bernilai positif, artinya bahwa isolat tersebut

mampu tumbuh pada NaCl. Sedangkan pada media *Nutrient Broth* (NB), MCA, TSI, CITRAT, INDOL, MR dan VP, isolat tersebut tidak mampu tumbuh di dalam media tersebut (negatif). Untuk suhu pertumbuhan, isolat tersebut mampu tumbuh pada suhu 25 °C dan 35 °C, sedangkan pada suhu 40 °C dan 45 °C isolat tidak mampu tumbuh. Menurut Holt (2000), bahwa suhu optimum untuk pertumbuhan *Lactobacillus* adalah pada suhu 30 °C – 40 °C. Sedangkan untuk karakteristik isolat, didapatkan hasil dengan katalase negatif, motilitas positif, oksidase negatif, proteolitik positif, amilolitik positif dan lipolitik negatif. Setelah macam-macam uji tersebut dilakukan, maka teridentifikasi bahwa isolat tersebut adalah bakteri asam laktat spesies *Lactobacillus plantarum*.

Tabel 4.5 Hasil Identifikasi dengan *Microbact 12B* Isolat Bakteri Asam Laktat

Jenis Tes	Kode Isolat	
	UI1	UI2
BGP	+	+
Fermentasi Gula-gula		
Gelatin	+	+
Malonate	-	-
Inositol	+	+
Sorbitol	+	+
Rhamnose	-	-
Sucrose	+	+
Lactose	+	+
Arabinose	-	-
Adonitol	+	+
Raffinose	+	+
Salicin	+	+
Arginine	-	-
Fruktosa	+	+
Glukosa	+	+
Maltosa	+	+
Mannitol	+	+
Xylosa	+	+

Lanjutan Tabel 4.5

Suhu Pertumbuhan		
25 ⁰ C	+	+
35 ⁰ C	+	+
40 ⁰ C	-	-
45 ⁰ C	-	-
Uji NaCl		
3%	+	+
4%	+	+
6,5%	+	+
10%	+	+
Tumbuh di		
Nutrient Broth	-	-
MCA	-	-
TSI	A/A,H ₂ S,G-	A/A,H ₂ S,G-
CITRAT	-	-
INDOL	-	-
MR	-	-
VP	-	-
Uji Karakteristik		
Motilitas	+	+
Oksidase	-	-
Proteolitik	+	+
Amilolitik	+	+
Lipolitik	-	-
Spesies Teridentifikasi	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>

Uji fermentasi karbohidrat merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri di dalam memfermentasikan karbohidrat dengan adanya perubahan pH pada media karbohidrat. Hasil uji fermentasi karbohidrat isolat UI1 dan UI2 bernilai positif ditunjukkan dengan perubahan warna media, yaitu kuning (inositol, sorbitol, rhamnosa, sukrosa, laktosa, arabinosa, adonitol, raffinosa dan salicin) pada sumur *microbact 12B*, kecuali pada fermentasi gelatin, malonate dan arginin. Fermentasi gelatin bernilai positif ditandai dengan warna hitam, malonate dan arginin berwarna biru (Lampiran 5).

Perubahan warna yang dihasilkan dari fermentasi mampu menurunkan pH media menjadi lebih asam (berwarna kuning). Hasil uji fermentasi karbohidrat *Lactobacillus plantarum* dapat memfermentasi gula jenis gelatin, inositol, sorbitol, sukrosa, laktosa, adonitol, raffinosa dan salicin (Lampiran 5). Umumnya bakteri menggunakan sumber karbon yaitu gula yang paling sederhana untuk difermentasi. Tidak tersedianya sumber gula sederhana membuat bakteri memanfaatkan sumber gula yang lebih kompleks untuk difermentasi (Yousef dan Clastrom, 2003). Hal tersebut dapat terlihat dari kemampuan kedua isolat yang mampu memfermentasi beberapa komponen gula kompleks. Menurut hasil penelitian Maheswari dkk (2006), bahwa *L. plantarum* termasuk bakteri asam laktat dengan bentuk sel batang, warna koloni putih kekuningan, gram positif, katalase negatif, tidak motil dan kemampuan memfermentasi gula-gula seperti arabinosa, galaktosa, glukosa, laktosa, maltose, manitol, raffinosa, salisin, sorbitol dan sukrosa sebesar 99%, sedangkan kemampuan memfermentasi rhamnosa dan xilosa sebesar 50%

Berdasarkan uji karakteristik bakteri *Lactobacillus plantarum* negatif terhadap uji katalase, yaitu bakteri tersebut tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim katalase. Uji karakteristik biokimia bakteri *Lactobacillus plantarum* pada uji *Voges Proskauer* (VP) dan indol menunjukkan hasil negatif, yang berarti bahwa bakteri ini tidak dapat menghasilkan indol yang tampak sebagai cincin merah pada reaksi deaminasi serta asam piruvat yang dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi. Menurut Norman (2005), hasil positif pada uji *Voges Proskauer* (VP) menunjukkan bahwa bakteri mampu

mengkonversi glukosa menjadi asetonin dan untuk uji indol hasil positifnya menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu menghidrolisis triptofan dengan memanfaatkan enzim triftophanase.

Menurut Holt (2000), dibawah ini merupakan klasifikasi bakteri

Lactobacillus plantarum:

Kingdom: Bakteria

Divisi: Firmicutes

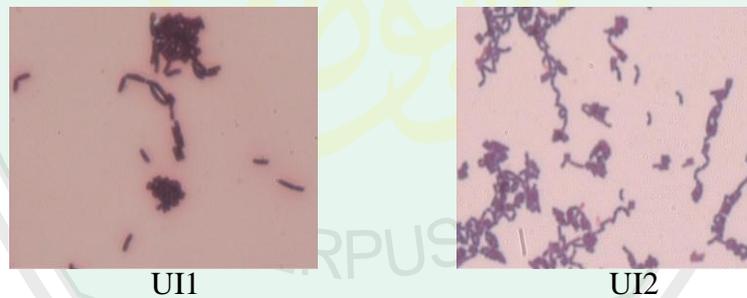
Kelas: Bacili

Ordo: Lactobacillales

Famili: Lactobacillaceae

Genus: Lactobacillus

Spesies: *Lactobacillus plantarum*



Gambar 4.3 Morfologi (batang) *L. plantarum*

Lactobacillus plantarum merupakan salah satu jenis BAL homofermentatif dengan temperatur optimal lebih rendah dari 37 °C. *L. plantarum* berbentuk batang (0,5-1,5 s/d 1,0-10 µm) dan tidak bergerak (non motil). Bakteri ini memiliki sifat katalase negatif, aerob atau anaerob fakultatif, mampu mencairkan gelatin, cepat mencerna protein, tidak mereduksi nitrat, toleran terhadap asam, dan mampu memproduksi asam laktat. Dalam media agar, *L.*

plantarum membentuk koloni berukuran 2-3 mm, berwarna putih opaque, conveks, dan dikenal sebagai bakteri pembentuk asam laktat (Kuswanto dan Sudarmadji, 1988).

L. plantarum merupakan bakteri gram positif berbentuk batang yang terdapat secara berpasangan atau rantai pendek. *Lactobacillus plantarum* adalah anggota dari genus *Lactobacillus*, banyak ditemukan dalam produk-produk makanan yang difermentasi serta materi tanaman anaerobik. Hal ini juga terdapat dalam air liur (dari yang pertama kali diisolasi). *L. plantarum* memiliki kemampuan untuk mencairkan gelatin. *L. plantarum* merupakan salah satu spesies terbesar diantara bakteri asam laktat dan sangat bermanfaat bagi kehidupan terutama dalam fermentasi makanan (Buckle, 1987). Menurut Wahyudi dan Samsundari (2008), *L. plantarum* adalah bakteri Gram-positif aerotoleran bakteri yang tumbuh pada 35 °C tetapi tidak pada 45 °C. Spesies ini masih satu famili dengan *lactobacilli* unik karena dapat bernafas dengan oksigen tapi tidak memiliki rangkaian reaksi respirasi atau sitokrom yaitu oksigen yang mengalami reaksi dimana hasil akhir dari reaksinya adalah hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida berperan sebagai senjata untuk membunuh bakteri patogen dari sumber makanan. *L. plantarum* dalam pseudo-katalase berfungsi untuk menurunkan kadar oksigen reaktif. *L. plantarum* seperti spesies *Lactobacillus* lainnya, bakteri ini dapat tumbuh di dalam media MRS.

4.2.4.2 Identifikasi Bakteri *Lactobacillus brevis*

Hasil identifikasi isolat UI6 menunjukkan hasil positif pada BGP, sedangkan pada uji spora negatif. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut termasuk BAL, karena tidak membentuk spora. Pada fermentasi gula-gula dihasilkan nilai positif pada jenis gelatin, laktosa, arabinosa dan salicin (Tabel 4.6). Pada uji fermentasi karbohidrat merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri di dalam memfermentasikan karbohidrat dengan adanya perubahan pH pada media karbohidrat. Hasil uji fermentasi karbohidrat ditunjukkan dengan perubahan warna media, yaitu pada gelatin berwarna hitam, sedangkan pada laktosa, arabinosa dan salicin berwarna kuning. Perubahan warna yang dihasilkan dari fermentasi mampu menurunkan pH media menjadi lebih asam (kuning) (Lampiran 5). Dengan demikian, isolat tersebut mampu memfermentasikan gula-gula. Tidak tersedianya sumber gula sederhana membuat bakteri memanfaatkan sumber gula yang lebih kompleks untuk difermentasi (Yousef dan Clastrom, 2003). Menurut hasil penelitian Maheswari dkk (2006), bahwa *L. brevis* termasuk bakteri asam laktat dengan bentuk sel batang, warna koloni putih kekuningan, gram positif, katalase negatif, tidak motil dan kemampuan memfermentasi gula-gula seperti arabinosa, galaktosa, glukosa, maltosa, raffinosa, dan sukrosa sebesar 99%, sedangkan kemampuan memfermentasi laktosa, salisin dan xilosa sebesar 50% serta tidak mampu memfermentasi manitol, rhamnosa, sorbitol. Adapun pada uji NaCl 3%, 4%, 6,5% dan 10% bernilai positif, artinya bahwa isolat tersebut mampu tumbuh pada NaCl. Sedangkan pada media *Nutrient Broth* (NB), MCA, TSI, CITRAT, INDOL, MR

dan VP, isolat tersebut tidak mampu tumbuh di dalam media tersebut (negatif). Untuk suhu pertumbuhan, isolat tersebut mampu tumbuh pada suhu 25⁰C dan 37⁰C, sedangkan pada suhu 40⁰C dan 45⁰C isolat tidak mampu tumbuh. Menurut Holt (2000), bahwa suhu optimum untuk pertumbuhan *Lactobacillus* adalah pada suhu 30⁰C – 40⁰C. Sedangkan untuk karakteristik isolat, didapatkan hasil dengan katalase negatif, motilitas positif, oksidase negatif, proteolitik positif, amilolitik positif dan lipolitik negatif. Setelah macam-macam uji tersebut dilakukan, maka teridentifikasi bahwa isolat bakteri asam laktat tersebut cenderung pada spesies *Lactobacillus brevis*.

Tabel 4.6 Hasil Identifikasi dengan *Microbact 12B* Isolat Bakteri Asam Laktat

Jenis Tes	Hasil
BGP	+
Fermentasi Gula-gula	
Gelatin	+
Malonate	-
Inositol	-
Sorbitol	-
Rhamnose	-
Sucrose	-
Lactose	+
Arabinose	+
Adonitol	-
Raffinose	-
Salicin	+
Arginine	-
Fruktosa	+
Glukosa	+
Maltosa	+
Mannitol	-
Xylosa	-
Suhu Pertumbuhan	
25 ⁰ C	+
37 ⁰ C	+
40 ⁰ C	-
45 ⁰ C	-

Lanjutan tabel 4.6

Uji NaCl	
3%	+
4%	+
6,5%	+
10%	+
Tumbuh di	
Nutrient Broth	-
MCA	-
TSI	Tidak
CITRAT	-
INDOL	-
MR	-
VP	-
Uji Karakteristik	
Motilitas	+
Oksidase	-
Proteolitik	+
Amilolitik	+
Lipolitik	-
Spesies Teridentifikasi	<i>Lactobacillus brevis</i>

Berdasarkan uji enzim, bakteri *Lactobacillus brevis* negatif terhadap uji katalase, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Lactobacillus brevis* tersebut tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim katalase. Uji karakteristik biokimia bakteri *Lactobacillus brevis* pada uji *Voges Proskauer* (VP) dan indol menunjukkan hasil negatif, yang menunjukkan bahwa bakteri ini tidak dapat menghasilkan indol yang tampak sebagai cincin merah pada reaksi deaminasi serta asam piruvat yang dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi. Menurut Norman (2005), hasil positif pada uji *Voges Proskauer* (VP) menunjukkan bahwa bakteri mampu mengkonversi glukosa menjadi asetonin dan untuk uji indol hasil positifnya menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu menghidrolisis triptofan dengan memanfaatkan enzim triptophanase. Hasil uji oksidase pada bakteri ini

menunjukkan hasil negatif sehingga mengindikasikan sel tidak dapat menghasilkan enzim oksidase. Menurut Norman (2005), pengujian oksidase di dalam identifikasi bakteri mempunyai tujuan untuk mengetahui kemampuan dari sel bakteri yang diuji dalam menghasilkan enzim oksidase dan mendeteksi sitokrom c. Dengan demikian, pada usus halus itik Mojosari terdapat bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus*. Menurut Holt (2000), *Lactobacillus* tersebar dalam lingkungan, khususnya dalam produk makanan dari hewan dan tumbuhan, secara normal tinggal dalam saluran pencernaan burung, mamalia dan vagina mamalia. Hasil penelitian Suardana *et al.*, (2007), menunjukkan bahwa pada cairan rumen sapi Bali terdapat *Lactobacillus brevis*. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Widiada (2006) menunjukkan bahwa di dalam susu kuda liar Sumbawa juga ditemukan *Lactobacillus brevis*.

Menurut Holt (2000) dibawah ini merupakan klasifikasi bakteri

Lactobacillus brevis:

Kingdom: Bakteria

Divisi: Firmicutes

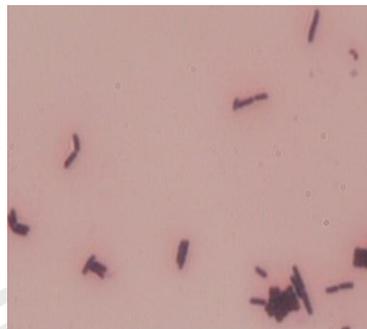
Kelas: Bacili

Ordo: Lactobacillales

Famili: Lactobacillaceae

Genus: *Lactobacillus*

Spesies: *Lactobacillus brevis*



UI6

Gambar 4.4 Morfologi (batang) *L. brevis*

4.2.4.3 Identifikasi bakteri *Lactobacillus buchneri*

Hasil identifikasi isolat UI12 menunjukkan hasil positif pada BGP, sedangkan pada uji spora negatif. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut termasuk BAL, karena tidak membentuk spora. Pada fermentasi gula-gula dihasilkan nilai positif pada jenis gelatin, laktosa, arabinosa, raffinosa dan salicin (Tabel 4.7). Pada uji fermentasi karbohidrat merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri di dalam memfermentasikan karbohidrat dengan adanya perubahan pH pada media karbohidrat. Hasil uji fermentasi karbohidrat ditunjukkan dengan perubahan warna media, yaitu pada gelatin berwarna hitam, sedangkan pada laktosa, arabinosa, raffinosa dan salicin berwarna kuning. Perubahan warna yang dihasilkan dari fermentasi mampu menurunkan pH media menjadi lebih asam (Lampiran 5). Dengan demikian, isolat tersebut mampu memfermentasikan gula-gula. Tidak tersedianya sumber gula sederhana membuat bakteri memanfaatkan sumber gula yang lebih kompleks untuk difermentasi (Yousef dan Clastrom, 2003). Adapun pada uji NaCl 3%, 4% bernilai negatif, sedangkan pada konsentrasi 6,5% dan 10% bernilai positif,

artinya bahwa isolat tersebut tidak mampu tumbuh pada NaCl dengan konsentrasi 3% dan 4%, sedangkan pada konsentrasi 6,5% dan 10% isolat BAL mampu tumbuh. Adapun pada media *Nutrient Broth* (NB), MCA, TSI, CITRAT, INDOL, MR dan VP, isolat tersebut tidak mampu tumbuh di dalam media tersebut (negatif). Untuk suhu pertumbuhan, isolat tersebut tidak mampu tumbuh pada suhu 25 °C dan 37 °C, sedangkan pada suhu 40 °C dan 45 °C isolat mampu tumbuh. Sedangkan untuk karakteristik isolat, didapatkan hasil dengan katalase negatif, motilitas positif, oksidase negatif, proteolitik positif, amilolitik positif dan lipolitik negatif. Setelah macam-macam uji tersebut dilakukan, maka teridentifikasi bahwa isolat bakteri asam laktat tersebut cenderung pada spesies *Lactobacillus buchneri*.

Tabel 4.7 Hasil Identifikasi dengan *Microbact 12B* Isolat Bakteri Asam Laktat

Jenis Tes	Hasil
BGP	+
Fermentasi Gula-gula	
Gelatin	+
Malonate	-
Inositol	-
Sorbitol	-
Rhamnose	-
Sucrose	-
Lactose	+
Arabinose	+
Adonitol	-
Raffinose	+
Salicin	+
Arginine	-
Fruktosa	+
Glukosa	+
Maltosa	+
Mannitol	-
Xylosa	-

Lanjutan tabel 4.7

Suhu Pertumbuhan	
25 °C	-
37 °C	-
40 °C	+
45 °C	+
Uji NaCl	
3%	-
4%	-
6,5%	+
10%	+
Tumbuh di	
Nutrient Broth	-
MCA	-
TSI	Tidak
CITRAT	-
INDOL	-
MR	-
VP	-
Uji Karakteristik	
Motilitas	+
Oksidase	-
Proteolitik	+
Amilolitik	+
Lipolitik	-
Spesies Teridentifikasi	<i>Lactobacillus buchneri</i>

Berdasarkan uji enzim bakteri *Lactobacillus buchneri* negatif terhadap uji katalase, yaitu bakteri *Lactobacillus buchneri* tersebut tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim katalase. Uji karakteristik biokimia bakteri *Lactobacillus buchneri* pada uji *Voges Proskauer* (VP) dan indol menunjukkan hasil negatif, yang menunjukkan bahwa bakteri ini tidak dapat menghasilkan indol yang tampak sebagai cincin merah pada reaksi deaminasi serta asam piruvat yang dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi. Menurut Norman (2005), hasil positif pada uji *Voges Proskauer* (VP) menunjukkan bahwa bakteri mampu mengkonversi glukosa menjadi asetonin dan untuk uji indol hasil positifnya

menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu menghidrolisis triptofan dengan memanfaatkan enzim triptophanase. Hasil uji oksidase pada bakteri ini menunjukkan hasil negatif sehingga mengindikasikan sel tidak dapat menghasilkan enzim oksidase. Menurut Norman (2005), pengujian oksidase di dalam identifikasi bakteri mempunyai tujuan untuk mengetahui kemampuan dari sel bakteri yang diuji dalam menghasilkan enzim oksidase dan mendeteksi sitokrom c.

Menurut Holt (2000) dibawah ini merupakan klasifikasi bakteri

Lactobacillus buchneri:

Kingdom: Bakteria

Divisi: Firmicutes

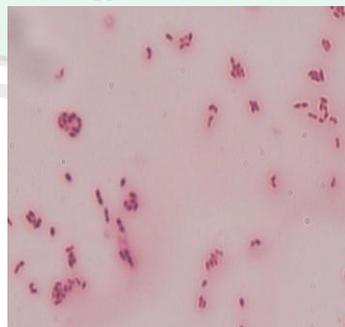
Kelas: Bacili

Ordo: Lactobacillales

Famili: Lactobacillaceae

Genus: Lactobacillus

Spesies: *Lactobacillus buchneri*



UI12

Gambar 4.5 Morfologi (batang) *L. buchneri*