

Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Itik Lokal Asal Aceh

Growth Curve of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Digestive Tract of a Native Aceh Ducks

Y. K. Risna^{1*}, Sri-Harimurti², Wihandoyo², dan Widodo²

¹Fakultas Pertanian, Universitas Al Muslim. Matangglumpangdua, Bireuen 24261, Aceh - Indonesia

²Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada. Jl. Fauna No. 3, Karang Gayam, Sleman 55281, Yogyakarta - Indonesia

*Corresponding E-mail: yayuk.risna@gmail.com

(Diterima: 2 Juni 2021; Disetujui: 13 September 2021)

ABSTRAK

Bakteri memiliki 4 fase pertumbuhan, yaitu: fase lag, fase eksponensial, fase stationer dan fase kematian. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, salah satunya adalah kondisi lingkungan seperti kondisi keasaman ataupun basa (pH). Tujuan penelitian ini untuk melihat kemampuan tumbuh isolat BAL yang diperoleh dari hasil isolasi bakteri pada saluran pencernaan itik lokal asal Aceh. Kemampuan tumbuh dilihat pada kurva pertumbuhan dan juga dilihat kemampuan tumbuh pada kondisi pH saluran pencernaan yaitu pH 2 dan 7. Bahan penelitian yang digunakan adalah 19 isolat BAL yang diperoleh dari hasil isolasi pada saluran pencernaan itik lokal betina dewasa berumur satu tahun dan sehat asal Kabupaten Bireuen-Aceh (C1, C2, C3, P1, V1, V2, D1, D2, D3, J1, J2, J3, I1, I2, I3, S1, S2, S3 dan S4). Uji pertumbuhan dan pH dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *Optical density* (OD) pada absorbansi $\lambda = 640$ nm. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Isolat BAL terpilih dari saluran pencernaan itik lokal asal Aceh memiliki kemampuan tumbuh pada media MRS broth dan menunjukkan kurva pertumbuhan pada fase lag terjadi selama 1-2 jam pertama waktu inkubasi. Isolat BAL terpilih juga memiliki kemampuan tumbuh yang berbeda pada kondisi pH 2 dan 7.

Kata kunci: BAL, itik, kurva pertumbuhan, pH

ABSTRACT

Bacteria have four growth phases, namely: lag phase, exponential phase, stationary phase, and death phase. Many factors can affect the growth of bacteria, one of which is environmental conditions such as acidity or alkaline conditions (pH). The purpose of this study was to see the growth ability of LAB isolates obtained from bacterial isolation in the digestive tract of local ducks from Aceh. The ability to grow is seen on the growth curve and the ability to grow at the pH conditions of the digestive tract, namely pH 2 and 7. The research material used was 19 LAB isolates obtained from isolation in the digestive tract of one-year-old and healthy adult female local ducks from Bireuen -Aceh (C1, C2, C3, P1, V1, V2, D1, D2, D3, J1, J2, J3, I1, I2, I3, S1, S2, S3, and S4). Growth and pH tests were performed using an optical density (OD) spectrophotometer at an absorbance of $\lambda = 640$ nm. The data obtained were analyzed descriptively. LAB isolates selected from the digestive tract of native Aceh Ducks can grow on MRS broth media and show growth curves in the lag phase occurring during the first 1-2 hours of incubation. The selected LAB isolates also have different growth abilities at pH 2 and 7.

Keywords: LAB, ducks, growth curve, pH

PENDAHULUAN

Mikroba sebagai kandidat probiotik berasal dari kelompok bakteri asam laktat (BAL), khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Bakteri asam laktat merupakan golongan bakteri Gram positif, tidak membentuk endospora, bakteri anaerob atau fakultatif anaerob, bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai produk fermentasi utama dengan substrat karbohidrat yang sesuai. Penggunaan BAL sebagai probiotik pada ternak unggas idealnya juga berasal dari unggas, hal ini disebabkan oleh kemampuan adaptasi pada lingkungannya lebih mudah, sehingga cepat diperoleh keseimbangan mikroflora usus pada unggas tersebut (Sri-Harimurti dan Hadisaputro, 2015). Pada proses identifikasi BAL sebagai probiotik perlu diperhatikan pola pertumbuhan bakteri tersebut, guna melihat pertumbuhan optimum.

Fase pertumbuhan bakteri terdiri atas 4 fase, yaitu: 1) *Fase lag* merupakan fase adaptasi ataupun kemampuan bakteri menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan baru. Kemampuan adaptasi bakteri pada fase lag sangat beragam, hal ini dipengaruhi oleh komposisi media, jumlah sel pada inokulum awal, kondisi pH, suhu dan sifat fisiologis mikroba pada media sebelumnya (Volk and Wheeler, 1993). Fase lag juga disebut dengan fase awal ataupun fase penyesuaian aktivitas mikroba pada lingkungan baru (Rolfe *et al.*, 2012). Fase lag biasanya berlangsung mulai dari beberapa menit hingga beberapa jam. Panjang fase lag dapat dikontrol sampai batas tertentu karena tergantung pada jenis medium dan juga pada ukuran inokulum awal (Maier, 2009). 2) *Fase eksponensial* merupakan fase pertumbuhan yang kedua. Fase ini dibuktikan dengan terjadinya periode pertumbuhan yang sangat cepat. Pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial dipengaruhi oleh kondisi suhu, pH, nutrient dalam media dan sifat genetik mikroba (Volk dan Wheeler, 1993). Fase eksponensial merupakan fase yang diperlukan mikroba untuk pembelahan sel

atau penggandaan yang disebut dengan waktu generasi (Maier, 2009). 3) *Fase stasioner* adalah fase ketika laju pertumbuhan sama dengan laju kematian mikroba, sehingga hasilnya jumlah mikroba tersebut secara keseluruhan akan tetap (Volk dan Wheeler, 1993). Bakteri yang tumbuh akan mencapai titik ketika laju pertumbuhan menurun, ini menunjukkan awal fase stasioner (Kolter *et al.*, 1993). 4) *Fase kematian* adalah fase yang dapat dilihat dengan adanya peningkatan jumlah laju kematian yang melebihi jumlah laju pertumbuhan (Volk dan Wheeler, 1993).

Derajat keasaman/ *potential hydrogen* (pH) merupakan faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan dan kemampuan hidup sel mikroba sangat dipengaruhi oleh nilai pH (Sopandi dan Wardah, 2014). Kondisi lingkungan asam ataupun basa berpengaruh terhadap aktivitas lingkungan sehingga menghambat pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Semua lactobacili yang diisolasi memiliki ketahanan sedang atau baik terhadap pH 3 dan kemampuan bertahan akan menurun pada kondisi asam tinggi, terutama ketika lebih rendah dari pH 2. (Jin *et al.*, 1998b; Taheri *et al.*, 2009). Bakteri asam laktat dapat tumbuh dan berkembang pada kondisi pH optimum yaitu berkisar 5,5 – 5,8 (Khalid, 2011). *Lactobacillus salivarius* dan *lactobacillus animalis* yang diisolasi dari saluran *crop* dan sekum itik mampu bertahan hidup pada pH 1 selama 1 jam inkubasi (Ehrmann *et al.*, 2002). *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dari ayam lokal Algerian memiliki kemampuan tumbuh yang kurang stabil pada pH 2.6 (Idoui, 2014).

Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat kemampuan tumbuh isolat BAL terpilih dari saluran pencernaan Itik Lokal Aceh yang dilihat pada kurva pertumbuhan dan untuk mengetahui kemampuan tumbuhnya pada kondisi pH saluran pencernaan yaitu pH 2 dan 7.

METODE

Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan isolat BAL yang diperoleh dari saluran pencernaan itik betina dewasa yang berumur satu tahun, berasal dari peternakan yang dipelihara secara semi intensif tanpa pakan yang mengandung antibiotik di Kabupaten Bireuen-Aceh (Risna, 2021). Isolasi bakteri dilakukan dengan mengikuti metode Kimprasit *et al.* (2013) yang telah di modifikasi. Diambil bagian pencernaan yang terdiri dari tembolok, *proventrikulus*, *ventrikulus*, *duodenum*, *jejunum*, *ileum* dan *sekum*. Sampel yang sudah disiapkan dicuci dan dibilas dengan larutan buffer fosfat/ *phosphate buffer saline* (PBS). Selanjutnya, diinokulasikan ke dalam 10 ml larutan *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) (Merck, Jerman) yang telah steril dan ditambahkan 1% CaCo₃ dan 0,05% garam empedu/ *bile salt* (Oxoid, Singapura). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam dalam kondisi mikro-aerobik. Hasil isolasi diperoleh 19 isolat yang teridentifikasi sebagai BAL yaitu C1, C2, C3, P1, V1, V2, D1, D2, D3, J1, J2, J3, I1, I2, I3, S1, S2, S3 dan S4. Hal ini diketahui berdasarkan terbentuknya zona bening disekitar koloni yang menunjukkan adanya produksi asam laktat.

Uji Pertumbuhan

Dilakukan dengan metoda García-Hernández *et al.* (2016) yang telah dimodifikasi. Isolat ditumbuhkan pada media MRS Broth cair dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setiap 1 jam diamati dengan spektrofotometer *Optical density* (OD) pada absorbansi $\lambda = 640$ nm.

Uji pH

Pengujian nilai pH dilakukan dengan metoda Sri-Harimurti *et al.* (2007) yang telah dimodifikasi. Isolat ditumbuhkan pada media MRS Broth cair dengan kondisi pH 2 dan 7 kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Sebelum dan sesudah inkubasi diamati dengan spektrofotometer *Optical density* (OD) pada absorbansi $\lambda = 640$ nm.

Parameter dan Analisis Data

Parameter yang diamati adalah uji pertumbuhan, uji pH 2 dan 7. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

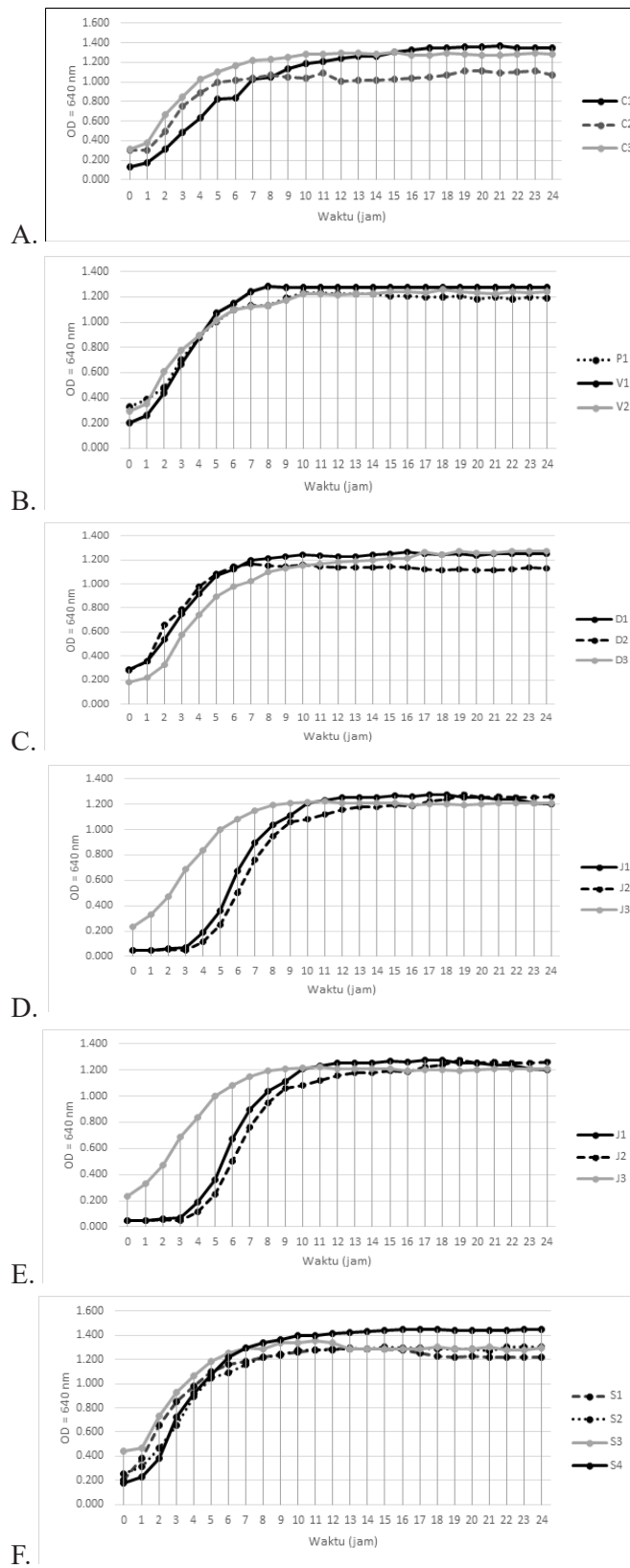
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Pertumbuhan selama 24 Jam

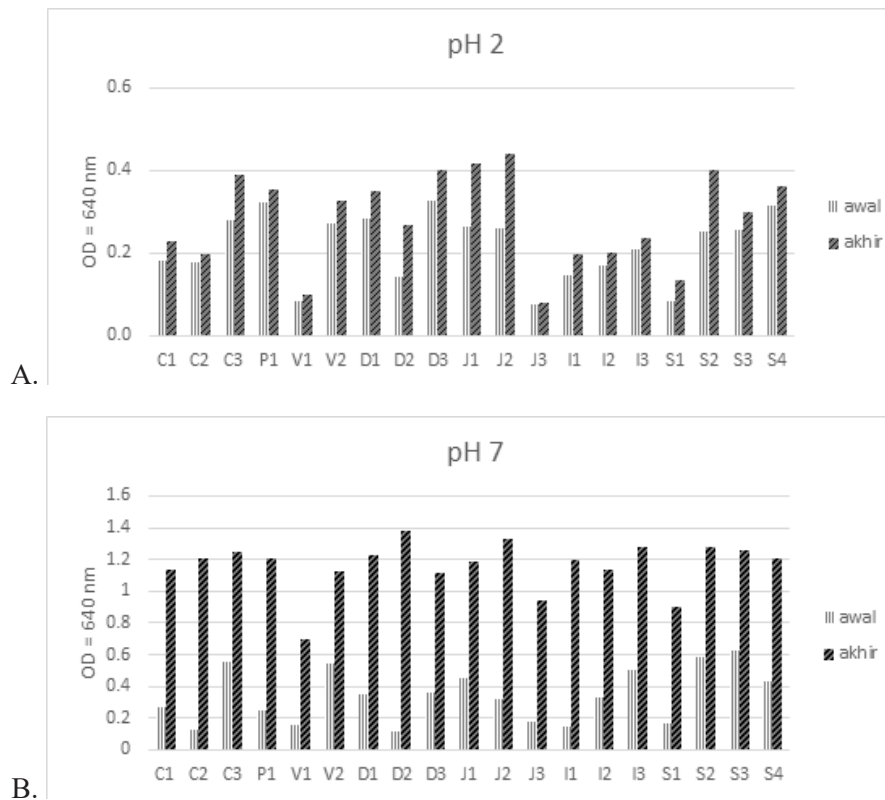
Pengujian pertumbuhan dilakukan menggunakan spektrofotometer *Optical density* (OD) pada absorbansi $\lambda = 640$ nm. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan isolat terpilih dari saluran pencernaan itik lokal Aceh (C1, C2, C3, P1, V1, V2, D1, D2, D3, J1, J2, J3, I1, I2, I3, S1, S2, S3 dan S4) pada media MRS Broth steril selama 24 jam, dengan pengamatan di setiap 1 jam. Hasil pengamatan pertumbuhan isolat terpilih dapat dilihat pada Gambar 1.

Kurva pertumbuhan menunjukkan bahwa 19 isolat terpilih memiliki fase lag yang berdekatan waktunya yaitu pada inkubasi 1 jam pertama. Isolat J1, J2 dan I2 memiliki fase lag pada inkubasi 3 jam pertama. Perbedaan ini dikarenakan oleh isolat J1, J2, dan J3 mengalami penambahan sel yang lambat disebabkan isolat sedang beradaptasi dengan kondisi lingkungan media tumbuh. Perbedaan ini tergantung kepada konsistensi pengaturan aktivitas dan lingkungan. Pada fase adaptif terjadi pertumbuhan yang lambat dipengaruhi oleh aktivitas bakteri dalam melakukan proses penyesuaian terhadap kondisi lingkungan seperti kondisi pH, suhu dan nutrisi (Mardanela, 2016). Secara kumulatif, fase lag merupakan respons adaptif terhadap stres dan kerusakan, bakteri memiliki waktu untuk beradaptasi yang lebih pendek, tergantung toleransinya terhadap stres (Bertrand, 2019). Fase lag terjadi pada waktu inkubasi dua jam pertama masa awal pertumbuhan, selanjutnya telah terjadi fase eksponensial pada dua jam berikutnya (Nurhajati *et al.*, 2016).

Fase eksponensial adalah suatu fase terjadinya peningkatan aktivitas mikroba yang mengalami perubahan bentuk dan juga pertambahan jumlah sel sampai pada kecepatan



Gambar 1. Aktivitas pertumbuhan isolat terpilih dari saluran pencernaan itik Aceh dengan media MRS Broth selama 24 jam



Gambar 2. Grafik pertumbuhan isolat terpilih dengan pH 2 (A) dan pH 7 (B)

maksimum sehingga diperoleh kurva dalam bentuk eksponensial. Pada penelitian ini, puncak fase eksponensial terjadi pada 7 sampai 10 jam. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan pada fase eksponensial terdiri dari dua faktor, yaitu biologi dan non-biologi. Pada Faktor biologi dipengaruhi oleh sifat dan bentuk mikroba terhadap lingkungan serta persatuan kehidupan di antara mikroba yang berkaitan. Faktor non-biologi yaitu nilai nutrisi yang terkandung dalam medium pertumbuhan, kondisi suhu, dan pH media (Rolfe *et al.*, 2012). Selanjutnya masuk fase stasioner sampai 24 jam. Fase stasioner terjadi jika di mana jumlah sel bakteri berhenti meningkat (Kolter *et al.*, 1993). Meskipun tidak ada pertumbuhan dalam fase diam, sel-sel masih dapat tumbuh dan membelah diri. Pada fase ini jumlah bakteri yang tumbuh seimbang dengan jumlah bakteri yang mati. Meskipun tidak ada pertumbuhan bersih dalam fase diam, sel-sel masih tumbuh dan membelah.

Pertumbuhan cukup seimbang dengan jumlah sel yang sekarat sama (Bertrand, 2019).

Uji Pertumbuhan pH 2 dan 7

Uji pH dilakukan dengan tujuan untuk melihat kemampuan tumbuh isolat terpilih dari saluran pencernaan itik lokal Aceh (C1, C2, C3, P1, V1, V2, D1, D2, D3, J1, J2, J3, I1, I2, I3, S1, S2, S3 dan S4) terhadap pH 2 dan 7. Uji pH 2 dan 7 dilakukan untuk melihat kemampuan hidup isolat pada pH yang sama kondisinya dengan pH pada saluran pencernaan itik yaitu dengan rentang 2,33 – 6,87 (Farner, 1942). Kemampuan isolat terpilih bertahan hidup pada kondisi keasaman pada organ ventrikulus dilakukan atas pertimbangan agar bakteri dapat digunakan sebagai kandidat probiotik pada unggas. Bakteri yang masuk ke ventrikulus harus bertahan karena adanya pengaruh asam klorida (HCL) yang merupakan komponen utama asam lambung.

Hasil uji dengan spektrofotometer

Optical density (OD) pada absorbansi $\lambda= 640$ nm diperoleh bahwa sembilan belas isolat BAL memiliki kemampuan tumbuh pada kondisi asam yaitu pH 2 dan basa yaitu pH 7. Pertumbuhan isolat dapat dilihat pada Gambar 2. Isolat J3 memiliki tingkat pertumbuhan yang paling rendah dibandingkan dengan isolat lainnya, kemudian diikuti isolat V1 dan C2 (Gambar 2.A). Sedangkan pada pH 7, isolat J3 memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih baik (Gambar 2.B). masing-masing isolat BAL diketahui mempunyai daya hidup yang beragam pada kondisi pH rendah. Hal ini disebabkan mekanisme bakteri dalam mengatur internal pH, tetapi yang paling penting adalah perpindahan lokasi proton oleh enzim ATP-ase (Cotter and Hill, 2003). Kemampuan isolat bertahan hidup pada kondisi pH rendah disebabkan pH intraseluler dapat menyesuaikan dengan penurunan pH ekstraseluler sehingga hal ini tidak menyebabkan gradien proton (Hidayat *et al.*, 2018). Keragaman komposisi asam lemak dan protein sebagai penyusun membrane sel diantara spesies bakteri diduga dapat mempengaruhi keragaman ketahanan bakteri terhadap pH yang rendah (Linharesn *et al.*, 2011).

KESIMPULAN

Isolat BAL terpilih dari saluran pencernaan Itik Lokal Aceh memiliki kemampuan tumbuh pada media MRS broth dan menunjukkan kurva pertumbuhan pada fase lag terjadi selama 1-2 jam pertama waktu inkubasi kecuali pada isolat J1, J2, dan J3 terjadi fase lag pada 3 jam pertama inkubasi. Isolat BAL terpilih juga memiliki kemampuan tumbuh yang berbeda pada kondisi pH saluran pencernaan yaitu pH 2 dan 7.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Kementerian Indonesia untuk Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi (Kemristekdikti)

untuk pendanaan penelitian melalui Beasiswa Unggulan Dosen Dalam Negeri. Penulis juga akan melakukannya terima kasih kepada Ari Surya Sukarno atas segala teknisnya pendampingan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bertrand, B. L. 2019. Lag phase is a dynamic, organized, adaptive, and evolvable period that prepares bacteria for cell division: Minireview. *Journal of Bacteriology*. 201(7); 1-21.
- Cotter, P. D and C. Hill. 2003. Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* MMBR 67(3,); 429–453.
- Ehrmann. M. A., P. Kurzak., J. Bauer, and R.F. Vogel. 2002. Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. *Journal of Applied Microbiology*. 92; 966–975.
- García-Hernández, Y., T. Pérez-Sánchez., R. Boucourt., J.L. Balcázar., J. R. Nicoli., J. Moreira-Silva., Z. Rodriguea., H. Fuertes., O. Nuñez., N. Albelo and N. Halaibel. 2016. Isolation, characterization and evaluation of probiotic lactic acid bacteria for potential use in animal production. *Research in Veterinary Science* 108 ;125-132.
- Farner, D. S. 1942. The hydrogen ion concentration in avian digestive tracts. Downloaded from <http://ps.oxfordjournals.org/>. at NERL on June 26, 2015.
- Hidayat, M. N., R. Malaka., L. Agustina, and W. Pakiding. 2018. Characteristics isolate bacteria lactic acid of origin digestive tract of broiler as probiotic candidate for poultry. *International Journal of Scientific & Engineering Research* (9).
- Idoui, T. 2014. Probiotic properties of lactobacillus strains isolated from

- gizzard of local poultry. Iran. J. Microbiol. 6 (2); 22-25.
- Khalid, K. 2011. An overview of lactic acid bacteria. International Journal of Biosciences (IJB) 1 (3): 1-13.
- Kimprasit T, Sukontasing S, and Amavisit P. 2013. In vitro selection of potential lactic acid bacteria isolated from ducks and geese in Thailand. Kasetsart J Nat Sci 47: 261-270.
- Kolter, R., D. A. Siegele, and A. Tormo. 1993. The stationary phase of the bacterial life cycle. Annu. Rev. Microbiol. 47:855-74.
- Linharesn L. M., P. R. Summers., B. Larsen., P. C. Giraldo, and S. Witkin. 2011. Contemporary perspectives on vaginal ph and lactobacilli. American Journal of Obstetrics & Gynecology. 204(120):1-5.
- Maier, R. M. 2010. Bacterial Growth; Review of Basic Microbiological Concepts. Academic Press. Inc.
- Mardanela. 2016. Fase Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) tempoyak asal jambi yang disimpan pada suhu kamar. Jurnal Sain Peternakan Indonesia (JSPI). 11(1); 58 – 66.
- Nurhajati, T., K. Soepranianondo, and W. P. Lokapirnasari. 2016. Uji aktivitas pertumbuhan *enterobacter cloacae* selulolitik aerob rumen-1 isolat asal limbah cairan rumen sapi peranakan ongole. Jurnal Veteriner. 17 (3); 383-388.
- Rolfe, M. D., J. C. J. Rice., S. Lucchini., C. Pin., A. Thompson., A. D. S. Cameron., M. Alston., M. F. Stringer., R. P. Betts., J. Baranyi., M. W. Peck, and J. C. D. Hinton. 2012. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. Journal of Bacteriology. 194 (3); 686-701.
- Risna, Y. K. 2021. Isolasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan itik lokal asal Aceh dan kemampuannya sebagai probiotik. Disertasi. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada.
- Sopandi, T. dan Wardah. 2014. Mikrobiologi Pangan. C.V Andi Offset, Yogyakarta.
- Sri-Harimurti, E. S. Rahayu., Nasroedin, dan Kurniasih. 2007. Bakteri asam laktat dari intestin ayam sebagai agensia probiotik. Animal Production. 9(2);82-91.
- Sri-Harimurti, and B. Hardisaputro. 2015. Probiotics in poultry. Springer International Publishing Switzerland. 1-19.
- Taheri, H. R., H. Moravej., F. Tabandeh., M. Zaghari, and M. Shivazad. 2009. Screening of lactic acid bacteria toward their selection as a source of chicken probiotic. Poultry Science 88; 586–1593.
- Volk, W. A. and M. F. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Edisi Kelima. Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta.