

## KARAKTERISASI FENOTIFIK ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI SUSU KUDA LIAR BIMA

*Phenotypic Characterization of Lactic Acid Bacteria (LAB) Isolate  
From The Wild Horse Milk of Bima*

I Gde Narda Widiada<sup>1\*)</sup>

<sup>1\*)</sup>Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Mataram  
Email: nardawidiada@gmail.com

### ABSTRACT

*The wild horse milk is milk result of pressing out from lactation horse which its wildlife in free nature. The horse's milk is not spoiled during 30 days of storage at room temperature. In the wild horse milk of Bima have been identified six species Lactic Acid Bacteria (LAB)<sup>1</sup>.*

*The research aims to know phenotypic characteristics from Lactic Acid Bacteria isolates result of isolation from wild horse milk of Bima. Examination of characteristics is done by phenotypic characterization.*

*The research showed that species Lactic Acid Bacteria pertained to LAB species with homofermentative ferment patterns. The LAB species can grow goodness at temperature 37°C, media with NaCl 3,5% and 6,5%, and can grow at low pH (pH 4,5) and high pH (pH 9,6).*

Key Words: lactic acid bacteria, phenotypic characterization, wild horse milk.

### ABSTRAK

Susu kuda liar merupakan susu hasil pemerahan dari kuda laktasi yang hidupnya liar di alam bebas. Susu kuda tersebut tidak rusak selama penyimpanan 30 hari dalam suhu kamar. Dalam susu kuda liar Bima telah teridentifikasi enam spesies Bakteri Asam Laktat (BAL) <sup>1</sup>.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik fenotifik dari BAL hasil isolasi dari susu kuda liar Bima. Pengujian karakteristik dilakukan secara fenotifik meliputi pengujian penampilan mikroskopik (morfologi), pengujian katalase, fermentasi glukosa yang menghasilkan CO<sub>2</sub>, pertumbuhan BAL pada berbagai variasi suhu (10°C, 37 °C dan 45 °C), ketahanan panas dari BAL pada suhu 60°C selama 30 menit, pertumbuhan BAL pada media yang mengandung NaCl (3,0% dan 6,5%), pertumbuhan BAL pada media dengan pH 4,5; 6,5 dan 9,6.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa spesies Bakteri Asam Laktat hasil isolasi dari susu kuda liar Bima tergolong spesies BAL dengan pola fermentasi homofermentatif yaitu spesies BAL yang produk akhirnya sebagian besar berupa asam laktat. Spesies BAL tersebut dapat tumbuh baik pada suhu 37°C, pada media yang mengandung NaCl 3,5% dan 6,5% serta dapat tumbuh juga pada pH rendah (pH 4,5) maupun pada pH tinggi (pH 9,6).

**Kata kunci: bakteri asam laktat, karakteristik fenotifik, susu kuda liar.**

## PENDAHULUAN

Susu kuda liar yang berasal dari Propinsi Nusa Tenggara Barat khususnya dari Kabupaten Bima sudah lama dikenal dan diyakini dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit<sup>2</sup>. Susu kuda tersebut merupakan hasil pemerahan susu kuda liar pada masa laktasi. Kuda liar adalah kuda yang dipelihara dengan melepaskannya di alam bebas<sup>3</sup>, hidupnya liar di padang rumput, daerah perbukitan atau hutan yang ada di Kabupaten Bima, dan berkembangbiak secara alami. Susu yang dihasilkan oleh kuda tersebut dijual dengan nama susu kuda liar.

Susu kuda liar oleh peternak maupun pengumpul susu, disimpan tanpa pengolahan lebih lanjut dalam wadah jerigen atau botol. Selama penyimpanan 30 hari pada suhu kamar susu tersebut tidak mengalami kerusakan atau pembusukan<sup>2, 4, 5</sup>. Pada

umumnya susu segar, selain susu kuda liar akan mengalami kerusakan atau pembusukan dan tidak dapat dikonsumsi lagi apabila disimpan lebih dari 24 jam pada suhu kamar.

Susu kuda liar selama penyimpanan mengalami proses fermentasi alami yang menyebabkan susu ini tidak rusak<sup>2</sup>. Pada susu terfermentasi dapat dijumpai berbagai macam mikroba, salah satunya dari jenis Bakteri Asam Laktat (BAL)<sup>6</sup>.

BAL dalam susu kuda liar bima selama penyimpanan telah teridentifikasi 6 spesies BAL *indigenous* yaitu *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. salivarius*, *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, dan *Lc. lactis* subsp. *Lactis*<sup>1</sup>. BAL tersebut perlu dikaji lebih lanjut tentang potensinya dibidang kesehatan dan pangan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik dari BAL hasil isolasi dari susu kuda liar bima secara fenotifik.

## METODE

**Tempat dan Waktu Penelitian.** Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi BPPV Regional VI Denpasar pada bulan Mei 2006.

**Bahan Penelitian.** Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6 spesies BAL hasil isolasi dari susu kuda liar bima yaitu *Lactobacillus brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. salivarius*, *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, dan *Lc. Lactis* subsp. *lactis*<sup>1</sup>.

**Karakterisasi Bakteri Asam Laktat.** Pada penelitian ini dilakukan karakterisasi secara fenotifik yang meliputi pengujian penampilan mikroskopik (morfologi), pengujian katalase, fermentasi glukosa yang menghasilkan CO<sub>2</sub>, pertumbuhan BAL pada berbagai variasi suhu (10°C, 37 °C

dan 45 °C), ketahanan panas dari BAL pada suhu 60°C selama 30 menit, pertumbuhan BAL pada media yang mengandung NaCl (3,0% dan 6,5%), pertumbuhan BAL pada media dengan pH 4,5; 6,5 dan 9,6.

**Penampilan mikroskopik (morfologi).** Untuk melihat morfologi dari BAL tersebut dilakukan pengamatan dibawah mikroskop, dengan terlebih dahulu dilakukan pewarnaan Gram (metode Gram)<sup>7</sup>. Pewarnaan Gram dimaksudkan untuk membedakan bakteri gram positif dan gram negatif, yang disebabkan karena perbedaan dalam lapisan dinding selnya<sup>7,8</sup>. Apabila sel-sel bakteri tersebut berwarna ungu kebiruan disebut bakteri gram positif, dan bila berwarna ungu kemerahan atau merah muda disebut bakteri gram negatif.

**Pengujian katalase.** Pengujian ini dilakukan dengan meneteskan larutan  $H_2O_2$  3% diatas gelas objek, kemudian mengambil satu ose koloni BAL yang diuji dan memasukkannya dalam larutan  $H_2O_2$  3% yang ada diatas gelas objek tersebut. Apabila hasil pengujian negatif, ditandai dengan tidak adanya gelembung-gelembung oksigen pada koloni BAL tersebut<sup>7</sup>.

**Fermentasi glukosa yang menghasilkan  $CO_2$ .** Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui BAL tersebut bersifat homofermentatif atau heterofermentatif. Kedalam tabung reaksi yang berisi tabung durham, 10 ml media base (*Nutrien Broth* dengan indikator fenol red) dan ditambahkan 0,2 ml glukosa 0,1% diinokulasikan satu ose isolat BAL, kemudian diinkubasi aerob pada inkubator 37°C selama 24 jam. Apabila positif terbentuk  $CO_2$  maka pada tabung durham terlihat gelembung-gelembung udara, dan media berubah menjadi kuning<sup>7</sup>.

**Pertumbuhan BAL pada berbagai variasi suhu (10°C, 37 °C dan 45 °C).** Secara umum BAL tergolong bakteri mesofilik, dengan kisaran suhu pertumbuhan antara 10-45°C, dan suhu optimal pertumbuhannya antara 20-40°C<sup>9</sup>. Namun ada beberapa spesies BAL tergolong bakteri termofilik yang mempunyai suhu optimal pertumbuhannya antara 40-50°C<sup>10</sup>. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan variasi suhu 10°C, 37°C dan 45 °C. Prosedur ujinya sebagai berikut: satu ose isolat BAL diinokulasikan kedalam tabung reaksi yang berisi media cair GYP (pH 6,5), kemudian diinkubasi aerob dalam inkubator pada berbagai variasi suhu (10°C, 37 °C dan 45 °C) selama 24 jam. Kemudian isolat BAL tersebut dikultur kembali dalam media GYP agar dan diinkubasi anaerob dalam inkubator (10%  $CO_2$ ) pada suhu 37°C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat pertumbuhan koloni yang terjadi, apabila positif berarti ada pertumbuhan koloni BAL pada suhu yang diujikan<sup>7</sup>.

**Ketahanan panas dari BAL pada suhu 60°C selama 30 menit.** Isolat BAL yang telah ditumbuhkan pada media cair GYP (pH 6,5), kemudian dilihat ketahanannya terhadap panas pada suhu 60°C aerob selama 30 menit dalam water bath. Setelah itu diambil satu ose koloni BAL tersebut, dikultur kembali pada media GYP Agar dan diinkubasi anaerob dalam inkubator (10%  $CO_2$ ) pada suhu 37°C selama 48 jam. Apabila positif tumbuh, maka BAL tersebut mempunyai daya tahan panas pada suhu 60°C selama 30 menit<sup>7</sup>.

**Pertumbuhan BAL pada media dengan pH 4,5; 6,5 dan 9,6.** Sebelum isolat BAL ditumbuhkan, terlebih dahulu dibuat media cair GYP dengan pH 4,5; 6,5 dan 9,6. pH media diatur nilainya dengan menambahkan larutan HCl untuk membuat suasana asam, atau menambahkan NaOH untuk membuat suasana basa. Selanjutnya pada media dengan pH yang berbeda tersebut dikultur satu ose isolat BAL yang diuji, kemudian diinkubasi aerob dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan menumbuhkan kembali isolat BAL tersebut dalam media GYP Agar yang diinkubasi anaerob dalam inkubator (10%  $CO_2$ ) pada suhu 37°C selama 48 jam, apabila positif berarti ada pertumbuhan koloni BAL pada media yang diujikan<sup>7</sup>.

**Pertumbuhan BAL pada media yang mengandung NaCl (3,0% dan 6,5%).** Sebelum isolat BAL ditumbuhkan, terlebih dahulu dibuat media cair GYP (pH 6,5) yang ditambahkan larutan NaCl sebanyak 3,0% dan 6,5%. Pada media tersebut dikultur satu ose isolat BAL yang diuji, kemudian diinkubasi aerob dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan menumbuhkan kembali isolat BAL tersebut dalam media GYP Agar yang diinkubasi anaerob dalam inkubator (10%  $CO_2$ ) pada suhu 37°C selama 48 jam, apabila positif berarti ada pertumbuhan koloni BAL pada media yang diujikan<sup>7</sup>.

## HASIL

### Karakteristik Fenotifik Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi dari Susu Kuda Liar Bima

Pada penelitian ini telah dilakukan karakterisasi BAL secara fenotifik seperti ditunjukkan pada Tabel 1. Berdasarkan data pada Tabel 1., keenam spesies BAL tersebut tergolong spesies BAL dengan

pola fermentasi homofermentatif yaitu spesies BAL yang produk akhirnya sebagian besar berupa asam laktat<sup>11</sup>. Spesies BAL tersebut dapat tumbuh baik pada suhu 37°C, pada media yang mengandung NaCl 3,5% dan 6,5% serta dapat tumbuh juga pada pH rendah (pH 4,5) maupun pada pH tinggi (pH 9,6), kecuali *Lc. lactis* subsp. *lactis* tidak tumbuh pada pH 9,6.

**Tabel 1. Karakteristik Fenotifik 6 Spesies BAL yang Diisolasi dari Susu Kuda Liar Bima**

Karakteristik fenotifik	Spesies BAL					
	a	b	c	d	e	f
Katalase	-	-	-	-	-	-
PenulGram	+	+	+	+	+	+
Bentuk sel	B	B	B	B	B	K
Fermentasi glukosa						
Produksi gas	-	-	-	-	-	-
Produksi asam	+	+	+	+	+	+
Pola Fermentasi	Hm	Hm	Hm	Hm	Hm	Hm
Pertumbuhan pada suhu						
10°C	1	1	1	1	0	0
37°C	1	1	1	1	1	1
45°C	1	1	1	0	1	0
Daya tahan panas pada suhu 60°C 30 menit	0	0	1	0	0	0
Pertumbuhan pada pH						
4,5	1	1	1	1	1	1
6,5	1	1	1	1	1	1
9,6	1	1	1	1	1	0
Pertumbuhan pada media yang mengandung NaCl						
3,0%	1	1	1	1	1	1
6,5%	1	1	1	1	1	1

Keterangan: B = batang, K = kokus, Hm = Homofermentatif  
1 = tumbuh, 0 = tidak tumbuh  
Spesies a = *Lb. brevis* Spesies b= *Lb. plantarum*  
Spesies c= *Lb. acidophilus* Spesies d= *Lb. salivarius*  
Spesies e= *Lb. delb.subsp. delbrueckii* Spesies f= *Lc. lactis* subsp. *lactis*

## PEMBAHASAN

### Karakteristik Fenotifik Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi dari Susu Kuda Liar Bima

Bakteri Asam Laktat merupakan istilah umum untuk menyebut bakteri yang memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam laktat sebagai produk utamanya<sup>8</sup>. Bakteri asam laktat

dapat diisolasi dari berbagai macam pangan salah satunya susu kuda liar Bima. Hasil identifikasi menggunakan API 50CH teridentifikasi enam spesies BAL, yaitu *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. salivarius*, *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* dan *Lc.lactis* subsp. *Lactis*<sup>1</sup>. Berdasarkan pola fermentasi terhadap glukosa, keenam spesies BAL

tersebut termasuk homofermentatif, tidak memproduksi gas dan positif menghasilkan asam. Asam diproduksi sebagai hasil dari metabolisme laktosa oleh BAL.

Keenam spesies BAL tersebut dapat tumbuh pada suhu 37°C dan termasuk dalam kelompok bakteri mesofilik<sup>9</sup>. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* juga dapat tumbuh pada suhu 45°C tetapi tidak dapat tumbuh pada suhu 10°C, hal ini sesuai dengan pendapat Ray (2004) yang menyatakan bahwa *Lb. delbrueckii* dapat tumbuh baik pada suhu 45°C<sup>11</sup>. *Lactobacillus salivarius* dapat tumbuh pada suhu 10°C tetapi tidak pada suhu 45°C. Kedua spesies BAL tersebut mempunyai karakteristik suhu pertumbuhan yang berbeda. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* mempunyai karakteristik tidak dapat tumbuh pada suhu 10°C dan suhu 45°C, hal ini mendukung pendapat Axelsson (1998) bahwa *Lactococcus* umumnya tumbuh optimum pada suhu 20-30°C dan tidak dapat tumbuh pada suhu 45°C<sup>12</sup>. *Lactobacillus brevis* dan *Lb. plantarum* dapat tumbuh pada suhu pertumbuhan yang diteliti. *Lactobacillus acidophilus* satu-satunya spesies BAL yang mempunyai karakteristik suhu pertumbuhan yang lebih luas yaitu dapat tumbuh pada suhu 10-45°C dan mempunyai daya tahan terhadap panas pada suhu 60°C selama 30 menit.

Berdasarkan karakteristik kemampuan tumbuh pada media dengan pH yang bervariasi yaitu pH 4,5 (asam), pH 6,5 (netral) dan pH 9,6 (basa), *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. salivarius*, dan *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* masih mampu tumbuh pada pH tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa spesies BAL tersebut mampu tumbuh dalam rentang pH yang luas yaitu mulai dari pH asam sampai dengan pH basa.

Genus *Lactobacillus* masih mampu tumbuh hingga pH 3,5<sup>10</sup>. Penelitian ini menunjukkan *Lb. brevis* dan *Lb. acidophilus* yang ada dalam susu kuda selama penyimpanan masih mampu bertahan hidup pada pH 3,62<sup>1</sup>. Selain itu kedua spesies tersebut masih dapat hidup pada media yang mengandung garam 3,0% dan 6,5%, juga pada suhu pertumbuhan antara 10°C sampai 45°C. Melihat karakteristik dari dua spesies BAL tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pemanfaatan spesies BAL tersebut sebagai kandidat probiotik ataupun sebagai kultur starter untuk susu dan produk susu terfermentasi. *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* mampu tumbuh pada pH 4,5 dan pH 6,5 tetapi tidak pada pH 9,6. Genus *Lactococcus* masih mampu tumbuh pada pH 4,5 tetapi tidak tumbuh pada pH 9,6<sup>10</sup>. Hal ini menunjukkan bahwa *Lc. lactis* subsp. *Lactis* mempunyai karakteristik pertumbuhan pada pH asam rendah (diatas pH 4,5) sampai dengan pH netral.

Pertumbuhan spesies BAL homofermentatif pada media yang mengandung NaCl 3,0% dan 6,5% menunjukkan *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. salivarius*, *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* dan *Lc. lactis* subsp. *Lactis* masih dapat tumbuh dengan baik. Hal ini sesuai untuk BAL yang pola fermentasinya homofermentatif mempunyai sifat toleransi yang baik terhadap konsentrasi NaCl yang tinggi (diatas 2,25%) dan pertumbuhannya pada konsentrasi garam yang tinggi tersebut masih tetap baik. Berdasarkan kemampuan tumbuh pada media dengan konsentrasi NaCl yang tinggi, spesies BAL tersebut perlu dikaji lebih lanjut tentang pemanfaatannya untuk kultur starter pada fermentasi produk pangan dengan konsentrasi garam tinggi seperti pada pengawetan ikan.

## SIMPULAN

Spesies Bakteri Asam Laktat hasil isolasi dari susu kuda liar bima tergolong spesies BAL dengan pola fermentasi homofermentatif yaitu spesies BAL yang produk akhirnya sebagian besar berupa asam laktat. Spesies BAL tersebut dapat tumbuh baik pada suhu 37°C, pada media yang mengandung NaCl 3,5% dan 6,5% serta dapat tumbuh juga pada pH rendah (pH 4,5) maupun pada pH tinggi (pH 9,6).

## DAFTAR RUJUKAN

1. Widiada, I.G.N.. Identifikasi dan Sukses Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat dalam Susu Kuda Liar Bima Selama Penyimpanan. Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PIT-PERMI 2006) Tingkat Nasional, 26-27 Agustus 2006, Hotel Quality, Solo Jawa Tengah.
2. Hermawati, D. Kajian Aktivitas dan Karakterisasi Senyawa Antimikroba dari Susu Kuda Sumbawa. Disertasi. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana-IPB; 2005.
3. Dharmojono. Trend Susu Kuda Liar. *Infovet* 58:29-30; 1998.
4. Riyadh, S. Menyingkap Tabir Susu Kuda "Liar" Sumbawa. 2003. Diambil dari: URL: [http://rudycr.topcities.com/ppp702\\_71034/slamet\\_riyadh.htm](http://rudycr.topcities.com/ppp702_71034/slamet_riyadh.htm) di akses Januari, 15, 2006.
5. Hermawati, D., Sudarwanto, M., Soekarto, S.T., Zakaria, F.R., Sudrajat, S., dan Tjatur, R.F.S. Aktivitas Antimikroba pada Susu Kuda Sumbawa.

## SARAN

Berdasarkan karakteristik secara fenotifik perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap *Lb. brevis* dan *Lb. acidophilus* dalam pemanfaatannya sebagai probiotik dan kultur starter pada fermentasi produk pangan seperti susu dan ikan.

- Jurnal Teknologi dan Industri Pangan XV(1): 47-53 ; 2004.
6. Widodo. Bioteknologi Industri Susu. Yogyakarta: Lacticia Press; 2003.
7. Fardiaz, S. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan. Bogor: IPB Press; 1989.
8. Mitsuoka, T. A Profile of Intestinal Bacteria. Japan: Yakult Honsha Co. Ltd; 1990.
9. Fardiaz, S. Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut. Bogor: PAU-IPB; 1992.
10. Mayra-Makinen, A. and Bigret, M. Industrial Use and Production of Lactic Acid Bacteria. In: S. Salminen and A. von Wright (Eds.). New York: Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker, Inc.; 1998.
11. Ray, B. Fundamental Food Microbiology, 3<sup>rd</sup> Ed. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC; 2004.
12. Axelsson, L. T. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: S. Salminen and A. von Wright (Eds.). Lactic Acid Bacteria. New York: Marcel Dekker, Inc; 1998.