

SKRIPSI

**ISOLASI DAN HITUNG KUMAN BAKTERI ASAM LAKTAT PADA ASI
SEGAR DAN ASI YANG DISIMPAN**



Oleh :

**NUR AFNI
NIM : 1913353031**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG**

2023



a).Tempat/tgl : Mongan Poula, 22-02-1996; b).Nama Orang Tua : (Ayah) Alm. Aidil Fitri (Ibu) Lina ; c).Program Studi : D IV Analis Kesehatan/TLM; d).Fakultas Ilmu Kesehatan; e).No NIM : 1913353031; f).Tgl Lulus : 25 Agustus 2023; g).Predikat lulus : Dengan Pujian; h).IPK : 3,63; i). Lama Studi : 4 Tahun; j). Alamat: Muara Sikabalan.

ISOLASI DAN HITUNG KUMAN BAKTERI ASAM LAKTAT PADA ASI SEGAR DAN ASI YANG DISIMPAN

SKRIPSI

Oleh: Nur Afni

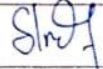
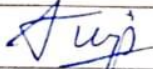

Pembimbing 1. Sri Indrayati, M.Si., 2. Dr. rer. nat Ikhwan Resmala Sudji, M.Si

Abstrak

Air susu ibu (ASI) ialah makanan pertama yang alami untuk bayi. Kegiatan meyetok ASI merupakan hal yang sudah biasa dilakukan ibu menyusui di negara-negara berkembang termasuk Indonesia. Bakteri Asam Laktat merupakan jenis bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, hydrogen peroksida, anti mikroba dan hasil metabolisme lain yang memberikan pengaruh positif bagi produktifitas. Waktu variasi penyimpanan yaitu hari ke-0, hari ke-1 dan hari ke-2. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan Bakteri Asam Laktat pada ASI segar dan ASI yang disimpan. Jenis penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen. Sampel yang dianalisis pada penelitian ini ada 2 sampel ASI. Penanaman ASI menggunakan metode pour plate (Metode tuang). Berdasarkan hasil penelitian dari isolasi Bakteri asam laktat pada ASI segar dan ASI yang disimpan dapat tumbuh pada media MRSA. Jumlah kuman bakteri pada ASI S1 segar 98×10^7 Cfu/ml, S1 simpan 1 hari 72×10^7 Cfu/ml, S1 simpan 2 hari 51×10^7 Cfu/ml dan S2 segar 87×10^7 Cfu/ml, S2 simpan 1 hari 66×10^7 Cfu/ml, S2 simpan 2 hari 46×10^7 Cfu/ml. Disimpulkan terdapat 4 isolat Bakteri yang menunjukkan hasil gram positif namun untuk memastikan 4 isolat tersebut adalah Bakteri Asam Laktat maka harus dilakukan uji identifikasi lanjut terlebih dahulu.

Kata kunci : ASI, Bakteri Asam Laktat (BAL), Penyimpanan

Skripsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan lulus pada Agustus 2023 Abstrak telah disetujui oleh penguji.

Tanda Tangan	1 	2 	3 
Nama Terang	Sri Indrayati, M.Si NIDN: 1012128901	Dr. rer. nat Ikhwan Resmala Sudji, S.Si, M.Si NIDN: 1023097901	Dr. Almurdi, DMM, M.kes NIDN: 0023086209

Mengetahui
Ketua Program Studi : Dr. apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air susu ibu (ASI) ialah makanan pertama yang alami untuk bayi. ASI menyediakan semua energi dan nutrisi yang dibutuhkan bayi untuk bulan-bulan pertama kehidupan. Menyusui adalah cara yang sangat baik dalam menyediakan makanan ideal bagi pertumbuhan dan perkembangan bayi yang sehat. Agar ibu dapat mempertahankan ASI eksklusif selama 6 bulan, WHO merekomendasikan agar melakukan inisiasi menyusui dalam satu jam pertama kehidupan, bayi hanya menerima ASI tanpa tambahan makanan atau minuman, termasuk air, menyusui sesuai permintaan atau sesering yang diinginkan bayi, dan tidak menggunakan botol atau dot (WHO, 2018).

Di Indonesia cakupan ASI eksklusif sekitar 37,3 %, dengan jumlah terbesar di Bangka Belitung 56,7 % dan prosentase terendah sebesar 20,3% di Nusa Tenggara Barat. Prosentase pemberian ASI eksklusif terbesar di Provinsi Jawa Timur terdapat di Kota Blitar sebesar 80 %, sedangkan yang terendah di Kabupaten Pacitan sebesar 12,01% (Yetiani, 2020). Namun, apabila dibandingkan dengan negara lain, seperti Bangladesh, di mana 65 persen bayi baru lahir diberi ASI eksklusif, angka ini masih lebih rendah (UNICEF, 2021).

Hal tersebut diatas disebabkan karena beberapa faktor isu yang paling utama adalah wanita banyak yang bekerja sehingga mereka beranggapan tidak dapat memberikan ASI eksklusif kepada bayinya.(Yanti & Helina, 2019) dan ASI yang

tidak lancar (Bahriyah dkk., 2017). Menurut penelitian, semakin banyak ibu beraktivitas di luar rumah, semakin sedikit ASI eksklusif yang diberikan kepada

bayi (Matare dkk., 2019). Menurut Medela (2011), ketakutan terbesar yang menghalangi prospek 'Bank ASI' untuk jangka waktu yang cukup lama adalah kemungkinan kontaminasi bakteri dan pertumbuhan bakteri patogen dari ASI yang disimpan, sehingga membuat ASI tidak aman untuk dikonsumsi. Selain itu penurunan pH ASI selama penyimpanan mungkin menunjukkan pertumbuhan bakteri yang berlebihan dan kebanyakan terjadinya kontaminasi pada ASI yang disimpan dan kemungkinan terjadi pada ibu yang tidak mengikuti metode yang sesuai dan dianjurkan. (Yanti & Helina, 2019).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan jenis bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat, hydrogen peroksida, anti mikroba dan hasil metabolisme lain yang memberikan pengaruh positif bagi produktivitas. Istilah BAL asal mulanya ditujukan hanya untuk sekelompok bakteri yang menyebabkan keasaman pada susu (milk souring organisms), Suhu optimum bagi pertumbuhan BAL adalah 10° C - 45° C sedangkan pH optimumnya 5,5 – 5,8 (Rasyid et al., 2021). Pada mulanya BAL terdiri dari empat genus, yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus*. Namun, klasifikasi terbaru menggolongkan BAL ke dalam 12 genus, yaitu *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragragenococcus*, *Vagococcus* dan *Weissella* (Ray and Bhunia, 2008).

Hasil penelitian Suharti (2016) mengatakan bahwa ada pengaruh yang signifikan pada lama penyimpanan ASI hingga 5 hari terhadap keasaman pada ASI. Asumsi peneliti, penurunan pH yang terjadi di dalam ASI selama penyimpanan terjadi karena bakteri asam laktal (BAL) yang terdapat dalam ASI

mampu memecah laktosa yang ada pada ASI menjadi asam laktat. Sehingga kondisi tersebutlah yang menyebabkan penurunan keasaman ASI pada hari ke-15 di suhu -150 C dan hari ke-5 pada suhu 4⁰C. Dengan demikian, jika total bakteri asam laktat semakin mengalami perubahan oleh pengaruh lama penyimpanan, maka diduga kadar asam laktat dalam ASI juga akan terpengaruh.

Berdasarkan penelitian Djide (2008) bahwa dalam air susu ibu laktasi ditemukan bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik, yang berpotensi untuk menurunkan kolesterol. Penelitian yang sama juga telah dilakukan oleh Nuraida et al. (2007) yang telah mengisolasi beberapa BAL dari ASI. Dari 31 sampel ASI, diperoleh 87 isolat BAL. Beberapa diantaranya menunjukkan ketahanan yang baik terhadap asam dan atau garam empedu. Ketahanan terhadap asam dan garam empedu merupakan prasyarat suatu mikroorganisme dapat digunakan sebagai probiotik karena mengindikasikan kemampuannya bertahan hidup dalam saluran pencernaan.

Hasil penelitian lain juga ditunjukkan oleh Nuraida et al. (2011) yang telah melakukan evaluasi secara *in vitro* terhadap kemampuan isolat BAL asal ASI untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongulasi garam empedu. Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Serrano-Nino et al. (2016) yang melakukan isolasi BAL dari ASI yang berumur 4 bulan pasca kelahiran. Isolat BAL terpilih menunjukkan *Lactobacillus fermentum* JCM3 memiliki kemampuan sebagai probiotik.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti akan melakukan penelitian dengan judul “Isolasi dan Hitung Kuman Bakteri Asam Laktat pada ASI Segar dan ASI yang Simpan”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini bagaimana keberadaan Bakteri Asam Laktat pada ASI segar dan ASI yang disimpan?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Dari perumusan masalah diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri asam laktat pada ASI segar dan ASI simpan

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengisolasi Bakteri asam laktat pada ASI segar dan ASI yang disimpan selama 1 dan 2 hari pada suhu 4⁰C.
2. Menghitung Bakteri asam laktat pada ASI segar dan ASI yang disimpan selama 1 hari dan 2 hari pada suhu 4⁰C.
3. Membandingkan hasil isolasi dan keberadaan Bakteri asam laktat pada ASI segar dan ASI yang disimpan selama 1 hari dan 2 hari pada suhu 4⁰C (Refrigerator)

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

1. Peneliti dapat terampil terhadap teknik yang dikerjakan
2. Menambah pengetahuan / wawasan bagi peneliti mengenai cara mengisolasi dan menghitung kuman Bakteri asam laktat pada ASI segar dan ASI yang disimpan.

3. Menambah pengetahuan / wawasan bagi peneliti dalam penerapan ilmu yang didapat selama perkuliahan tentang cara mengisolasi dan menghitung kuman Bakteri asam laktat pada ASI segar dan ASI yang disimpan.

1.4.2 Bagi Institusi

Dapat dijadikan sebagai bahan referensi terutama pada bidang bakteriologi bagi mahasiswa serta penelitian lebih lanjut mengenai cara mengisolasi dan menghitung kuman Bakteri asam laktat pada ASI segar dan ASI yang disimpan.

1.4.3 Bagi Teknisi Laboratorium Medis

Menambah pengetahuan informasi kepada teknisi laboratorium medis tentang cara mengisolasi dan menghitung kuman Bakteri asam laktat pada ASI segar dan ASI yang di simpan.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Isolasi Bakteri Asam Laktat dan Media MRSA

Air susu ibu (ASI) merupakan makanan pertama yang diberikan untuk bayi yang baru lahir, Menurut Lara-Villoslada et al. (2007), mengatakan pada abad ke 21 didapatkan laporan hasil penelitian yang menunjukkan adanya Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam ASI dan merupakan bakteri probiotik, pada ASI ditemukan bakteri asam laktat yang mampu menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan dari bakteri patogen (sri sinto dewi, 2007).

Menurut Puspawati dkk (2010), dalam hasil penelitiannya menjelaskan bahwa proses penyimpanan dapat menurunkan jumlah bakteri asam laktat (BAL) sehingga perannya sebagai probiotik juga akan menurun. Penyimpanan kultur dalam keadaan segar yang mana dalam penelitian ini digunakan adalah ASI segar yang tidak dapat dilakukan untuk jangka waktu yang lama. Kita ketahui bahwa penyimpanan ASI tidak dapat dihindari terutama dikalangan ibu bekerja yang kembali bekerja setelah cuti melahirkan.

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah ASI dari 2 orang ibu yang memiliki bayi usia 2-6 bulan, sampel ini dilakukan perlakuan 0-2 hari. Perlakuan 0 hari langsung dilakukan pengenceran sedangkan perlakuan 1-2 hari disimpan di refrigerator (4°C). Pada penelitian ini metode tuang dimana pengenceran dilakukan 10^{-1} hingga 10^{-7} .

Adapun media yang digunakan untuk mengisolasi bakteri asam laktat dari susu adalah media MRSA (*The Man Rogosa Sharpe agar*) karena media tersebut mengandung nutrient yang merupakan tempat kehidupan dan pertumbuhan Bakteri asam laktat yaitu pepton, beef extract yeast extract, K_2HPO_4 , Ammonium sitrat, Glukosa, Natrium Asetat, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Bakteri yang diduga sebagai bakteri asam laktat, merupakan bakteri yang membentuk zona bening di sekitar koloni yang tumbuh pada media MRSA+ CaCO_3 . Zona bening di sekitar koloni terbentuk setelah diinkubasi selama 48 jam. Terbentuknya zona bening di sekitar koloni disebabkan karena asam yang dihasilkan oleh bakteri akan bereaksi dengan CaCO_3 sehingga menghasilkan Ca-laktat yang larut dalam media sehingga terbentuk zona bening (Dewi dan Anggraini, 2012).

5.2 Hitung Kuman Bakteri Asam Laktat Pada ASI

Pada penelitian ini dari hitung jumlah koloni didapatkan hasil yaitu pada sampel S1 segar didapatkan koloni sebanyak 98×10^7 cfu/ml dan sampel S1 simpan 1 hari sebanyak 72×10^7 , sampel S1 simpan 2 hari sebanyak 51×10^7 cfu/ml dan sampel S2 segar sebanyak 87×10^7 cfu/ml sedangkan pada perlakuan simpan 1 hari pada sampel S2 didapatkan koloni sebanyak 66×10^7 cfu/ml dan pada sampel S2 perlakuan simpan 2 hari didapatkan koloni sebanyak 46×10^7 cfu/ml. Dari hasil tabel 4.2 terdapat perbedaan rerata jumlah koloni pada kelompok penyimpanan ASI di dalam refrigerator (4^0C) yaitu terjadi penurunan jumlah koloni secara signifikan, semakin lama penyimpanan ASI di refrigerator maka semakin menurun jumlah koloni dalam ASI (Yanti & Helina, 2019). Menurut Puspawati dkk (2010), dalam hasil penelitiannya menjelaskan bahwa proses penyimpanan dapat menurunkan jumlah bakteri asam laktat (BAL) sehingga perannya sebagai probiotik juga akan menurun. Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan (BPOM) Nomor 13 Tahun 2019 menyebutkan bahwa batas minimal mikroba bakteri pada susu yang layak dikonsumsi $< 1 \times 10^4$ CFU/ml (Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia, 2019).

Pada penelitian ini semua isolat terjadi peningkatan Bakteri 3x lipat dari berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) yang menyebutkan bahwa batas minimal mikroba bakteri pada susu yang layak dikonsumsi, yang kemungkinan terjadi kontaminasi pada wadah yang kurang steril, puting susu yang tidak dibersihkan, dan pada saat pengenceran terjadi kontaminasi. Jika angka pelat totalnya tinggi, hal ini menunjukkan bahwa standar kebersihan tidak terpenuhi selama pembuatan, pemrosesan, dan pengemasan susu,

serta kualitas susu dan bahan tambahan lainnya yang buruk. (Puspandari & Isnawati, 2015). Menurut Budiyo (2009), secara alamiah susu mengandung bakteri terkontaminasi dari sumbernya: puting, ambing, dan rambut, jika susu tidak ditangani secara tepat, maka akan menimbulkan jumlah bakteri dalam susu dapat berkembang dengan cepat.

5.3 Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat Pada ASI

Berdasarkan morfologi tabel 4.3 karakteristik koloni yang didapatkan yaitu pada isolat S1 segar hari berwarna cream, tepi bulat, diameter 0,4 mm dan permukaan cembung, pada isolat S1 simpan 2 hari berwarna putih susu, tepi bulat, diameter 0,1 mm dan permukaan datar, pada isolat S2 segar berwarna putih susu, tepi bulat, diameter 0,3 mm dan permukaan cembung sedangkan isolat S2 simpan 2 hari berwarna cream, tepi bulat, diameter 0,2 mm dan permukaan datar, hasil penelitian sama dengan hasil penelitian Ibrahim, dkk. (2015) yang mengatakan bahwa isolat bakteri asam laktat mempunyai karakteristik koloni yaitu warna putih susu, tepi bulat, permukaan halus dan cembung.

Setelah diperoleh pengamatan morfologi secara makroskopis dari keempat isolat, selanjutnya dilakukan karakterisasi morfologi bakteri secara mikroskopis dimana pengamatan ini dilakukan dengan pewarnaan gram. Berdasarkan hasil pewarnaan gram pada tabel 4.4 diketahui bahwa keempat isolat berwarna ungu, pada isolat S1 segar, S2 segar, S2 simpan 2 hari bentuk sel *coccus* (bulat) dan pada isolat S1 simpan 2 hari bentuk sel basil (batang). Hal ini menunjukkan bahwa keempat isolat tersebut bersifat gram positif. Bakteri gram positif memiliki kemampuan mempertahankan cat utama kristal violet setelah dicuci dengan alkohol, sehingga bentuk sel warna keunguan (Tabel 4.4). Menurut

Putri & Kusdiyantini (2018) bakteri yang dapat menahan cat warna ungu (kristal violet) meskipun telah didekolorisasi dengan alkohol atau aseton sehingga memberi warna ungu pada sel bakteri dinamakan bakteri Gram positif. Sebaliknya, bakteri yang tidak dapat menahan zat warna Kristal violet setelah dekolorisasi dengan alkohol sehingga akan menyerap cat safranin dengan ciri berwarna merah merupakan bakteri Gram negatif. Kemampuan bakteri Gram positif mempertahankan cat kristal violet disebabkan karena dinding sel bakteri Gram positif mempunyai kandungan lipid yang lebih rendah dibandingkan bakteri Gram negatif, sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah terdegradasi akibat perlakuan dengan alkohol. Dinding sel yang terdegradasi menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat warna kristal violet tidak dapat keluar dari sel dan sel akan tetap berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif terlihat berwarna merah karena bakteri kehilangan pewarna kristal violet pada saat pembilasan dengan alkohol namun dapat menyerap pewarna terakhir yaitu safranin. Bakteri Gram negatif mengandung lipid, atau substansi seperti lemak dalam presentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri Gram positif (Agustina, dkk., 2018).

Pada penelitian ini berhasil menumbuhkan/mengkultur bakteri dari air susu ibu (ASI). Dari keempat sampel uji, semua bakteri yang tumbuh tidak menunjukkan koloni atau spesies Bakteri asam laktat karena dari media MRSA tidak nampak zona bening pada media. Hal ini mungkin disebabkan oleh belum optimalnya proses pemurnian kultur bakteri dari ASI. Pemeriksaan penelitian hanya mengkultur satu koloni saja dari banyak koloni yang tumbuh dari kultur

bakteri, seharusnya dilakukan biakan murni dari masing-masing koloni yang berbeda.

Menurut Abubakr & Al-Adiwish, (2017), bakteri asam laktat adalah bakteri Gram positif, tidak terbentuk spora, katalase negatif, anaerobik yang dapat tumbuh dilingkungan oksigen dan pada peragian karbohidrat (glukosa dan laktosa) terutama membentuk asam laktat, dalam klasifikasi tersebut bakteri asam laktat termasuk dalam genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Bifidobacterium*. Penelitian Djide (2008) mampu mengisolasi bakteri probiotik dari ASI yaitu genus *Lactobacillus* yang dapat berpotensi dapat menurunkan kolesterol.

