



ANALISIS MOLEKULER BAKTERI ASAM LAKTAT PADA ISOLAT MEKONIUM BAYI BARU LAHIR MENGGUNAKAN PRIMER 16sRNA METODE PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)

Sri Anggarini,¹Sanatang²,Nasti³
nastitawulo02@icloud.com
D-IV TLM Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Mandala Waluya

ABSTRAK

Mekonium adalah suatu materi berwarna hijau gelap yang terdapat dalam saluran cerna janin dalam kandungan. Mekonium tersebut terdiri dari sekresi gastrointestinal fetus, sel debris, mucus, darah, lanugo, dan verniks. Tujuan penelitian ini untuk mendeteksi potensi Bakteri Asam Laktat pada mekonium bayi baru lahir dengan menggunakan metode PCR (*polymerase Chain Reaction*). Hasil pembiakan pada media MRSA menunjukkan pertumbuhan koloni mekonium bayi yang mengkonsumsi susu formula (F13A, F23A, F34A, F12B, dan F11D) mekonium bayi yang lahir secara Caesar (C23A) dan mekonium bayi yang mengkonsumsi ASI (A11A dan A14A), sedangkan pada mekonium bayi yang lahir Normal tidak ada pertumbuhan koloni. Hasil karakterisasi morfologi ini menunjukkan bahwa pada sampel mekonium bayi yang baru lahir dengan 4 kategori yaitu mekonium bayi yang mengkonsumsi ASI, mekonium bayi yang mengkonsumsi susu formula, mekonium bayi yang lahir secara normal dan mekonium bayi yang lahir secara caesar menunjukkan hasil morfologi koloni yang sama yaitu berbentuk bulat, berukuran besar, berwarna putih atau krem dengan tepi utuh. Selanjutnya pada uji pewarnaan gram semua sampel teridentifikasi sebagai bakteri gram positif dengan bentuk coccus, pada uji katalase semua sampel merupakan bakteri dengan katalase negatif. Hasil identifikasi menggunakan PCR ditemukan pita DNA pada semua sampel. Pita DNA yang terbentuk di perkirakan berada pada target 1300 bp. Berdasarkan hasil tersebut dapat diasumsikan bahwa sampel tersebut merupakan Bakteri asam laktat.

Diperlukan pengujian selanjutnya dengan menggunakan metode PCR yang berbeda dan menggunakan primer spesifik Bakteri Asam Laktat untuk memperoleh keseragaman hasil isolat dalam menentukan jenis Bakteri asam Laktat. Untuk menentukan jenis bakteri dapat dilanjutkan ke tahap Sequencing.

Kata Kunci : Mekonium, Morfologi, MRSA, Pewarnaan gram, Katalase, PCR.

Daftar Pustaka : 57 (1993-2020)

PENDAHULUAN

Saluran cerna merupakan organ terpenting yang berperan dalam pertumbuhan, perkembangan dan kesehatan anak. Proses mutasi saluran cerna distimulasi oleh ASI yang difasilitasi oleh kolostrum. Kolostrum yang disekresi oleh kelenjar payudara pada hari ke-1 hingga hari ke-4 setelah kelahiran mengandung komponen bioaktif dan mikrobiota menguntungkan dimana berperan dalam menciptakan keseimbangan mikrobiota saluran

cerna neonatus yang berpengaruh terhadap maturasi dan perkembangan sistem imun saluran cerna bayi baru lahir (Ikatan Dokter Anak Indonesia, 2008).

Mikrobiota saluran cerna berperan penting terhadap kesehatan *host* yang ditempatinya meliputi fungsi fisiologis, struktural dan metabolisme. Salah satu mikrobiota saluran cerna yang berperan penting terhadap kesehatan manusia adalah Bakteri Asam Laktat (BAL). Bakteri asam



laktat merupakan kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Untuk mengetahui mikrobiota di saluran cerna biasanya digunakan feses yang ditanam pada berbagai media dan berbagai metode kultur untuk menentukan mikrobiota tersebut (Rahmagiarti., 2013 *dalam* Syukur dan Purwanti, 2013).

Mikrobiota manusia, yaitu komunitas mikroorganisme yang hidup pada permukaan dan di dalam tubuh manusia, penting untuk fisiologi manusia, perkembangan sistem imun dan pencernaan. Diperkirakan mikrobiota manusia terdiri dari 100 triliun sel bakteri lebih besar 10 kali lipat dari pada sel manusia dan setara dengan 1-2 kg berat badan. Sekitar 70% mikroorganisme pada manusia berada pada saluran pencernaan dimana kolon dan usus besar merupakan tempat yang paling banyak dihuni oleh mikroorganisme (Pratiwi, 2016).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kolonisasi mikrobiota di saluran cerna neonatus pada bayi baru lahir adalah cara kelahiran bayi, jenis asupan nutrisi bayi (ASI atau susu formula), usia kehamilan, diet ibu, rawat inap bayi (lingkungan) dan penggunaan antibiotik (Penders., 2015). Bayi lahir melalui dua cara yakni lahir pervaginam dan lahir secara operasi sesar yaitu melalui insisi pada dinding abdomen (perabdominal) dan dinding uterus (Cunningham. 2012). Terdapat perbedaan komposisi mikrobiota saluran cerna pada bayi baru lahir antara bayi yang lahir dengan operasi sesar dengan bayi yang lahir secara pervaginam (Biasucci, 2008).

Air Susu Ibu (ASI) memiliki komposisi yang lengkap dan sesuai dengan kebutuhan. ASI mengandung komponen makronutrisi (karbohidrat, protein, dan lemak), mikronutrisi (vitamin dan mineral) dan komponen bioaktif (IgA). Komposisi makronutrisi terbanyak dalam ASI adalah karbohidrat, salah satu komponen karbohidrat dalam ASI adalah laktosa dan oligosakarida. Jenis oligosakarida yang terkandung di dalam ASI adalah Frukto-Oligosakarida (FOS) dan Galakto-Oligosakarida. Oligosakarida dan laktosa didalam ASI yang cukup tinggi berperan sebagai

probiotik untuk pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang menguntungkan pada saluran cerna (Sringati., 2016).

Komposisi zat gizi dalam susu formula tidak sama dengan ASI, susu formula banyak mengandung asam lemak jenuh dan tidak terdapat zat imunologik. Jika feses bayi yang mendapatkan susu formula diperiksa ditemukan 10 kali lebih besar kuman aerob seperti bakteri *Escherichia coli* dan *Enterococcus*, dengan demikian banyak produk susu formula menambahkan Frukto-Oligosakarida (FOS), Galakto-Oligosakarida dan inulin. Penambahan zat tersebut dianggap memiliki efek yang mendekati ASI, yaitu efek bifidogenik yang dapat menstimulir pertumbuhan bifidobakteria dan laktobasili pada saluran pencernaan bayi (Perez, 2001).

Semakin sering bayi menyusui maka semakin banyak komponen bioaktif dan mikrobiota ASI yang ditransfer dari ibu ke bayi. Rerata kekerapan atau frekuensi bayi menyusui pada ibunya dalam 24 jam adalah sebanyak 11 kali penyusuan dengan rentang 6-18 kali penyusuan. Yoshioka., *dalam* Rahmagiarti. (2013) melaporkan pada saluran cerna bayi yang mendapat ASI ketika berusia 4 hari, menunjukkan adanya strain *bifidobacterium* dan akan meningkat pada usia 7 hari. *Bifidobacterium* akan lebih stabil mendominasi lingkungan usus bayi saat berusia satu bulan.

Kolonisasi bakteri usus akan mengalami keterlambatan pada bayi yang lahir secara *seksio sesarea*. Bayi yang lahir secara *seksio secarea* ditandai oleh rendahnya koloni *Bacteriodes*, *Bifidobacterium*, dan *Lactobacillus*. Jenis persalinan mempunyai dampak signifikan pada pembentukan mikrobiota saluran cerna. Bayi yang lahir secara pervaginam akan dikolonisasi pertama kali oleh bakteri yang berasal dari *fekal* dan *vaginal* ibu, sedangkan bayi yang lahir melalui *seksio sesarea* akan dikolonisasi oleh bakteri yang berasal dari lingkungan rumah sakit dan petugas kesehatan. Selanjutnya,



keterlambatan kolonisasi usus pada bayi yang lahir secara *seksio sesarea* dikarakterisasi oleh rendahnya jumlah koloni *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, dan *Bakteriodes* dibandingkan dengan persalinan pervaginam (Hutt,2006).

Jimenez. (2008) melaporkan, dalam mekonium (2 jam setelah kelahiran dan sebelum bayi disusui), didominasi oleh bakteri asam laktat dari strain *Lactobacillus* sedangkan sebagian lain didominasi oleh bakteri enterik sejenis *Escherichia coli*. Spesies mikrobiota yang ditemukan pada bayi yang lahir pervaginam ialah *Lactobacillus* sp. dan *prevotella* sp. Sedangkan mikrobiota yang lahir secara sesar adalah *Clostridium* sp. *Staphylococcus* sp., dan *Propionibacterium* sp (Collado., 2012). Penelitian Hansen. (2015) pada feses 24 jam pertama setelah lahir, menemukan adanya jumlah bakteri yang rendah pada mekonium pertama. Satu bayi didominasi oleh *Enterobacteriaceae*, sementara sampel lain didominasi 2-5 genus bakteri seperti *Bifidobacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, dan *Bacteriodes Prevotella*.

Isolasi Bakteri Asam Laktat dilakukan dengan metode *pour plate* dan *metodestreak* pada media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) dan media Nutrient Agar. Kultur dinkubasi pada suhu 37° C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh diamati ciri-ciri morfologi dan dilakukan pewarnaan gram bakteri. Hasil isolasi BAL dari inasua pada media *de Man Ragosa and Sharpe Agar* (MRSA) + CaCO₃ diperoleh 4 isolat bakteri yaitu INS-A1, INS-A2, INS-A3 dan INS-A4 dan hanya 2 isolat yang memiliki karakteristik sebagai gram positif dengan bentuk Bacillus yaitu INS-A2 dan INS-A4. Diduga 2 isolat tersebut adalah isolat Bakteri Asam Laktat. (Lolita., 2018).

Gold standar yang dapat digunakan untuk pemeriksaan bakteri adalah kultur. Namun kekurangan dari metode kultur adalah membutuhkan waktu sekitar 2 hari untuk mendapatkan hasil, selain itu dibutuhkan biaya yang cukup mahal. Hasil dari kultur bakteri juga bisa menghasilkan negatif palsu. Kultur bakteri juga tidak dapat dilakukan di semua

laboratorium. Untuk kelebihan dari metode ini adalah dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba karena koloni yang terbentuk dan beberapa jenis mikroba dapat dihitung sekaligus (Sulistyaningsih, 2007).

Selain metode kultur, pemeriksaan bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Metode ini mempunyai kelebihan diantaranya adalah lebih spesifik dan waktu yang dibutuhkan relatif singkat. Reaksi Polimerase Berantai atau dikenal sebagai *Polymerase Chain Reaction*, merupakan suatu proses sintesis enzimatis untuk melipat gandakan suatu sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro*. Dengan menggunakan metode PCR dapat meningkatkan jumlah urutan DNA ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah semula (Nasir, 2002).

Saat ini telah dikembangkan metode identifikasi bakteri berbasis molekular yang lebih cepat dengan tingkat sensitivitas dan spesifitas yang tinggi, yaitu dengan analisis sekuensing gen. Sekuensing DNA bertujuan untuk menentukan urutan basa nitrogen (adenin, guanin, sitosin, dan timin) suatu sampel DNA. Hal tersebut merupakan informasi yang paling mendasar suatu gen atau genom karena mengandung instruksi yang dibutuhkan untuk pembentukan tumbuh mahluk hidup (Olsvik., 1993).

Gen 16S ribosomal RNA (16S rRNA) memiliki daerah yang conserved (lestari) sehingga tepat digunakan dalam *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan analisis sekuensing untuk menentukan taksonomi, filogeni dan keanekaragaman antar spesies. Gen ini juga memiliki hypervariable region yang merupakan ciri khas tiap mikroorganisme. Analisis sekuensing gen 16S rRNA sudah banyak digunakan di bidang mikrobiologi. Metode berbasis molekuler ini dinilai cepat dan akurat dalam mengidentifikasi bakteri patogen serta memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan metode mikrobiologi konvensional (Rinanda,2011).



Berdasarkan uraian di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang identifikasi bakteri asam laktat pada solat mekonium bayi yang mendapatkan ASI, susu formula dan melalui jalan lahir pervaginam dan seksio sesarea dengan pemeriksaan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan primer 16sRNA untuk melihat perbedaan pita-pita DNA yang terbentuk. Penelitian ini melanjutkan penelitian sebelumnya yang berjudul Deteksi keragaman mikrobiota pada mekonium bayi baru lahir dengan metode PCR (*polymerase chain reaction*). Pada penelitian Raharti, 2020 digunakan 13 isolat dengan nomor kode isolat F34A, F31A, F12B, F13A, A11A, N13B, F23A, C23A, F23B, A13B, F14A, F11D, dan A14A.

METODE PENELITIAN

Adapun jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif kualitatif, untuk mendeteksi adanya bakteri asam laktat pada isolat mekonium bayi dengan menggunakan metode PCR.

HASIL

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri gram positif, berbentuk bulat atau panjang, katalase negatif yang dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi karbohidrat. Hasil identifikasi bakteri asam laktat dapat dilihat pada Tabel 4.

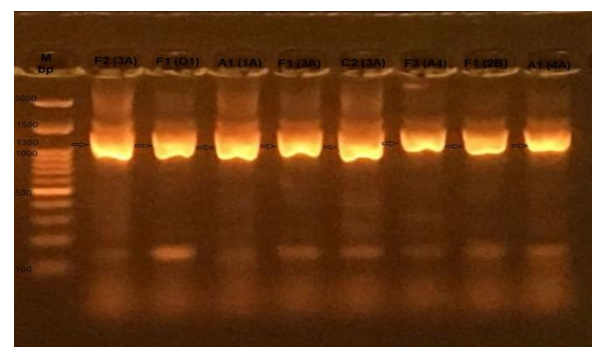
No	Kode Isolat	Keterangan
1	Mekonium Formula	Terdapat pertumbuhan koloni Dengan ciri-ciri 1. Berwarna putih dan krem 2. Bentuk bulat 3. Tepi utuh 4. Berukuran Besar
2	Mekonium Ceasar	Terdapat pertumbuhan koloni Dengan ciri-ciri 1. Berwarna putih susu 2. Bentuk bulat 3. Tepi utuh 4. Berukuran Besar
3	Mekonium Normal	Tidak ada pertumbuhan koloni
4	Mekonium Asi	Terdapat pertumbuhan koloni Dengan ciri-ciri 1. Berwarna putih susu 2. Bentuk bulat 3. Tepi utuh 4. Berukuran Besar

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan pemeriksaan yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan material genetik dari sel, bakteri, atau virus. Hasil uji deteksi molekuler dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 5.

Tabel 5. Hasil Elektroforesis

No	Kode Isolat	Hasil PCR
1	F23A	Positif
2	F11D	Positif
3	A11A	Positif
4	F13A	Positif
5	C23A	Positif
6	F34A	Positif
7	F12B	Positif
8	A14A	Positif

Gambar 5. Visualisasi hasil PCR dengan Elektroforesis Gel



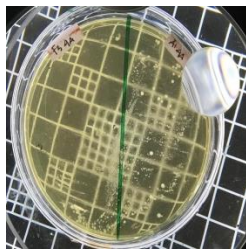
Tabel 6. Hasil Seleksi Karakterisasi morfologi koloni bakteri pada Media



MRSA

No	Kode Isolat	Karakter Morfologi Koloni					
		Warna	Permukaan	Ukuran	Elevasi	Bentuk	Tepi
1	F3 4A	Putih	Halus	Kecil	Datar	Bulat	Utuh
2	F12B	Krem	Kasar	Kecil	Timbul Datar	Bulat	Tidak beraturan
3	F2 3A	Putih	Halus	Besar	Datar	Bulat	Utuh
4	F1 1D	Putih	Kasar	Sedang	Timbul Datar	Bulat	Utuh
5	A1 4A	Putih	Halus	Besar	Datar	Bulat	Utuh
6	C2 3A	Krem	Kasar	Sedang	Timbul datar	Bulat	Tidak beraturan
7	A1 1A	Putih	Halus	Besar	Datar	Bulat	Utuh
8	F1 3A	Putih	Halus	Kecil	Datar	Bulat	Utuh
9	F1 4A	-	-	-	-	-	-
10	F3 1A	-	-	-	-	-	-
11	F2 3B	-	-	-	-	-	-
12	N1 3B	-	-	-	-	-	-
13	A1 3B	-	-	-	-	-	-

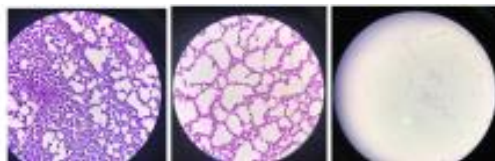
Gambar 8. Uji katalase



Gambar 5. Morfologi koloni bakteri

Tabel 7. Hasil pengamatan pewarnaan gram

No	Kode Isolat	Gram	Bentuk
1.	F23A	+	Coccus
2.	F11D	+	Coccus
3.	A11A	+	Coccus
4.	F13A	+	Coccus
5.	C23A	+	Coccus
6.	F34A	+	Coccus
7.	F12B	+	Coccus
8.	A14A	+	Coccus



Gambar 7. Hasil pewarnaan gram isolat mekonium Formula, Asi dan Caesar

Tabel 8. Hasil uji katalase

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan sampel mekonium bayi yang baru lahir dengan 4 kategori yaitu mekonium bayi yang telah mengkonsumsi ASI, mekonium bayi yang mengkonsumsi susu formula, mekonium bayi yang lahir secara normal dan mekonium bayi yang lahir secara Caesar, yang mana mekonium bayi merupakan suatu materi berwarna hijau gelap yang terdapat dalam intestin (saluran cerna) janin dalam kandungan. Mekonium tersebut terdiri dari sekresi gastrointestinal fetus, sel debris, mucus, darah, lanugo dan verniks. Penelitian ini diawali dengan melakukan peremajaan isolat bakteri yang dibiakkan pada media MRSA (*Man Ragosa Sharpe Agar*).

Karakterisasi koloni bakteri dibedakan atas dasar yaitu warna, permukaan, ukuran, elevasi, bentuk dan tepi koloni. Masing masing isolat memiliki morfologi koloni yang berbeda satu sama lain. Adapun hasil karakterisasi morfologi yaitu dari 13 isolat yang di biakkan pada media MRSA hanya 8 media biakkan yang di tumbuh koloni yaitu isolat dengan kode F23A, A11A, A14A, F34A, F11D, C23A, F12B dan F13A. Dimana 6 koloni dalam media tersebut berwarna putih. Sedangkan



pada 2 koloni isolat C23A dan F12B memiliki warna koloni kuning.

Karakterisasi koloni dengan bentuk bulat terdapat pada semua koloni sampel, koloni F23A, A11A, dan A14A serta koloni F13A memiliki permukaan morfologi yang halus. Sedangkan pada koloni F34A, dan F12B memiliki bentuk yang tidak beraturan. Koloni dengan kode isolat F23A, F13A, A11A dan A14A memiliki karakter elevasi datar. Karakter elevasi timbul datar terdapat pada koloni, C23A, F11D, F34A, dan F12B.

Karakterisasi koloni dengan tepi utuh terdapat pada kode isolat F23A, A11A, A14A, dan F13A. Pada koloni F34A, F11D, C23A, dan F12B memiliki tepi tidak beraturan. Koloni dengan ukuran sedang terdapat pada isolate F34A, F11D, dan C23A. Pada koloni isolat F13A memiliki ukuran kecil. Pada koloni isolat F23A, A11A dan A14A memiliki karakterisasi ukuran besar. Semua koloni berbentuk bulat.

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang mampu memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam laktat sebagai produk utamanya. BAL berpotensi dalam memproduksi bakteriosin dan bersifat probiotik. Uji bakteri asam laktat bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang berpotensi sebagai probiotik. Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 4 mengenai identifikasi bakteri asam laktat pada media MRSA diperoleh hasil positif pada sampel mekonium bayi yang telah mengkonsumsi ASI, mekonium bayi yang mengkonsumsi susu formula, dan mekonium bayi yang lahir secara caesar yang ditandai dengan tumbuhnya koloni pada media MRSA, yaitu media yang digunakan untuk identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dengan karakterisasi isolat yaitu berwarna putih susu dan krem dengan bentuk bulat dan utuh yang diduga sebagai bakteri *Streptococcus*, sedangkan sampel mekonium bayi yang lahir secara normal diperoleh hasil negatif yang ditandai dengan tidak adanya koloni yang tumbuh pada media MRSA.

Berdasarkan karakteristik bakteri asam laktat, ciri ciri utama koloni bakteri asam laktat ialah memiliki luasan zona bening pada sekitar

koloni, dan biasanya koloni berwarna putih, krem dan kuning. Meskipun demikian, zona bening yang terdapat pada bakteri, belum bisa memperkuat hasil, bahwasanya koloni tersebut adalah kelompok bakteri asam laktat, karena jenis bakteri probiotik lain yang bukan kelompok asam laktat, juga memiliki kemampuan untuk membuat luasan bening pada media. Oleh karena itu dilakukan uji pendukung bakteri asam laktat yang berupa pewarnaan gram dan uji katalase, karena sifat ini adalah sifat umum yang dimiliki bakteri asam laktat, (Rinto, 2010)

Pewarnaan gram merupakan karakterisasi secara mikroskopik yang bertujuan untuk mengamati sifat gram dan bentuk sel bakteri. Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 8 diperoleh hasil gram positif pada semua sampel yang di tandai dengan warna ungu pada bakteri dengan bentuk sel pada isolat yaitu bentuk bulat (coccus). Gram positif menunjukkan bahwa crystal violet dapat diikat dengan baik oleh sel bakteri dan tidak dapat dilunturkan oleh alkohol. Struktur dinding sel bakteri gram negatif relatif lebih sederhana dibandingkan dengan bakteri gram positif yang relatif kompleks. Bakteri gram positif memiliki peptidoglikan sebesar 90% serta mempunyai komponen spesifik pada dinding selnya berupa asam teikoat dan asam lipoteikoat.

Dinding sel bakteri gram positif terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal sedangkan dinding sel bakteri gram negatif mempunyai kandungan lipid yang tebal. Ketika ditambahkan pewarnaan kristal violet maka dinding sel bakteri gram positif maupun gram negatif akan menyerap zat warna tersebut namun ketika diberi alkohol, kristal violet pada gram negatif akan luntur disebabkan struktur dinding selnya yang sebagian besar tersusun oleh lipid, sehingga ketika diberi zat warna terakhir yaitu safranin dinding sel bakteri gram negatif akan menyerapnya kembali sehingga bakteri gram negatif akan berwarna merah, sedangkan bakteri gram positif akan tetap



berwarna ungu karena dinding selnya tersusun oleh lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga tidak luntur ketika di cuci dengan alkohol.

Uji katalase yang dilakukan pada isolat untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen. Enzim katalase merupakan enzim yang mampu mengkatalis langsung konversi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang toksik bagi sel menjadi air dan oksigen. Bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* merupakan kelompok bakteri yang tidak memiliki enzim katalase, tetapi memiliki enzim peroksidase untuk mengubah H_2O_2 yang bersifat toksik menjadi H_2O . Berikut persamaan reaksinya (BSC1424, 2000).

Uji katalase merupakan uji biokimia untuk membedakan mikroorganisme yang memiliki enzim katalase untuk mendegradasi hydrogen peroksida bersifat toksik. Reaksi katalase menunjukkan hasil positif bila terbentuk gelembung udara yang mengindikasikan terbentuknya gas O_2 dan negatif apabila tidak menunjukkan adanya gelembung gas O_2 , menambahkan gelembung gas udara yang terbentuk pada hasil uji katalase merupakan oksigen dari reaksi enzim katalase dan H_2O_2 (Djideh, 2006).

Dari hasil uji pendukung bakteri asam laktat yang telah dilakukan, diketahui bahwa 8 isolat termasuk dalam golongan bakteri asam laktat, yang memiliki bentuk sel batang dan bulat, gram positif, katalase negatif dan non-motil. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmi et al, (2016) dan Wulandari (2017), yang menggolongkan bakteri asam laktat berdasarkan karakteristik bentuk sel batang dan bulat, gram positif dan berkatalase negatif.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada mekonium bayi yang baru lahir dilakukan dengan menggunakan metode PCR. Pada tahap awal terlebih dahulu dilakukan proses ekstraksi DNA. Secara umum ekstraksi DNA meliputi beberapa tahapan proses penting, yaitu dari mulai tahap persiapan hingga akhirnya diperoleh ekstrak DNA yang terlarut dalam suatu larutan penyangga (buffer) khusus.

Untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA dari DNA cetakan, digunakan pasangan primer 63f (5- CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC -3) dan 1387r (5- GGG CGG WGT GTA CAA GGC -3). Hasil PCR yang berupa amplicon gen 16S rRNA selanjutnya hasil PCR divisualisasikan dengan elektroforesis gel. Berdasarkan hasil pemeriksaan PCR dengan menggunakan primer 63f dan 1387r, memiliki panjang amplicon sekitar 1000 - 1500 bp yang merupakan daerah penanda gen bakteri. Dari hasil elektroforesis terlihat pita DNA yang spesifik pada semua sampel mekonium pada pita sekitar 1300. Pita DNA yang terbentuk menunjukkan bahwa dalam sampel mekonium bayi yang baru lahir terdeteksi adanya DNA bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Mira Febriani Hotong dkk. (2015) dengan menggunakan metode quantitative realtime polymerase chain reaction (PCR-RT) mampu mengidentifikasi DNA dari bakteri pada mekonium bayi yaitu koloni mikroflora usus bayi baru lahir terbanyak adalah *Lactobacillus* diikuti *Bifidobacterium*, *Colostridium*.

Reaksi uji katalase positif pada penelitian ini yaitu katalase negatif pada semua. Perbedaan reaksi katalase positif pada penelitian ini terlihat pada gelembung udara atau O_2 yang terbentuk. Hal ini dapat disebabkan karena strain bakteri pada sampel memiliki enzim katalase yang dapat memecah H_2O_2 menjadi O_2 . Bakteri asam laktat termasuk bakteri dengan katalase negatif, sehingga reaksi uji katalase tidak terbentuk tidak terbentuk gelembung udara yang berarti tidak terbentuk gas. Kendala dalam penelitian ini yaitu kurangnya bahan yang tersedia di laboratorium sehingga penelitian tidak berjalan dengan maksimal.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Hasil pembiakan pada media MRSA menunjukkan pertumbuhan koloni mekonium bayi yang



mengonsumsi susu formula, mekonium bayi yang lahir secara Caesar dan mekonium bayi yang mengonsumsi ASI, sedangkan pada mekonium bayi yang lahir Normal tidak ada pertumbuhan koloni. Hasil karakterisasi morfologi ini menunjukkan bahwa pada sampel mekonium bayi yang baru lahir dengan 4 kategori yaitu mekonium bayi yang mengonsumsi ASI, mekonium bayi yang mengonsumsi susu formula, mekonium bayi yang lahir secara normal dan mekonium bayi yang lahir secara caesar menunjukkan hasil morfologi koloni yang sama. Selanjutnya pada uji pewarnaan gram semua sampel teridentifikasi sebagai bakteri gram positif dengan bentuk coccus, pada uji katalase semua sampel merupakan bakteri dengan katalase negatif. Hasil identifikasi menggunakan PCR ditemukan pita DNA pada semua sampel. Pita DNA yang terbentuk di perkirakan berada pada target 1300 bp. Berdasarkan hasil tersebut dapat diasumsikan bahwa sampel tersebut merupakan Bakteri asam laktat.

SARAN

Diperlukan pengujian selanjutnya dengan menggunakan metode PCR yang berbeda dengan primer spesifik Bakteri Asam Laktat untuk memperoleh keseragaman hasil isolat dalam menentukan jenis Bakteri Asam Laktat dan Sekuensing penjarangan bakteri untuk probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Bannister, B., Gilesple S, Jane Jones. 2006. *Infection Microbiology And Management. USA: Blackwell Publishing Inc.*
- Biasucci, G., Benenti B, Morelli L, Bessi e, Boehm G. 2008. *Cesarean Delivery May Affect the Early Biodiversity of Intestinal Bacteria. Journal Of Nutrition. 138:1796-1800.*
- Bugi. 2015. *Polymerase Chain Reaction (Pcr) : Perkembangan Dan Perannya Dalam Diagnostik Kesehatan. BioTrends Vol.6 No.2. Pusat Penelitian*
- Bioteknologi LIPI.
- Chunningham. 2012. *Obstetric William. Volume 1 : Jakarta;EGC.*
- Collado., Maria C, Christine Banerl, Maximo Vento, Gaspor perez M. 2012. *Microbial Ecology And Host Microbiota Interactions During Early Life Stage. ISSN 1949-1976.*
- Dietert, R.R., Dietert, J.M. 2015. *Review; The Microbiome And Sustainable Healthcare. Healthcare 3: 100-129.*
- Djide, N dan Sartini. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Universitas Hasanuddin. Makassar*
- Dommsich, H., Winter, J., Willebrand, C., Eberhard, J., & Jepsen, S. 2007. *Fungsi pengaturan kekebalan dari beta-defensin-2 manusia dalam sel mirip odontoblas. Jurnal Endodontik Internasional , 40 (4), 300-307.*
- Dwi, Ibnu B., Iskandar., M Untung KA, Ujang Subhan.2018. *Aplikasi Teknologi DNA Reokmbinasi Untuk Perakitan Vektor Ekspresi Ikan Lele Trangenik. Deepublish: Yogyakarta.*
- Elizabrth, Fitri BR Hasibuan., Belyv Jonathan Kolanam. 2017. *Interaksi Natra Mikrobiota Usus Dan Sistem Kekebalan Tubuh Manusia. Jurnal Ilmiah sains, Vol.17, No.1.*
- Emmawati, Aswita., betty Sri Laksmi, Lilis Nuraida, Dahrul Syah. 2015. *Karakteristik Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Mandai Yang Berpotensi Sebagai Probiotik. Jurnal agriTECH. Vol.35;2*
- Fatma, Lulu. 2020. *Isolasi Bakteri Asam Laktat Dari Usus Sapi (Bos Taurus) Serta kemampuannya Dalam Menghambat Bakteri Escherici coli Dan Shigella sp.*



- Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA). Vol.21;27.
- Febriani, Mira H, dkk. 2020. *Hubungan Mikroflora Usus Pada Bayi Baru Lahir Dengan Jalur Persalinan*. Jurnal Sari Pediatri. Vol 17, No 1.
- Fitrah, Rahmi, dkk. 2017. *Anlisis Bakteri Tanah Hutan Larangan Adat Rumbio*. Jurnal Agroteknologi. Vol. 8;1
- Gandjar, Ibnu Gholib. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gomewlla, TL., Chunningham MD, Eyal FG. 2004. *Neonatology: Management, Procedure, On-call Problems, Disease And Drugs*.
- H.Hartwell, L., Hood, L., L.Goldberg, M., Reynolds, A. E., & Silver, L. M. 2011.
- Handoyo, Darmo dan Ari Rudiretna. 2001. *Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Unitas, Vol.9 (1)
- Hansen, R., Scott, K.P., Khan, S., Martin, J.C., Berry, S.H., Stevensom, M., dkk. 2015. *First-Pass Meconium Samples From Healthy Term Vaginally-Delivered Neonates: An Analysis of The Microbiota*. PLOS ONE. Vol. 10(7): 1-10.
- Hastuti, Agustien, A. dan Nurmiati. 2012. *Penapisan dan Karakterisasi Bakteri Amilo-Termofilik dari Sumber Air Panas semurup kerinci jambi*. Jurnal Biologi Universitas Andalas.1(2): 150-155.
- Hegral, Badriul. 2017. *Kesehatan Saluran Cerna Pada Awal Kehidupan Untuk Kesehatan Pada Masa Mendatang*. eJKI. Vol 5, No 2.
- Hutt, P., Shchepetova J, Louivukene K. Kulifaar T, Mikelsar M. 2006. *Antagonistic Activity Of Probiotic Lactobacilly and Biffidobacteria Against Entero And Uropatogeni*. Journal Applied Microbiology. ISSN 1364-5075.
- Ibrahim, Arsyik., Aditya Fridayanti, Fila Delvia. 2015. *Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Buah Mangga (Mangifera Indica l)* .jurnal Ilmiah Manuntung. Vol1(2):159-163.
- Ikatan Dokter Anak Indonesia. 2008. *Bedah ASI*. Jakarta: Balai Penerbit FK UI.
- Jimenez, E., Marin, M.L., Martin, R., Odriozola, J.M., Olivares, M., Xaus, J., dkk. 2008. *Is Meconium From Healthy Newborns Actually Sterille*. Research in Microbiology. Vol. 159: 187-193.
- Jonathan, B Kolandom. 2020. *Evaluasi Deteksi Polymerase Chain Reaction Untuk Bakteri Bifidobacterium Longum Dalam Sampel Feses bayi Dari Kota Manado*. Jurnal Ilmiah Sains. Vol 20, No 1.
- Krisna, A W., Annisa Arlisyah, Ana Fauziah, Titik Nur Fa'ida. 2017. *Identifikasi Gen Transgenik pada Produk Susu Bubuk Kedelai dan Susu Formula Soya dengan Metode PCR (Polymerase Chain Reaction)*. Jurnal AGRITECH, Vol. 37, No. 3.
- Kusumo, P.D. 2012. *Kolonisasi Mikrobiota Normal dan Pengaruhnya Pada Perkembangan Sistem Imunitas Neonatal*. Jurnal Kedokteran FKUK. Vol. 29(320): 55-63.
- Lolita, Adde Octavia., Endang Kusdiyantini. 2018. *Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Pangan Fermentasi Berbasis Ikan (Inasua) Yang Di Perjual Belikan Di Maluku Indonesia*. Jurnal Biologi Tropika, Vol. 1, No.2.
- Najib, Nurmadina. 2018. *Identifikasi*



- Bakteri Pada Feses Neonatus Berdasarkan Jenis Persalinan Dan Jenis Asupan Susu Dengan Metode Automatic Identification System Menggunakan Vitek 2 Compact.* Skripsi Universitas Negeri Islam Alauddin Makassar.
- Nasir, M. 2012. *Bioteknologi Potensi Dan Keberhasilannya Dalam Bidang Pertanian.* Grafindo Persada; Jakarta.
- Olsvik, O., J. Whalberg, B. Petterson, M. Uhlen, T. Popovic, I.K. Wachmuth, and P.I. Fields. 1993. *Use of automated sequencing of polymerase chain reaction-generated amplicons to indentify three types of cholera toxin subunit B in Vibrio cholerae O1 strains.* Journal of Clinical Microbiology 31: 22–25.
- Penders, J., Thijs, C., Vink, C., Stelma, F.F., Snijders, B., Kummeling, I., 2015. *Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy.* American Academy of Pediatrics. Vol.118(2). 511-521.
- Perez, P.F., Dore, J., Leclere, M., Levenez, Benyacoub, J., Serrant, P. 2001.
- Pratiwi, P. 2016. *Mikrobioma: Pemahaman Baru tentang Peran Mikroorganisme dalam Kehidupan Manusia.* Departemen Mikorbiologi Klinik FK Universitas Indonesia RSUP Nasional dr. Cipto Mangonkusumo. Vol. 4(2).
- Prayoga, W. dan Wardani, A.K. 2015. *Polymerase Chain Reaction Untuk Deteksi Samonella sp.* Jurnal Pangan dan Argoindustri. Vol.3(2): 483-488.
- Prayoga, Windra, 2014. *Aplikasi Polymerase Chain Reaction Untuk Sistem Deteksi Cepat Salmonella Enterica Serotipe Thypimiurium Pada Karkas Ayam.* Thesis sarjana. Universtitas Brawijaya.
- Purwanto, Sigit. 2015 *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (Melastoma malabathricum L.) Terhadap Escherichia Coli."* Jurnal Keperawatan Sriwijaya. Vol.o, NO.2 : 84-92.
- Raharti, Sri.2020. *Deteksi Keanekaragaman Mikrobiota Pada Mekonium Bayi Baru Lahir Menggunakan Metode Polymerase Chain Reacyion (PCR) Di Rs Aliyah Kendari.* Skripsi Univeristas Mandala Waluya Kendari.
- Rahmagiarti, C., Prayitno, L., Oswari H., dan Abinawarto. 2013. *Perkembangan Kolonisasi Bifidonacterium Pada Usus Bayi.* FMIPA UI. 1-6.
- Rahmani, Suci n. 2019. *Hubungan Kekерapan Pemberian Kolostrum dan cara Lahir Dengan Jumlah Koloni Bakteri Asam Laktat Di Saluran Cerna Neonatus.* Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi. Vol 19, No 1.
- Rahmi, N., Harmayani, E., Santosa, U, Darmadji, E., 2016, *Identifikasi bakteri asam laktat dan aktivitas penghambatan radikal pada jeruk tigarun (Crataeva nurvala, Buch Ham),* Jurnal Agritech, 36(3), 317-326.
- Ratnayani, K., Yowani, S. C. and Syane, S. L. 2009. *Amplifikasi Fragmen 0,4 kb Daerah d-loop DNA Mitokondria Lima Individu Suku Bali tanpa Hubungan Kekерabatan dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR).* Jurnal Kimia 3 (1): 14-20.
- Retno, Prima Wikandari., Suparmo, Yustinus M, Endang Suliswati R. 2012. *Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Proteolitik pada Bekasam* Jurnal Natur



- Indonesia. Vol. 14, No. 1.
- Rinanda, Tristia. 2011. *Analisis Sekuensing 16srRNA di Bidang Mikrobiologi.* Jurnal Kedokteran Syiah Kuala. Vol 11;3.
- Rinto, Sasanti, A.D., Fitria, K., 2010, *Bakteri asam laktat dari pencernaan ikan nila dan tongkol yang berpotensi menghambat bakteri pembusuk pembentuk histamin, dan patogen pada produk perikanan,* Prosiding seminar Nasional, 125-145
- S, Edi T., Badriul Hagar, Agus firmansyah. 2001. *Pola Deteksi Pada Anak.* Jurnal Sari Pediatri. Vol. 1, No. 1.
- Santoso, T.J., Hidayat, S.H., Herman, M., dan Sudarsono. 2015. *Aplikasi Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) Menggunakan Primer Degenarate Dan Spesifik Gen AVI Untuk Mendeteksi Begomo Virus Pada Tomat (Lycopersikon Escylentum Mill).* Jurna holtikultura Indonesia. Vol. 4(3): 140.
- Seto, Astari., Nuzulia Irawati, Asni Mair. 2020. *Perbedaan Jumlah Koloni Lactobacillus Pada Feses Neonatus Yang Mendapatkan ASI Dan Susu Formula.*
- Sihotang, Saipul., Edi Fachrial. 2020. *Isolasi, Identifikasi Dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Dari mekonium.* Jurnal Kedokteran STM (Sains Teknologi Medik), Vol.3, No.2.
- Sringati, S., Walean J, Ahmil A, Fitrihanur WL, Pangli VU. 2016. *Hubungan Pengetahuan Dan Motivasi Ibu Terhadap Pemberian ASI Eksklusif Di Desa Jonooge.* Healthy Tadulako Jurnal.
- Sudjadi. 2008. *Bioteknologi Kesehatan.* Jakarta: Penerbit Kanisius.
- Sulistyaningsih, E. 2007. *Polymerase Chain Reaction (PCR) ; Era Baru Diagnosis Dan Manajemen Penyakit Infeksi,* jurnal Biomedis, Vol.1 , No.1.
- Sumarti, Lubis, dkk. 2020. *Hubungan Jumlah Koloni Bakteri Asam Laktat Air Susu Ibu Dengan pH Feses Bayi Pada Ibu Bersalin Normal Dan Sectio Caesarea.* Jurnal Kesehatan Tadulako. Vol 6, No 3.
- Syahniar, Rike. 2020. *Profil Mikrobiota Air Susu Ibu Dan Perannya terhadap saluran Cerna bayi.* MJNF (Jurnal Muhammadiyah of Nutritions and Food Science. Vol 1, No 1.
- Syukur, S dan Purwati, E. 2013. *Bioteknologi Probiotik Untuk Kesehatan Masyarakat.* Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- Usman. 2003. *Potensi Bakteri Asam Laktat Yang Di Isolasi Dari Dadih Untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker.* Jurnal Natur Indonesia. Vol. 5, No. 2.
- Wikaningrum, Riyani., Jekti T. Rochani, dkk. 2008. *Populasi Bakteri Pada Feses Neonatus: Pendahuluan Penelitian.* Departmen of Microbiology Yarsi University School Of Medicine; Jakarta.
- Yusuf, Z.K. 2010. *Polymerase chain Reaction.* Jurnal Sanitek. Vol.5(6): 30-31.