

IDENTIFIKASI *LACTOBACILLUS GASSERI* DARI ASI: KARAKTERISASI DAN PENGUJIAN BIOKIMIA

**In-In Hanidah¹, Dimas Erlangga², Debby M. Sumanti¹, Willa Kusumah Wardani³,
Serli Grachia³, dan Imas Siti Setiasih¹.**

¹ Dosen Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran

² Dosen Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

³ Mahasiswa Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung – Sumedang Km.21, Jatinangor, Indonesia

Email: inin@unpad.ac.id; pinkyhanidah@yahoo.com

ABSTRAK

ASI dari ibu yang sehat memiliki potensi yang besar mengandung bakteri probiotik spesies *Lactobacillus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 20% dari sampel lima ASI Ibu menyusui usia 12 – 60 hari setelah melahirkan mengandung bakteri probiotik *Lactobacillus gasseri* dengan karakteristik morfologi: gram positif, katalase negative, non motil, anaerob, bentuk koloni bulat dengan permukaan cembung, warna koloni putih susu agak krem, tekstur koloni agak keras, koloni tumbuh dibagian tengah media agar (anaerob), sel berbentuk basil dengan ukuran sel 2,0 μm . sedangkan uji biokimia menunjukkan bahwa isolate *L. glasseri* terseleksi mampu menguraikan: D-Cellobiose, Saccharose, Maltotriose, Phosphatase, Leucine Arylamidase, Tryosine Arylamidase, Arbutin, Esculin hydrolysis, Ala-Phe-Pro_Arylamidase, N-Acetyl-D-Glucosamine, Phenylalanine Arylamidase, D-Glukose, 5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-glucoside, L-Proline Arylamidase, D-Mannose, Arginine GP, D-Maltose.

Kata kunci: *Lactobacillus gasseri*, probiotik, ASI.

ABSTRACT

*Breast milk from healthy mothers has a great potential to contain the probiotic bacteria of the Lactobacillus species. The results showed that 20% of the five samples of breast milk, at days 12 to 60 after birth contained probiotic bacteria of Lactobacillus gasseri with morphology of bacterial: gram-positive, catalase- negative, non-motile, anaerob, rounded colony shape with convex surface, the color colony of slightly creamy, rather hard colony texture, anaerobic, basil-shaped cells with a cell size of 2.0 μm . Biochemical tests show that selected *L. glasseri* isolates are able to decipher: D-Cellobiose, Saccharose, Maltotriose, Phosphatase, Leucine Arylamidase, Tryosine Arylamidase, Arbutin, Esculin hydrolysis, Ala-Phe-Pro_Arylamidase, N-Acetyl-D-Glucosamine, Phenylalanine Arylamidase, D-Glukose, 5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-glucoside, L-Proline Arylamidase, D-Mannose, Arginine GP, D-Maltose.*

Keywords: *Lactobacillus gasseri*, probiotic, breast milk

PENDAHULUAN

Probiotik merupakan kultur tunggal ataupun campuran bakteri hidup yang memiliki efek menguntungkan dengan meningkatkan keseimbangan bakteri dalam saluran pencernaan (Fuller, 1992 dalam Hartanti, 2005). Mikroflora yang umumnya digolongkan sebagai probiotik adalah yang memproduksi asam laktat seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* (Roberfroid, 2000).

Secara umum, bakteri genus *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, atau *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri anaerobic fakultatif dan *Bifidobacterium* merupakan bakteri pertama yang berkolonisasi di dalam usus bayi yang mengkonsumsi ASI (Marin et al., 2009)

L. gasseri dan *L. acidophilus* merupakan spesies utama dalam mikroflora manusia (Baltova&Zhechko, 2014). *L. gasseri* merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang, non spora, katalase negatif, dan bersifat anaerob (Falsen et al., 1999)

Bakteri probiotik pada ASI matur *foremilk* pada hari ke-10 mengandung bakteri probiotik sebanyak $5,3 \times 10^2$ cfu/ml (Hanidah&Elaz, 2015). Bakteri probiotik dapat ditemukan pada ASI sampai usia menyusui kurang dari 3 bulan (Portinson, 2013). Sampai saat ini, pemanfaatan strain probiotik (terutama *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*) direkomendasikan untuk menyeimbangkan mikroflora di dalam usus karena terbukti memberikan efek preventif dan terapeutik (Olivares et al., 2006).

Tujuan penelitian adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi *L. gasseri* dari ASI dengan umur 12 – 24 hari setelah bayi lahir dengan metode pengujian *Total Plate Count* (TPC), mikroskopik, motilitas, katalase, dan biokimia menggunakan alat Vitek seri 2.0.

METODE PENELITIAN

Sampel ASI: sebanyak 5 wanita menyusui ekslusif dengan kriteria: (1) wanita dengan riwayat sehat sampai sampel diambil; (2) masa kehamilan normal; (3) tidak ada masalah saat melahirkan baik bayi maupun ibunya; (4) tidak mengalami mastitis pada payudara. Semua relawan telah menandatangani Surat Pernyataan Persetujuan untuk ikut serta dalam penelitian (*Informed Consent*) tanpa paksaan sesuai ketentuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan yang dikeluarkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran.

Sampling: ASI yang diambil pada hari ke 12 – 90 setelah kelahiran. Kulit payudara dibersihkan dengan kain hangat steril, ASI dikumpulkan pada botol susu steril yang terhubung langsung dengan pompa ASI, selama perjalanan ke laboratorium disimpan pada *cool storage* suhu 4°C (Martin, et al., 2009).

Isolasi *L. gasseri*: sampel ASI diambil 1 ml, dilakukan pengenceran sampai 10^{-3} . Masing-masing pengenceran ditumbuhkan pada media MRS (Man Rogosa Sharpe, Oxoid), diinkubasi secara anaerobic dengan menggunakan *anaerobic jar* yang dilengkapi gas pack pada suhu 37°C selama 48 jam. Setiap koloni yang tumbuh dilakukan sub kultur ke dalam media MRS-broth diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Masing-masing isolat dilakukan pemurnian dengan cara metode gores kuadran (Labeda, 1990).

Identifikasi *L. gasseri*: Isolat yang terpilih diamati morfologinya melalui pewarnaan gram dan pengamatan mikroskop. Isolat gram positif dilanjutkan pengujian katalase dan motilitas. Setiap isolat katalase negatif dan non motil dilanjutkan pengujian biokimia dengan menggunakan alat Vitek 2.0 Casrd type: ANC testing instrument 00001658F4A9 (12903).

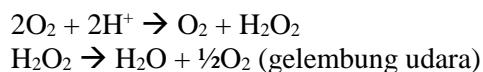
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi morfologi dari 5 sumber sampel ASI wanita menyusui usia 12 – 90 hari diperoleh 27 isolat koloni dan yang terseleksi dengan ciri morfologi: gram positif, anaerob, katalase negatif, dan non motil terdapat 14 isolat (Tabel 1).

Setiap bakteri memiliki dinding sel yang berfungsi untuk memberi bentuk dan kekuatan terhadap sel, mengatur pertukaran zat-zat dari dan kedalam sel, dan terletak antara kapsul dan membran sel. Bakteri gram positif hanya memiliki membran sel dan lapisan peptidoglikan sehingga lebih sensitif terhadap penisilin dan penghambatan oleh pewarna basa lebih tinggi (Sukarminah, dkk., 2016)

Pengujian katalase dilakukan dengan pemberian larutan H_2O_2 3% pada setiap isolat. Berdasarkan hasil pengujian katalase, 14 isolat murni yang terpilih menunjukkan hasil negative. Hal ini menunjukkan bahwa ke-27 isolat bakteri asam laktat (BAL) tersebut tidak memiliki flavoprotein yang dapat mereduksi O_2 untuk menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2) atau superoksida (O_2^-) dan tidak memiliki enzim

katalase yang dapat menguraikan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga hanya mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob dapat menguraikan senyawa H_2O_2 . Uji katalase positif ditandai dengan adanya reaksi antara H_2O_2 dengan enzim katalase seperti pada reaksi di bawah ini:



Tabel 1.
Hasil Uji Morfologi Sampel ASI

KODE ASI	Jumlah Koloni	Jumlah Isolat Gram Positif, Katalase negatif, Non motil	Spesies Lactobacillus
L ₁	4	2	<i>L. glasseri</i>
L ₂	3	1	-
L ₃	9	4	-
L ₄	4	1	-
L ₅	7	6	-

Bakteri memiliki berbagai aktivitas biokimia untuk pertumbuhan dan perbanyakan sel dengan menggunakan nutrisi yang diperoleh dari lingkungan sekitarnya. Transformasi biokimia dapat timbul didalam dan diluar dari bakteri yang diatur oleh katalis biologis yang dikenal sebagai enzim.

Setiap bakteri memiliki kemampuan dalam menggunakan enzim yang dimilikinya untuk degradasi karbohidrat, lemak, protein, dan asam amino. Isolat yang terpilih sebagai kandidat *L. glasseri* dilakukan uji lanjut biokimia dengan menggunakan alat Vitek seri 2.0. Hasil pengujian biokimia menunjukkan dari 14 isolat murni hanya 1 isolat yang teridentifikasi sebagai *L. glasseri* dengan hasil pengujian tersaji pada Tabel 2.

Hasil uji positif pada Tabel 2 sebagai indikator bahwa isolat kandidat *L. glasseri* mampu menguraikan senyawa tersebut. Pengamatan aktivitas biokimia atau metabolisme mikroorganisme bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menguraikan molekul yang kompleks maupun sederhana dari karbohidrat, lemak, protein dan asam nukleat.

Isolate *L. glasseri* terseleksi memiliki ciri morfologi: bentuk koloni bulat dengan permukaan cembung, warna koloni putih susu agak krem, tekstur koloni agak keras, koloni tumbuh dibagian tengah media agar (anaerob), sel berbentuk basil dengan ukuran sel 2,0 μm .

Tabel 2.

Hasil Uji Biokimia *L. glasseri* dari ASI L₁

No	Jenis Uji	Hasil
1	D-Galactose	-
2	D-Cellobiose	+
3	Saccharose	+
4	Beta-Galactopyranosidase Indoxyl	-
5	Maltotriose	+
6	Phosphatase	+
7	Leucine Arylamidase	+
8	Tryosine Arylamidase	+
9	Arbutin	+
10	Alpha-Arabinosidase	-
11	Esculin hydrolysis	+
12	L-Arabinose	-
13	ELLMAN	-
14	Ala-Phe-Pro_Arylamidase	+
15	N-Acetyl-D-Glucosamine	+
16	5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-alpha-galactoside	-
17	Beta-D-Fucosidase	-
18	d-Ribose 2	-
19	Phenylalanine Arylamidase	+
20	D-Glukose	+
21	5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-glucoside	+
22	Beta Mannosidase	-
23	5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-N-acetyl-glucosamide	-
24	Phenylphosphonate	-
25	L-Proline Arylamidase	+
26	D-Mannose	+
27	Urease	-
28	Arginine GP	+
29	5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-alpha-mannoside	-
30	Alpha-L-Arabinofuranoside	-
31	L-Pyrrolidonyl-Arylamidase	-
32	D-Maltose	+
33	5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-glucuronide	-
34	Pyruvate	-
35	Alpha-L-Fucosidase	-
36	D-xylose	-

Penggunaan bakteri probiotik untuk kesehatan mempunyai keunggulan karena merupakan pendekatan alami dengan tidak mengganggu mikroflora alami dalam tubuh manusia. Probiotik mampu merangsang fungsi antibodi dalam sistem kekebalan tubuh sehingga mampu meningkatkan daya tahan tubuh. Kultur probiotik dalam usus juga dapat mengurangi bahaya penyerapan bahan kimia yang bersifat karsinogen dengan menetralkasirinya, mecegah kerusakan DNA pada sel tertentu.

tu, menghasilkan komponen yang menghambat pertumbuhan sel tumor, dan merangsang sistem kekebalan untuk lebih tahan terhadap pembelahan sel kanker (Surono, 2004).

Kajian mengenai *L. glasseri* teridentifikasi perlu diuji lebih lanjut mengenai sifat morfologi sel, viabilitas sel, dan karakteristik sel sehingga dapat diperoleh metode yang tepat untuk peremajaan dan aplikasi pada produk pangan.

KESIMPULAN

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *L. glasseri* hanya ditemukan 20% dari sampel ASI wanita menyusui usia 12 – 60 hari.
2. Isolate *L. glasseri* terseleksi memiliki ciri morfologi: gram positif, katalase negative, non motil, anaerob, bentuk koloni bulat dengan permukaan cembung, warna koloni putih susu agak krem, tekstur koloni agak keras, koloni tumbuh dibagian tengah media agar (anaerob), sel berbentuk basil dengan ukuran sel 2,0 μm .
3. Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa isolate *L. glasseri* terseleksi mampu menguraikan: D-Cellobiose, Saccharose, Maltotriose, Phosphatase, Leucine Arylamidase, Tryosine Arylamidase, Arbutin, Esculin hydrolysis, Ala-Phe-Pro_Arylamidase, N-Acetyl-D-Glucosamine, Phenylalanine Arylamidase, D-Glukose, 5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-glucoside, L-Proline Arylamidase, D-Mannose, Arginine GP, D-Maltose.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih dan penghargaan yang tak terhingga disampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Padjadjaran atas bantuan dana penelitian yang diberikan selama penelitian melalui program RDPU.
2. Prodi Teknologi Pangan - FTIP UNPAD dan Laboratorium Bakteriologi - Biofarma, atas fasilitas laboratorium yang diberikan untuk kelancaran penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Baltova, Kalinka and Zhechko Dimitrov. 2014. Probiotic and Cultural Characteristic of Strain *Lactobacillus gasseri* 4/13 of Human Origin. Biotechnology & Biotechnological Equipment Vol. 28, No. 6. P: 1084-1088.
- Falsen, E, Pascual, C, Sjoden, B, Ohlen, M, & Collins, MD. (1999) Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus* species from human sources: description of *Lactobacillus iners* sp. Nov. Int J Syst Bacteriol. 49. 217-221.
- Hanidah, In-In., dan E. Lembong. 2015. Identifikasi Kandidat *Bifidobacterium bifidum* dan *Lactobacillus reuteri* dari Air Susu Ibu. Jurnal Teknotan vol. 9 No. 3. Hal. 1494-1498.
- Hartanti, L. 2005. Pengaruh Rasio dan Konsentrasi Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, *Sterptococcus thermophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* Terhadap Karakteristik Yoghurt Probiotik. Skripsi. FTIP. Unpad Jatinangor.
- Labeda, P. David. 1990. Isolation of Biotechnological Organisms from Nature. McGraw-Hill Publishing Co. New York.
- Martin, R., E. Jimenez, H. Heilig, L. Fernandez, M.L. Marin, E.G. Zeotendal, and J.M. Rodriguez. 2009. Isolation of Bifidobacteria from Breast Milk and Assessment of the Bifidobacterial Population by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis and Quantitative Real-Time PCR. Applied and Environmental Microbiology, p. 965–969.
- Olivares, M., M. Diaz-Ropero, N. Gomez, F. Lara-Villoslada, S. Sierra, J.A. Maldonado, R. Marti'n, E. Lopez-Huertas, J.M. Rodriguez, J. Xaus. 2006. Oral Administration of Two Probiotic Strains, *Lactobacillus gasseri* CECT5714 and *Lactobacillus coryniformis* CECT5711, Enhances the Intestinal Function of Healthy Adults. Int'l J. of Food Microbiology 107. P:104-111.
- Portinson, Salme. 2013. Clinical effects of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. Third International Symposium on Probiotics and Prebiotics, Microbiome, Gut-brain Axis in Health and Disease: p35. Jakarta. Sweden.
- Roberfroid, M. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods. Am J ClinNutr 2000 Jun;71(6 Suppl):1682S-7S.
- Sukarminah, Een., Debby M. Sumanti, dan In-In Hanidah. 2016. Mikrobiologi Pangan. Unpad Press. Bandung.
- Surono, I.S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. Penerbit Tri Cipta Karya, Jakarta.

