

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI RUMEN KERBAU

Oleh :
Yantyati Widyastuti

Pendahuluan

Ruminansia sangat tergantung pada hasil fermentasi yang terjadi di dalam rumennya berupa asam lemak terbang (volatile fatty acid, VFA) yang selanjutnya dimanfaatkan sebagai energi. Di dalam rumen mikroba yang paling berperan dalam fermentasi pakan yang dikonsumsi adalah bakteri. Jumlah dan jenisnya sangat bervariasi tergantung jenis pakan yang dikonsumsi.

Ada dugaan bahwa kerbau mempunyai kemampuan mencerna serat kasar lebih efisien dibanding ternak lain, tetapi informasi yang menunjang, terutama mengenai mikroba rumennya belum banyak dilaporkan kecuali fungsinya (Ho *et al.*, 1988).

Maksud dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi jenis-jenis bakteri rumen dari kerbau yang mengkonsumsi jerami padi.

Bahan dan Cara Kerja

Ransum kerbau

Dua jenis ransum masing-masing diberikan pada seekor kerbau Jawa dewasa, yaitu :

1. silase jerami padi dengan penambahan 3% molase dan dedak,
2. silase jerami padi dengan penambahan 20% kotoran ayam.

Kedua ransum adalah hasil fermentasi selama 4 minggu dan telah mencapai pH 3,8 - 4,0. Ransum dan air diberikan *ad libitum* pada jam 08.00 setiap hari.

Persiapan contoh bakteri

Contoh rumen berupa cairan dan padatan dikoleksi dari rumen kerbau melalui fistula. Koleksi dilakukan 3 jam setelah makan. Contoh rumen cairan dan padatan, dalam perbandingan yang sama, dicampur dan digiling dengan penggilingan (Omni Vortex, SORVALL Inc. Newton Conn., USA) selama 1 menit, kemudian disaring pada 1 lapis kain saring. Pengenceran dilakukan pada larutan anaerob dengan kelipatan 10 kali, sehingga diperoleh contoh pada tingkat pengenceran 10^5 , 10^6 dan 10^7 . Komposisi larutan pengencer (per 100 ml) adalah larutan mineral 1 (0,6% KH_2PO_4), 3,75 ml; larutan mineral 2 (1,2% NaCl , 1,2% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,6% KH_2PO_4 , 0,25% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 0,16% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 3,75 ml; larutan resazurin 0,1%, 0,1 ml; L-cysteine HCl, H_2O , 0,05%; L-ascorbic acid, 0,01 g; larutan 8% Na_2CO_3 , 5 ml; agar, 0,05 g; dan aquadest 86 ml.

Sebanyak 0,2 ml contoh dari ketiga tingkat pengenceran diinokulasikan pada medium RGCSMA (Minato *et al.*, 1989). Inokulasi dilakukan pada medium yang dicairkan (suhu sekitar 50°C), kemudian didinginkan pada "roller tube".

Karakterisasi isolat bakteri

Karakterisasi terdiri dari :

1. Pengamatan bentuk sel dan pewarnaan Gram di bawah mikroskop,
2. Uji motilitas yang dilakukan bersamaan dengan uji produksi hidrogen sulfid.

Medium terdiri dari (per 100 ml) : larutan mineral 1, 7,5 ml; larutan mineral 2, 7,5 ml; trypticase, 1,5 g; glukose, 35 mg; maltosa, 35 mg; cellobiosa, 35 mg; larutan resazurin 0,1%, 0,1 ml; ammonium iron (III) citrate, 50 mg; cairan rumen, 20 ml; Na_2CO_3 0,4 g; L-cysteine HCl. H_2O , 50 mg; agar, 0,3 g; dan aquadest, 60 ml. Inkubasi dilakukan pada suhu $37-39^\circ\text{C}$ selama 4 hari.

3. Uji fermentasi karbohidrat, meliputi glukosa, maltosa, cellobiosa, xylose, laktosa, rhaminosa, inulin, pektin, pati dan mannitol. Masing-masing karbohidrat sebanyak 0,5% ditambahkan pada medium basal (Bryant *et al.*, 1958). Inkubasi dilakukan pada suhu $37-39^\circ\text{C}$ selama 4 hari. Pengujian dengan larutan 0,1% bromothymol blue (BTB), kecuali pati dengan larutan lugol.

Hasil dan Pembahasan

Sebanyak 49 isolat telah diisolasi dari 2 ekor kerbau masing-masing dengan kode B dan C untuk kerbau yang diberi ransum 1 dan ransum 2. Selama pemeliharaan sebagian besar isolat terkontaminasi dan 22 isolat dapat dimurnikan kembali. Hasil pengamatan bentuk sel dan pewarnaan Gram disajikan pada Tabel 1. Tidak banyak variasi morfologi yang tampak dari isolat yang diperoleh.

Kelompok I diduga termasuk marga *Bacteroides*, berdasarkan hasil fermentasi glukosa, maltosa dan cellobiosa (Hungate, 1966). Dari hasil tersebut (seluruhnya menghasilkan asam) belum dapat dipisahkan antara *B. ruminicola* atau *B. succinogenes*.

Tabel 1. Pengelompokan berdasarkan morfologi dan pewarnaan Gram

Kel.	Morfologi	Gram	Ukuran (μ)	Jumlah Isolat
I.	Batang pendek	-	1,0-2,0 x 0,5	5
II.	Batang pipih/panjang	-	0,8-3,0 x 0,4	3
III.	Bulat (menyebarkan)	+	0,4-0,6	3
IV.	Bulat (rantai)	+	0,4-0,6	9
V.	Batang berspora	+	1,0-2,0 x 0,5	1
VI.	Batang berspora	-	1,0 x 0,5	1
				22

Hasil fermentasi karbohidrat belum dapat dilaporkan seluruhnya, karena baru beberapa isolat yang diuji dengan adanya pengulangan, tetapi dari hasil uji glukosa, maltosa dan cellobiosa dapat dipakai untuk membedakan secara kasar. Berdasarkan hasil yang didapat, isolat dari kelompok II diduga termasuk marga *Bacteroides*.

Pada kelompok III, dari data fermentasi glukosa, maltosa dan cellobiosa, 2 isolat tidak memfermentasikan maltosa (B 8-4 dan B 6-4), hal ini membedakan 2 jenis dalam marga *Ruminococcus*, yaitu *R. albus* dan *R. flavo-*

faciens (Hungate, 1966). Dari data ini, kelompok III terdiri dari 2 isolat *R. flavofaciens* dan 1 isolat *R. albus*.

Sebagian besar isolat dari kelompok IV berasal dari koloni yang menghasilkan pigment orange yang menunjukkan reaksi Gram positif, tidak motil, berdiameter sekitar 0,6 μ dan tampak membentuk rantai adalah *Streptococcus bovis* (Buchanan & Gibbons, 1974), tetapi tidak semua isolat memfermentasikan glukosa, maltosa dan cellobiosa (Hungate, 1966). Diduga sebagian termasuk marga Ruminococcus (Hungate, 1966). Dua isolat batang berspora dari kelompok V dan VI masing-masing menunjukkan reaksi Gram positif dan negatif, keduanya termasuk marga Clostridium. Keduanya mampu memfermentasikan inulin, walaupun isolat dari kelompok VI (C 8-6) tidak memfermentasikan maltosa, keduanya diduga adalah *C. locheadii* (Hungate, 1966).

Hasil penelitian yang diperoleh masih sangat terbatas, data produk fermentasi glukosa yang berupa VFA sangat diperlukan dalam karakterisasi bakteri. Analisis ini belum dapat dilakukan karena belum tersedia standar VFA.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih ditujukan kepada Dr. M. Winugroho dari Balitnak dan Ir. Erika dari IPB yang telah bersedia memberikan cairan rumen kerbau untuk penelitian ini.

Pustaka

- Bryant, M.P., Small, N., Bouma, C. & Chu, H. 1958. *Bacteroides ruminicola* n sp. and *Succinomonas amylolytica* - the new genus and species. J. Bacteriol. 76 : 15 - 23.
- Buchanan, R.E. & Gibbons, N.E. (Ed). 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed., The Williams & Wilkins Co, Baltimore.
- Ho, Y.W., Abdullah, N. & Jalaludin, S. 1988. Potential of anaerobic rumen fungi in the utilization of agricultural by-products as feed resources for ruminant. Belum dipublikasikan.

Hungate, R.E. 1966. The rumen and its microbes. Academic Press. New York. p. 82-87.

Minato, H., Ishizaki, S., Adachi, Y. & Mitsumori, M. 1989 Effect on rumen microbial population of ammonia treatment of rice straw forage for steers. J. Gen. Appl. Microbiol., 35 : 113 - 124.