

Isolate and Characterization of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Local Nira as Probiotic Starter Candidates

Aini¹, Jumari Ustiauwaty^{1*}, Edy Kurniawan¹, Alfi Maulana²

¹Politeknik Medica Farma Husada Mataram, Kota Mataram, Indonesia;

²Politeknik Kesehatan Kemenkes Mataram, Kota Mataram, Indonesia;

Article History

Received : September 02th, 2022

Revised : October 20th, 2022

Accepted : November 22th, 2022

*Corresponding Author:

Jumari Ustiauwaty

Politeknik Medica Farma Husada
Mataram,

Kota Mataram, Indonesia

Email:

jumari.ustiauwaty@gmail.com

Abstract: Probiotics are dietary supplements that contain lactic acid bacteria, which are capable of converting sugars (including lactose). Probiotics are used in the prevention of infectious diseases. Nira is often used as an ingredient to make alcoholic beverages (tuak) and sugar, but it has not been able to increase the economic value of sap water. The purpose of this study was to isolate lactic acid bacteria in sap as a probiotic candidate. The method in this study was carried out by isolating lactic acid bacteria in sap with a dilution series of 10^{-0} , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , and 10^{-6} , then pipetting 1 ml into a cup petri dish and incubating in an anaerobic jar equipped with Anaerocult for 2 x 24 hours. Then macroscopic and microscopic observations were made and sugar and catalase tests were carried out to determine the type of bacteria found. The results of the isolation and characterization of bacteria in the sap were found to be 4 isolates, namely isolate 1A, which is *Bacillus coagulans* bacteria. Isolate 1B was a *Bacillus licheniformis* bacteria. Isolates 2A and 2B are bacteria from the genus *Lactobacillus* sp.

Keywords: Isolation, characterization, lactic acid bacteria, Nira, probiotics

Pendahuluan

Probiotik adalah suplemen diet yang mengandung bakteri asam laktat yang mampu mengubah gula (termasuk laktosa) dan karbohidrat lain menjadi asam laktat. Kondisi ini tidak hanya menyediakan rasa asam yang unik dari dairy food fermentasi seperti susu fermentasi, tapi juga berperan sebagai media bakteri, dengan cara mengurangi pH dan membuat kesempatan organisme merugikan untuk tumbuh lebih sedikit (Yuniastuti, A., 2014)

Bakteri probiotik yang beredar dipasaran adalah bakteri asam laktat dari genus *Lactobacilli* dan *Bifidobacterium* yang merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan manusia (Sujaya *et al.*, 2008). Produk probiotik yang beredar adalah produk susu fermentasi seperti yogurt, yakult, susu asidofilus, dan lain-lain. Selain mempunyai nilai nutrisi yang baik, produk tersebut dianggap memberi manfaat kesehatan dan terapeutik. Manfaat ini diperoleh akibat terbawanya bakteri-bakteri hidup ke dalam saluran pencernaan yang mampu memperbaiki komposisi mikroflora usus

sehingga mengarah pada dominansi bakteri-bakteri yang menguntungkan kesehatan (Yuniastuti, A., 2014).

Probiotik telah banyak dimanfaatkan dalam penanggulangan penyakit infeksi seperti kanker kolon (Hirayama dan Rafter, 1999), diare pada anak (Marteau *et al.*, 2001), infeksi *Helicobacter pylori*, vaginosis (Reid *et al.*, 2001), kelainan sistem imun (Isolauri *et al.*, 2002), dan atopi (Kalliomaki *et al.*, 2003). Jenis bakteri yang dimanfaatkan sebagai probiotik adalah *Lactobacillus acidophilus* dikombinasi dengan *Lactobacillus bulgaricus*, *L. rhamnosus* GG, *Enterococcus faecium* SF68i dan *Bifidobacterium longum*, *Saccharomyces boulardi*, yang digunakan untuk mencegah diare. Bakteri *L. rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* strain Shirota, *Enterococcus faecium* SF68 dan *Sacc. boulardi*, untuk menanggulangi gastroenteritis akut. Bakteri *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus acidophilus* dikombinasikan dengan *Lactobacillus bulgaricus*, *L. fermentum* strain KLD, *L. rhamnosus* GG, dan *Sacc. boulardi* (Marteau *et al.*, 2001).

Menurut Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) (2001), idealnya strain probiotik seharusnya tidak hanya mampu bertahan melewati saluran pencernaan tetapi juga memiliki kemampuan untuk berkembang biak dalam saluran pencernaan, tahan terhadap cairan lambung dan cairan empedu dalam jalur makanan yang memungkinkan untuk bertahan hidup melintasi saluran pencernaan dan terkena paparan empedu. Selain itu probiotik juga harus mampu menempel pada sel epitel usus manusia, mampu membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan, mampu menghasilkan zat anti mikroba (bakteriosin), dan memberikan pengaruh yang menguntungkan kesehatan manusia. Syarat lainnya adalah tidak bersifat patogen dan aman jika dikonsumsi. Strain probiotik juga harus tahan dan tetap hidup selama proses pengolahan makanan dan penyimpanan, mudah diaplikasikan pada produk makanan, dan tahan terhadap proses psikokimia pada makanan (Prado *et al.*, 2008).

Nira adalah cairan yang manis yang diperoleh dari air perasan batang atau getah tandan bunga tanaman seperti tebu, bit, sorgum, mapel, siwalan, bunga dahlia dan tanaman dari keluarga Palma seperti aren, kelapa, nipah, sagu, kurma dan sebagainya (Baharuddin, 2007)

Pohon nira umumnya dijumpai tumbuh secara liar (tidak ditanam orang). Hampir semua bagian dari pohon ini dapat dimanfaatkan dan memiliki nilai ekonomi mulai dari bagian-bagian fisik pohon maupun dari hasil-hasil produksinya. Ketersediaan sumberdaya tersebut juga merata di seluruh Indonesia seperti Lombok, Nusa Tenggara Barat yang memiliki potensi Nira yang cukup besar. Secara tradisional, masyarakat memperoleh air nira dengan cara di sadap dan ditampung airnya. Pengolahan air nira oleh masyarakat sebagai bahan pembuatan minuman tuak (minuman beralkohol) dan pembuatan gula merah. (gula batu) atau gula semut yang berupa kristal. Selain itu, gula mempunyai banyak kelebihan seperti harganya yang jauh lebih tinggi dan aromanya yang lebih harum. Pemanfaatan air nira sebagai minuman tuak (minuman beralkohol) belum dapat meningkatkan nilai ekonomis dari nira lokal, dan bahkan memberikan efek tidak baik terhadap kesehatan tubuh. Air nira yang terfermentasi secara alamiah menjadi minuman beralkohol diduga karena

adanya peranan bakteri.

Untuk memastikan adanya peran bakteri dalam proses fermentasi tersebut maka dilakukan penelitian Isolat dan Karakterisasi bakteri asam laktat pada nira lokal sebagai kandidat stater probiotik produk soyakult. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat dalam air nira lokal untuk pengembangan probiotik isolat lokal Indonesia guna meningkatkan derajat kesehatan masyarakat Indonesia.

Bahan dan Metode

Penelitian ini menggunakan nira lokal yang diambil dari masyarakat di desa Suranadi Kabupaten Lombok Barat NTB. Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari setelah air nira tertampung. Air nira yang diambil kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril kemudian dibawa ke laboratorium uji mikrobiologi dengan menggunakan *cooler box*.

Isolasi Bakteri Asam Laktat pada Nira Lokal

Isolasi bakteri asam laktat dengan menggunakan media isolasi yang spesifik sering disebut sebagai media selektif. Media selektif ini digunakan untuk menumbuhkan dan memelihara bakteri tertentu dengan sifat spesifiknya maka akan menyeleksi bakteri asam laktat secara langsung. Pada isolasi bakteri asam laktat media yang digunakan ialah media MRSA (de Mann Rogosa Sharpe Agar) (Oxoid, 1982).

Pengenceran nira dibuat dengan seri 10^{-0} , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} , kemudian dipipet sebanyak 1ml lalu dimasukkan media MRSA. Cawan Petri ditutup dan diinkubasi dalam anaerob jar yang dilengkapi dengan anaerocult selama 2x 24 jam. Koloni yang tumbuh terpisah dilakukan pengamatan morfologi berdasarkan bentuk, tepian, elevasi, dan warna secara makroskopis (Purwani *et al.*, 2009).

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dimulai dengan membersihkan gelas objek dengan menggunakan alkohol 96%. Kemudian diambil 1 tetes akuades dan diletakkan di atas gelas objek selanjutnya diambil koloni yang tumbuh terpisah pada media MRSA dengan menggunakan ose. Koloni dihomogenkan dengan akuades di atas gelas

objek dan fiksasi. Kemudian preparat tersebut diberi pewarna kristal violet selama 1 menit. Setelah itu, preparat ditetesi lugol dibiarkan 1 menit dan dicuci dengan etanol selama 20 detik. Preparat ditetesi dengan safranin dan dibiarkan selama 1 menit. Selanjutnya, preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, preparat ditetesi dengan minyak emersi dan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x (Purwani et al., 2009). Bakteri yang teridentifikasi bila bakteri Gram-positif berwarna ungu dan Gram-negatif berwarna merah. Diamati pula ukuran dan bentuk dari sel bakteri tersebut apakah bulat (coccus), batang (basil), atau bergelombang (spiral) (Djide dan Sartini, 2008).

Uji Biokimia Untuk Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Identifikasi koloni bakteri dilakukan dengan menggunakan uji biokimia.

1. Uji Gula-Gula

Uji gula-gula menggunakan larutan laktosa, maltose, mannitol dan sukrosa dengan indikator merah atau Brom Timol Blue (BTB). Masukkan isolat bakteri ke dalam media uji gula-gula kemudian inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. apabila warna medium berubah menjadi warna kuning berarti bakteri tersebut membentuk asam dari fermentasi (Rostinawati & Lestari, 2017).

2. Uji SIM (Sulfur Indol Motility)

Masing-masing isolat bakteri di inokulasi pada medium SIM pada tabung reaksi secara aseptik dan untuk menguji motilitas isolat ditusukkan pada agar tegak kemudian di inokubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengujian indol dilakukan dengan meneteskan 0,5 ml reagen kovacks. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada permukaan media sedangkan untuk uji motilitas akan bernilai positif. Jika ditunjukkan dengan melebarnya bekas tusukan pada media yang merupakan indikasi bakteri tersebut bersifat motil (Afrianti Rahayu & Muhammad Hidayat Gumilar, 2017).

3. Uji VP (voges Proskauer)

Bakteri di inokubasi pada tabung reaksi yang berisi media VP cair lalu di inokubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Medium kemudian ditambah 0,2 ml KOH 40% dan 0,6 ml alfanafol lalu dikocok selama 30 detik,

apabila berwarna merah muda atau merah tua menunjukkan reaksi positif (Sardiani et al., 2015).

4. Uji SC (Simon Citrat)

Satu ose isolat diinokulasikan ke dalam simon citrat agar dan di inokubasikan pada suhu 30°C selama 24 jam. Selanjutnya media ditetesi indikator Brom Thymol Blue (BTB). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri dan terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi biru (Sardiani et al., 2015).

5. Uji TSIA (Tripel Sugar Iron Agar)

Bakteri diinokulasikan dengan cara ditusukkan pada media TSIA miring, kemudian diinokubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil tersebut ditandai dengan bagian butt media berubah warna menjadi kuning yang berarti menghasilkan asam dan pada bagian slant berwarna merah yang berarti bersifat basa (Sardiani et al., 2015)

6. Uji Indol

Media indol merupakan salah satu media biokimia reaksi dalam identifikasi kuman/bakteri yang dapat membentuk indol. Media indol yang telah ditanami kuman akan menunjukkan positif apabila terbentuk cincin warna merah pada media setelah ditambahkan reagen indol atau kovac. Enzim triptofanase akan mengubah triptofan menjadi indol.

7. Uji Urea

Media urea merupakan salah satu media uji biokimia yang hasil reaksinya dikatakan positif jika terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah. Bila reaksi negative maka tidak akan terjadi perubahan pada media urea. Perubahan warna terjadi bila bakteri memiliki enzim urease yang bekerja dengan merubah urea menjadi ammonia dan bikarbonat.

8. Uji Katalase

Suspensi bakteri diambil secara aseptik 1 ose, lalu diratakan diatas kaca objek dan difiksasi diatas nyala api. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan H₂O₂ 3% pada permukaan kaca objek. Jika terlihat adanya gelembung O₂ diatas kaca objek maka telah terjadi reduksi H₂O₂ dan bakteri menunjukkan katalase positif. Uji ini juga dapat menentukan bakteri bersifat aerob dikarenakan terlihat dengan adanya gelembung oksigen yang muncul (Puspita,

Muhammad, & Ridho, 2017; Rostinawati & Lestari, 2017).

Analisis Data

Data penelitian ini dianalisis dengan cara deskriptif dengan menampilkan hasil isolasi bakteri dan identifikasi bakteri asam laktat

Hasil dan Pembahasan

Isolasi Bakteri Asam Laktat pada Media

Tabel 1. Hasil pengamatan morfologi bakteri secara makroskopis pada media MRSA

No	Isolat	Makroskopis				
		Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi	Ukuran
1	1A	bulat	Putih susu	utuh	cembung	Kecil
2	1B	bulat	Putih susu	utuh	cembung	Kecil
3	2A	bulat	Putih susu	utuh	cembung	Sedang
4	2B	bulat	Putih susu	utuh	cembung	Sedang

Hasil pengamatan morfologi bakteri secara makroskopis pada media MRSA (Tabel 1) memperlihatkan koloni berbentuk bulat dan berwarna putih susu dengan tepian utuh, elevasi cembung dengan ukuran bervariasi yaitu isolate 1A dan 1B berukuran kecil, sedangkan isolate 2A dan 2B berukuran sedang.

MRSA

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah air nira lokal. Hasil isolasi bakteri asam laktat dari sampel air nira pada media MRSA diperoleh 4 isolat yaitu Isolat 1A, isolat 1B, isolat 2A dan isolat 2B. Hasil pengamatan morfologi bakteri secara makroskopis pada media MRSA untuk masing-masing isolate yang ditemukan dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

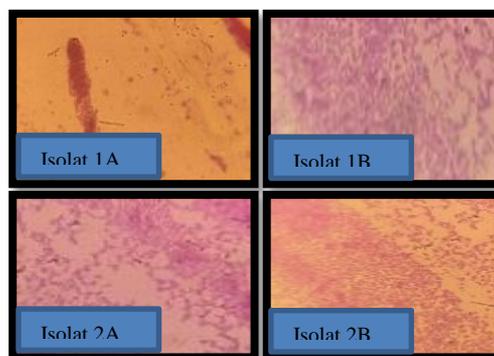
Pengamatan Secara Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni terpisah pada media MRSA selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram. Hasil pengamatan secara mikroskopis dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Hasil pengamatan morfologi bakteri secara mikroskopis dengan pewarnaan gram

No	Isolat	Mikroskopis				
		Bentuk	Warna	Sifat Gram	Spora	Aerob/ anaerob
1	1A	Batang	ungu	+	+	Anaerob
2	1B	Batang	ungu	+	+	Anaerob
3	2A	Batang	ungu	+	-	Anaerob
4	2B	Batang	ungu	+	-	Anaerob

Hasil pengamatan secara mikroskopis dengan pewarnaan gram (Tabel 2) menunjukkan bakteri berbentuk batang dan berwarna ungu. Warna ungu menunjukkan bakteri tersebut termasuk gram positif. Isolat 1A dan 1B memiliki spora dan bersifat anaerob, sedangkan isolate 2A dan 2B tidak memiliki spora dan bersifat anaerob.



Gambar 1. Hasil pewarnaan Gram

Identifikasi Bakteri dengan Uji Biokimia

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia

Uji	Isolat			
	1A	1B	2A	2B
Maltosa	-	+	+	+
Laktosa	-	-	+	+
Sukrosa	-	+	+	+
TSI	K/M	K/M	K/K	K/K
SC	+	+	-	-
Urea	-	-	-	-
Manitol	-	+	-	-
AP	-	-	-	-
SIM	-	-	-	-
VP	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-
Arabinosa	-	+	-	-
Katalase	+	+	-	-
Jenis Bakteri	<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Lactobacillus sp</i>	<i>Lactobacillus sp</i>

Ket: K = kuning, M =merah, (+) = menunjukkan hasil positif, (-) = menunjukkan hasil negatif

Hasil identifikasi bakteri dengan biokimia (Tabel 3) terlihat bahwa isolate 1A menunjukkan reaksi negative terhadap maltose, laktosa dan sukrosa, terjadi perubahan warna media kuning/merah dan tidak terdapat gas pada tabung durham. Pada isolate 1B menunjukkan reaksi positif pada maltose dan sukrosa dengan perubahan warna media kuning merah. Sedangkan pada isolate 2 A dan 2B menunjukkan reaksi positif terhadap maltose, laktosa dan sukrosa dengan perubahan warna media kuning/kuning pada kedua isolate.

Hasil uji simon citrate (SC) pada isolate 1A dan 1B menunjukan hasil positif sedangkan pada isolate 2A dan 2B menunjukkan hasil negative. Pada uji urea, AP, SIM, dan uji indol pada semua isolate memberikan nilai negative. Uji manitol pada isolate 1A, 2A, dan 2B menunjukkan hasil negative sedangkan pada isolate 1B menunjukkan hasil positif. Hasil uji VP pada semua isolate menunjukkan hasil positif. Pada uji arabinose untuk isolate 1A, 2A, dan 2B menunjukkan hasil negative sedangkan pada isolat 1 B menunjukkan hasil positif. Hasil uji katalase menunjukkan bahwa isolate 1A dan 1B menunjukkan katalase positif dan isolate 2A dan 2B menunjukkan katalase negative. Berdasarkan hasil uji biokimia (Tabel 3) menunjukkan bahwa isolate 1A merupakan

bakteri *Bacillus coagulans*, isolate 1B merupakan *Bacillus licheniformis*, isolate 2A dan 2B merupakan *Lactobacillus sp*

Pembahasan

Isolasi Bakteri Asam Laktat pada Media MRSA

Hasil pengamatan bakteri pada media MRSA secara makroskopis (Tabel 1) terlihat morfologi koloni yang tumbuh berbentuk bulat, warna putih susu, tepian utuh, elevasi cembung dengan ukuran yang bervariasi pada masing-masing isolate. Isolate 1A dan 1B berukuran kecil, sedangkan isolate 2A dan 2B berukuran sedang. Seluruh isolat yang ditemukan memiliki karakteristik yang sama seperti ciri koloni bakteri asam laktat yaitu berbentuk bundar, berwarna putih dan tepian koloni yang rata (A. L. Putri & E. Kusdiyantini, 2018).

Penggunaan media selektif MRSA berperan penting untuk isolasi bakteri asam laktat yang berfungsi mempermudah pertumbuhan suatu galur mikroba tertentu dan menghalangi pertumbuhan galur mikroba lainnya. Pernyataan ini sesuai dengan Oxoid (1982), bahwa media MRSA mengandung sodium asetat yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri lain. Putra (2015), menambahkan bahwa media MRSA

mengandung polisorbitat, asetat, magnesium, dan mangan yang diketahui sebagai faktor pertumbuhan bagi *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan jenis *Leuconostoc*. Menurut Naiola (2008) bakteri asam laktat *Bacillus licheniformis* bl43, *Chromobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Micrococcus roseus* dan *Bacillus coagulans* penghasil enzim amilase pada nira dan yang terfermentasi.

Pemeriksaan Secara Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram

Isolate bakteri yang ditemukan di cat gram dan diuji katalase. Hasil cat gram (Tabel 2) diketahui bahwa semua isolate merupakan bakteri gram positif dengan bentuk batang. Menurut Fitri & Yasmin (2011), bakteri Gram positif merupakan bakteri yang mampu mempertahankan zat warna kristal violet dan memperlihatkan warna keunguan, sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah pada pengamatan di mikroskop. Perbedaan warna pada proses pewarnaan Gram dilihat dari perbedaan struktur dinding sel yang menyusun bakteri.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa isolat 1A dan 1B memiliki spora sedangkan isolat 2A dan 2B tidak memiliki spora. Semua isolate baik isolate 1A, 1B, 2A, dan 2 B bersifat anaerob (Tabel 2). Menurut Keynan dan Sandler (1983) spora dapat membawa siklus perkembangan dimana sel vegetatif dapat membentuk spora dan spora kemudian dapat tumbuh berkecambah menjadi sel vegetatif.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat dengan Uji Biokimia

Hasil identifikasi bakteri dengan biokimia (Tabel 3) terlihat bahwa isolate 1A menunjukkan reaksi negative terhadap maltose, laktosa dan sukrosa, terjadi perubahan warna media kuning/merah dan tidak terdapat gas pada tabung Durham. Pada isolate 1B menunjukkan reaksi positif pada maltose dan sukrosa dengan perubahan warna media kuning merah. Sedangkan pada isolate 2 A dan 2B menunjukkan reaksi positif terhadap maltose, laktosa dan sukrosa dengan perubahan warna media kuning/kuning pada kedua isolate.

Hasil uji simon citrate (SC) pada isolate 1A dan 1B menunjukkan hasil positif sedangkan pada isolate 2A dan 2B menunjukkan hasil

negative. Pada uji urea, AP, SIM, dan uji indol pada semua isolate memberikan nilai negative. Uji manitol pada isolate 1A, 2A, dan 2B menunjukkan hasil negative sedangkan pada isolate 1B menunjukkan hasil positif. Hasil uji VP pada semua isolate menunjukkan hasil positif. Pada uji arabinose dan NaCl 6,5% untuk isolate 1A, 2A, dan 2B menunjukkan hasil negative sedangkan pada isolate 1 B menunjukkan hasil positif. Hasil uji katalase menunjukkan bahwa isolate 1A dan 1B menunjukkan katalase positif dan isolate 2A dan 2B menunjukkan katalase negative.

Uji katalase merupakan uji biokimia untuk membedakan mikroorganisme yang memiliki enzim katalase untuk mendegradasi hidrogen peroksida bersifat toksik. Hasil uji katalase (Tabel 3) pada isolate 1A dan isolate 1B merupakan katalase positif sedangkan isolate 2A dan isolate 2B merupakan katalase negative.

Menurut Djide & Wahyuddin (2008), bahwa bakteri yang bersifat tidak memiliki enzim katalase yang mampu memecahkan H_2O_2 menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) merupakan bakteri asam laktat (BAL). Reaksi katalase menunjukkan hasil positif bila terbentuk gelembung udara yang mengindikasikan terbentuknya gas O_2 dan hasil negatif apabila tidak menunjukkan adanya gelembung gas O_2 . Koneman (2006), menambahkan gelembung udara yang terbentuk pada hasil positif uji katalase merupakan oksigen dari reaksi enzim katalase dan H_2O_2 . Bakteri asam laktat yang hanya membutuhkan sedikit oksigen untuk dapat hidup (Ibrahim et al., 2015).

Berdasarkan hasil uji biokimia baik hasil uji gula-gula dan uji katalase (Tabel 3) menunjukkan bahwa isolate 1A merupakan bakteri *Bacillus coagulans*, Isolat 1B merupakan *Bacillus licheniformis*, Isolat 2A dan 2B merupakan *Lactobacillus sp*

Hasil pengamatan secara makroskopis (Tabel 1) dan mikroskopis (Tabel 2) serta hasil uji gula-gula (Tabel 3) pada penelitian ini menunjukkan bahwa isolate 1A merupakan bakteri *Bacillus coagulans* yang termasuk gram positif berbentuk batang, memiliki spora, bersifat anaerob dan katalase positif. Menurut Asan (2010) *B. coagulans* adalah bakteri gram positif, anaerob fakultatif, nonpatogenik, pembentuk spora, penghasil asam laktat. *B. coagulans* merupakan mikroorganisme yang ideal dalam

produksi asam laktat industri karena kemampuannya untuk memfermentasi glukosa dan xilosa menjadi asam laktat dalam kondisi anaerobik pada suhu di bawah 50°C (Jiang *et al.* 2016; Glaser *et al.* 2018).

Berdasarkan karakterisasi bakteri pada nira dalam penelitian ini *Bacillus coagulans* tumbuh dengan baik pada media MRSA setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Menurut Wizan *et al.*, (2013) *Bacillus coagulans* yaitu: tumbuh dengan baik pada suhu 35-37°C, tahan terhadap pasteurisasi dan mampu tumbuh pada larutan garam konsentrasi tinggi (> 10%). Asan (2010) dan Karri *et al* (2016) juga mengatakan bahwa *B. coagulans* tahan terhadap panas; suhu pertumbuhan optimum untuk *B. coagulans* adalah 35-50°C dan pH pertumbuhan optimum adalah 5,5 sampai 6,5. karakteristik yang dimiliki oleh *B. coagulans* ini sehingga dapat digunakan sebagai probiotik (Karri *et al.*, 2016)

Bacillus coagulans cukup ekonomis sebagai probiotik karena mempunyai coagulansora dan aerob sehingga bisa dibuat probiotik dalam bentuk bubuk. Keistimewaan lain *Bacillus coagulans* sebagai probiotik, diantaranya sebagai penghasil asam laktat, tahan terhadap temperatur tinggi, suasana asam, tumbuh baik di usus halus, dapat menjaga keseimbangan flora usus, antagonis terhadap bakteri patogen, dan menghasilkan beberapa vitamin. *Bacillus coagulans* juga mempunyai kemampuan untuk mendegradasi xilan dari karbohidrat (Cowan dan Stell's, 1973). *Bacillus coagulans* juga dapat digunakan sebagai terapi terhadap enteritis akut, aphthous stomatitis, candidiosis colitis, degradasi kolesterol, diare/diare neonatal, dispepsia, intoleran terhadap laktosa dan reconditioning saluran gastrointestinal setelah terapi antibiotik (Wizan *et al.*, 2013)

Hasil Isolat 1B pada penelitian ini merupakan *Bacillus licheniformis*, yang termasuk gram positif berbentuk batang, memiliki spora, bersifat anaerob dan katalase positif. Menurut Veith *et al.* (2004) *B. licheniformis* adalah bakteri berbentuk batang gram-positif. Banyak digunakan untuk keperluan industri seperti produksi enzim, antibiotik dan metabolit kecil. Suhu pertumbuhan optimalnya adalah 50°C, tetapi dapat juga bertahan pada suhu yang lebih tinggi. Suhu optimal untuk

sekresi enzim adalah 37°C. Bakteri ini dapat bertahan hidup di lingkungan yang keras dengan mengubahnya berbentuk spora tetapi apabila kondisi baik, ia akan kembali ke dalam keadaan vegetatif. (Veith *et al.*, 2004)

Menurut Akhdia (2003) *Bacillus licheniformis* menghasilkan beberapa enzim ekstraseluler yaitu (J,- amilase, amino peptidase, protease metal, ~-laktamase, endo- N-asetilglukoaminidase dan lipase

The United States Food and Drug Administration (FDA) merekomendasikan *Bacillus coagulans*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus fumilus* dan *Bacillus subtilis* termasuk ke dalam "Direct-Fed-Microbial" (DFM). Mikroba yang digunakan dalam DFM termasuk ke dalam kategori generally recognized as safe (GRAS) yang fungsinya dapat menstabilkan kondisi lingkungan mikroba dalam saluran pencernaan ternak (Milles, 1993)

Bacillus sp. kemampuan enzimatik yang berbeda-beda dalam menghasilkan enzim, diantaranya dalam menghasilkan enzim amilase, protease, dan lipase, seperti *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. stearothermophilus*, *B. amyloliquefasciens*, *B. alginoliticus*, *B. chondrotimus*, *B. amithii*, *B. thermoleovorans*, *B. brevis*, *B. thuringiensis*, *B. papilliae*, dan sebagainya (Rahayu 1990).

Hasil Isolat 2A dan 2B pada penelitian ini merupakan *Lactobacillus sp.* yang termasuk gram positif berbentuk batang, tidak memiliki spora, bersifat anaerob dan katalase positif. Menurut Wizan *et al* (2013) *Lactobacillus sp* selama ini dikenal sebagai probiotik yang bersifat anaerob dan tidak mempunyai spora sehingga membutuhkan biaya yang lebih tinggi dalam penanganannya.

Kesimpulan

Isolate bakteri yang ditemukan pada nira lokal termasuk ada bakteri asam laktat yang terdiri dari 4 isolat yaitu isolate 1A merupakan *Bacillus coagulans*, isolate 1B merupakan *Bacillus licheniformis*. Sedangkan untuk isolate 2A dan 2B merupakan *Lactobacillus sp*

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis sampaikan kepada Direktorat Akademik Pendidikan Tinggi Vokasi

Tahun 2022 yang telah memberikan Dana hibah penelitian Dosen pemula dengan kontrak Nomor LLDIKTI VIII: 1074/LL8/Ak.04/ 2022. Terima kasih kepada Politeknik Medica Farma Husada Mataram dan program studi Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Medica Farma Husada Mataram.

Referensi

- Afrianti Rahayu, S., & Muhammad Hidayat Gumilar, M. (2017). Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 50
- Akhdiya A. (2003). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil Buletin Plasma Nutfah, 9 (2): 38-44.
- Asan Özüsaglam, M. (2010). Importance of *Bacillus coagulans* Bacterium as Probiotic in Animal Nutrition. *Süleyman Demirel Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 2010, 5, 50–57.
- Baharuddin, Muin M, & Bandaso H. (2007). Pemanfaatan Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr) sebagai Bahan Pembuatan Gula Putih Kristal. *Jurnal Perennial*, 3(2): 40-43
- Cowan and Stell's. (1973). *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University Press Englan
- Djide, M.N. & E. Wahyuddin (2008). Isolasi bakteri asam laktat dari air susu ibu dan potensinya menurunkan kadar kolesterol secara in-vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 12(3):73-78.
- Djide, MN, & Sartini (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Teknologi Laboratorium Kesehatan*. Makassar: Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
- FAO/WHO. (2001). *Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*. Amerian Córdoba Park Hotel, Córdoba, Argentina.
- Fitri, L. & Y. Yasmin (2011). Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. 3(2):20-25.
- Glaser, R.; & Venus, J. (2018). Co-fermentation of the main sugar types from a beechwood organosolv hydrolysate by several strains of *Bacillus coagulans* results in effective lactic acid production. *Biotechnol. Rep.* 2018, 18, e00245.
- Hardiningsih, R., R.N.R. Napitupulu, & T. Yulinery (2006). Isolasi dan uji resistens beberapa isolat *Lactobacillus* pada pH rendah. *Biodiversitas*. 7(1): 15-17.
- Hirayama K, & Rafter J, (1999). The role of lactic acid in prevention of colon cancer: mechanistic consideration. *Ann van Leewenhoek*, 76: 391-394.
- Isolauri E, Rautava S, Kalliomaki M, Kirjavainen P, & Salminen S. (2002). Role of probiotics in food hypersensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2: 263-267
- Jiang, T.; Qiao, H.; Zheng, Z.; Chu, Q.; Li, X.; Yong, Q.; & Ouyang, J. (2016). Lactic acid production from pretreated hydrolysates of corn stover by a newly developed *Bacillus coagulans* strain. *PLoS ONE* 2016, 11, e0149101.
- Kalliomaki M, Salminne S, Pussa T, Arvilommi H, & Isolauri E. (2003). Probiotics and prevention of atopic disease: a randomized placebo-conrolled trial. *Lancet* 61: 1869-1871.
- Karri, S.K.; Majeed, M.; Natarajan, S.; Sivakumar, A.; Ali, F.; Pande, A.; & Majeed, S. (2016). Evaluation of anti-diarrhoeal activity of *Bacillus coagulans* MTCC 5856 and its effect on gastrointestinal motility in wistar rats. *Int. J. Pharm. Biol. Sci.*, 7, 311–316.
- Keynan, A. & N. Sandler (1983). *The Bacterial Spore*, vol 2. (Hurst, A. and Gould, G. W., eds). Academic Press, New York: 107 pp
- Koneman, E.W. (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Lippincott Williams & Wilkins, USA.
- Marteau PR, de Vrese M, Cellier CJ, & Schrezenmeier J. (2001). Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 73: 430S-436S.
- Milles, D. R. (1993). Manipulation of the Microflora of the Gastrointestinal Trac Natural Ways to Prevent Colonization by Pathogen in Biotec in the Feed Industry. *Proc. of Altech's Ninth Annual Symp.* Altech Technic. Publ. 3031 catnip Hill Pike, Nicholasvile, Kentucky 40356

- Naiola, E. (2008). Mikrobia amilolitik pada nira dan laru dari Pulau Timor, Nusa Tenggara Timur. *Biodiversitas*. Volume 3 (3): 165-168.
- Oxoid (1982). *The Oxoid manual of Culture Media, Ingredients and Other Laboratory Services*. 5th ed. Basingtoke, Hampshire.
- Prado, F. C., J. L. Parada, A. Pandey, & C. R. Soccol. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Res. Int.* 41: 111-123
- Purwani, E., S.W.N. Hapsari, & R. Rauf. (2009). Respon hambatan bakteri gram positif dan negatif pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diawetkan dengan ekstrak jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Kesehatan*. 2(1): 61-70.
- Puspita, F., Muhammad, A., & Ridho, P. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri *Bacillus* sp. Endofitik dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *J. Agrotek. Trop*, 6(2), 44-49.
- Putra, Y.S. (2015). *Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Feses Orangutan Sumatera (Pongo abelii) di Kebun Binatang Bukittinggi Sumatera Barat*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
- Putri, A. L., & Kusdiyantini, E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Rahayu, K. (1990). *Enzim Mikroba*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor: 108 hal.
- Reid G, Howard J, & Gan BS. (2001). Can bacterial interference prevent infection?. *Trends in Microbiol* 9: 424-427.
- Rostinawati, T., & Lestari, H. S. (2017). Skrining Bakteri Penghasil Enzim β -Siklodekstrin Transferase (β -CGTase) dari Tanah Jatjangor Glukosil. *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 3(2), 10-17.
- Sardiani, N., Litaay, M., Budji, R. G., Priosambodo, D., Syahribulan, & Dwyana, Z. (2015). Potensi *Tunikata Rhopaleae* sp. sebagai sumber inokulum bakteri endosimbion penghasil antibakteri: 1. karakteristik isolat. *Jurnal Alam Dan Lingkungan*, 6(11)
- Veith, B., Herzberg, c., Steckel, S., Feesche, J., Maurer, K. H., Ehrenreich, P., Baumer, S., Henne, A., Liesegang, H., Merkl, R., Ehrenreich, A, & Gottschalk, G. (2004). The complete genome sequence of *Bacillus licheniformis* DSM13, an organism with great industrial potential. *J Mol. Microbiol. Biotechnol*, 7(4):204-211
- Wizna, H. Abbas, Y Rizal, A. Dharma, & P. Kompang (2013). Potensi *Bacillus coagulans* dari Serasah Hutan sebagai Probiotik Ayam Broiler. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 15 (1): 75-80.
- Yuniastuti, A. (2014). *Buku Monografi Probiotik (Dalam Perspektif Kesehatan)*. Cetakan 1, UNNES Press, Semarang. ISBN: 9786022850038, pp: 94