

IDENTIFIKASI *Lactobacillus* sp PADA ORANGUTAN SUMATERA (*Pongo abelii*) LIAR MENGGUNAKAN KIT API 50 CHL DI STASIUN PENELITIAN SUAQ BELIMBING ACEH SELATAN

¹Wardinal, ²Safika dan ³Yulia Sari Ismail

¹Program Studi Magister Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala; ²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan IPB Bogor Indonesia;

³Jurusan Biologi FMIPA Universitas Syiah Kuala
Email: wardinalbiologi@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat (BAL) selama ini sudah banyak digunakan sebagai probiotik dan manfaat lainnya yang baik bagi kesehatan manusia maupun hewan. Genus *Lactobacillus* terdiri atas banyak spesies yang digunakan untuk fermentasi dan pengawet makanan. Dari 106 spesies *Lactobacillus*, 56 diantaranya berpotensi sebagai probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi BAL genus *Lactobacillus* yang diisolasi dari feses orangutan sumatera (*Pongo abelii*) liar di Stasiun Penelitian Suaq Belimbing Aceh Selatan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah feses orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) Liar di Stasiun penelitian Suaq Belimbing Aceh Selatan. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan media selektif yaitu de *Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA). Koloni yang tumbuh pada media MRSA di amati morfologinya dan dilakukan pewarnaan Gram serta dilakukan uji biokimia dengan menggunakan KIT API 50 CHL. Analisis data menggunakan program komputer Apiweb™ Version V-5.2. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat OUL merupakan spesies *Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii*, dengan identity 93,8 %. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat BAL pada feses orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) Liar di Stasiun penelitian Suaq Belimbing Aceh Selatan terdapat Genus *Lactobacillus*.

Kata Kunci: *Lactobacillus*, Orangutan Sumatera (*Pongo abelii*), Suaq Belimbing

ABSTRACT

Lactic Acid Bacteria (LAB) has many benefits for human and animal health and has been widely used as a probiotic. One of the LAB is the genus *Lactobacillus* which consists of many species used for fermentation and food preservation. This study was conducted to isolate and identify the LAB of the genus *Lactobacillus* from the faeces of wild Sumatran Orangutan (*Pongo abelii*) at the Suaq Belimbing Research Station in South Aceh. Bacterial isolation was carried out using *Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA). Colonies that grew on MRSA media were observed for morphology and were Gram stained. Biochemical tests were conducted using KIT API 50 CHL. Data analysis used the Apiweb computer program Version V-5.2. The results showed that the OUL isolate was a species of *Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii*, with an identity of 93.8%. Based on this, it can be concluded that there is a Lactic Acid Bacteria of the *Lactobacillus* in the faeces of wild Sumatran Orangutan (*Pongo abelii*) at the Suaq Belimbing Research Station in South Aceh.

Keywords: *Lactobacillus*, Orangutan Sumatera (*Pongo abelii*), Suaq Belimbing

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) telah lama dikenal sebagai kelompok bakteri yang menguntungkan. Pemanfaatannya sangat luas baik untuk pangan maupun pakan. Bakteri Asam Laktat terdiri dari genus *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Melissococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*,

Vagococcus dan *Weissella* yang memiliki morfologi, pH, suhu optimum, toleransi garam, habitat serta potensi patogenitas yang berbeda [1]. *Lactobacillus* merupakan genus terbesar dalam kelompok BAL dengan hampir 80 spesies berbeda. Jenis *Lactobacillus* dapat dibedakan atas dua kelompok yaitu bersifat homofermentatif dan heterofermentatif. Spesies

bakteri yang tergolong homofermentatif misalnya *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, dan *L. thermophilus*, sedangkan spesies bakteri yang tergolong heterofermentatif adalah *L. fermentum* [2].

Sejak sekitar tahun 1989, BAL mulai populer dipakai sebagai probiotik. Pemilihan bakteri asam laktat sebagai probiotik sangat berkaitan dengan sifatnya yang memenuhi kriteria aman untuk dikonsumsi *generally recognized as safe* (GRAS), dimana hal ini merupakan syarat utama untuk probiotik [3] dan kemampuannya untuk menghasilkan zat yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme lain. Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup, jika konsumsi dalam jumlah tertentu, memberikan manfaat kesehatan di samping nutrisi dasar lainnya [4].

Selama ini BAL sudah banyak digunakan sebagai probiotik dan manfaat lainnya yang baik bagi kesehatan manusia maupun hewan, namun untuk orangutan belum banyak. Penelitian BAL pada orangutan telah dilakukan, namun hanya pada orangutan yang terdapat pada kebun binatang, tempat penangkaran atau cagar alam. Hasil penelitian terhadap orangutan Kalimantan (*Pongo pygmaeus*) di Taman Safari Indonesia ditemukan $5,9 \times 10^7$ koloni bakteri asam laktat [5], sedangkan pada orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) terdapat $7,2 \times 10^6$ koloni BAL, dengan ciri-ciri bakteri Gram positif, *coccus* dan *basil* [6]. Karakterisasi BAL pada orangutan Sumatera yang ada di kebun binatang bukit tinggi dengan Gen 16S rRNA juga telah dilakukan oleh Hajar *et al* (2016) ; hasil penelitian ini menunjukkan bahwa BAL pada orangutan Sumatera memiliki karakter yang dekat dengan BAL strain *Lactobacillus helveticus* strain IMAU50151 dengan tingkat homologi 89% [7]. Hasil penelitian Septiarini *et al.* (2011) bahwa BAL dari feses orangutan (*Pongo pygmaeus*) mampu menghambat bakteri enteropatogen (*Escherichia coli*, *Salmonella*, dan *Shigella*) karena memiliki aktivitas antimikroba [8].

Orangutan merupakan satu-satunya kera besar yang hidup di Asia, sedangkan tiga kerabatnya, yaitu gorila, simpanse, dan bonobo hidup di Afrika. Namun saat ini jenis kera besar itu sekitar 90% berada di Indonesia dan hanya ditemukan di Pulau Sumatera dan Kalimantan. Para ahli primata sepakat untuk menggolongkan

orangutan yang hidup di Pulau Sumatera ke dalam spesies *Pongo abelii* dan spesies *Pongo pygmaeus* yang menempati hutan-hutan dataran rendah di Kalimantan [9]. Penelitian yang dilakukan oleh terhadap orangutan Sumatera yang terisolasi di Tapanuli, dengan membandingkan cranio-mandibular dan gigi dari orangutan yang terlibat konflik dengan manusia sebanyak 33 individu didapatkan perbedaan yang konsisten antara orangutan tapanuli dengan *Pongo abelii* dan *Pongo pigmeus*. Analisis genom juga dilakukan terhadap 37 sampel genom orangutan dengan model jarak evolusi mengungkapkan bahwa ada perbedaan antara orangutan tapanuli dengan dua spesies orangutan lainnya. Berdasarkan analisis cranio-mandibular dan genom maka orangutan diklasifikasikan menjadi tiga spesies. Spesies baru diberi nama *Pongo tapanuliensis* yang populasinya terdapat di Batang Toru dengan jumlah individu yang hidup lebih kurang 800 individu [10].

Menurut Rijksen & Meijaard (1999), Singleton dkk. (2004) dan Wich dkk. (2008), populasi orangutan pada saat ini mengalami penurunan yang signifikan. Perkiraan jumlah individu orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) sekitar 13.846 individu pada tahun 2016. Jumlah populasi orangutan Kalimantan (*P. pygmaeus*) diperkirakan sekitar 54.000 individu pada tahun 2008 dan untuk jenis anak *P. pygmaeus* diperkirakan tinggal 3.000-4.500 individu. Penurunan jumlah populasi yang besar ini menyebabkan orangutan dimasukkan ke dalam satwa yang dilindungi, bahkan sejak tahun 2000 IUCN *Red List of Threatened Species* telah memasukkan orangutan Kalimantan ke dalam kelompok satwa *Endangered* dan orangutan Sumatera ke dalam kategori *Critically Endangered* [14].

Gangguan saluran pencernaan merupakan masalah yang paling sering ditemukan pada satwa primata. Hasil identifikasi terhadap 9 sampel feses orangutan Sumatera ditemukan bakteri genus *Salmonella* dan *Shigella* dari dua ekor orangutan. Satu ekor teridentifikasi *Salmonella*, satu ekor teridentifikasi *Shigella*, sedangkan sampel lainnya teridentifikasi bakteri *coliform* sehingga dapat disimpulkan bahwa orangutan yang berada di Pusat Pelepasliaran Orangutan, Jantho terinfeksi bakteri *Salmonella*

dan *Shigella* [15].

BAL pada orangutan liar kemungkinan besar juga bisa digunakan sebagai salah satu probiotik yang menjaga keseimbangan ekosistem usus dan dapat menekan pertumbuhan bakteri enteropatogen agar tidak menjadi wabah penyakit ketika pelepasan liar kembali orangutan ke alam bebas. Jenis-jenis BAL pada orangutan liar dapat dijadikan sebagai indikator/parameter untuk pelepasan liar orangutan. Penelitian identifikasi BAL pada orangutan sumatera liar yang ada di alam bebas belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi BAL genus *Lactobacillus* yang diisolasi dari feses orangutan sumatera (*Pongo abelii*) liar di Stasiun Penelitian Suaq Belimbing Aceh Selatan.

METODE PENELITIAN

Sampel feses orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) liar diambil di stasiun penelitian Suaq Belimbing Taman Nasional Gunung Leuser yang terletak di kabupaten Aceh Selatan. Sampel feses diambil secara aseptis dan dimasukkan ke dalam plastik/botol steril, lalu disimpan dalam *cool box* dan dibawa ke laboratorium untuk dianalisis. Sampel feses yang telah dikoleksi dilakukan pengenceran secara berseri $10^{-1} - 10^{-6}$ menggunakan pepton water steril. Hasil pengenceran sebanyak 1 ml ditanam menggunakan metode *pour plate* pada media selektif MRSA steril.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri dilakukan sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) ISO 68871: 2012. Sampel feses yang telah dikoleksi dilakukan pengenceran secara berseri ditanam menggunakan metode *pour plate* pada media selektif MRS agar (MRSA) steril, yang masih cair ($\pm 50^{\circ}\text{C}$) ke dalam cawan petri, cawan petri diputar secara perlahan-lahan di atas meja untuk mengaduk campuran media agar dengan sampel pengenceran, selanjutnya cawan petri diinkubasi ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dilakukan pengamatan morfologi koloni berdasarkan bentuk (*circular, irregular, spindle, filamentous, rhizoid*), tepian (*entire, lobate, undulate, serrate filamentous,*

curled) elevasi (*flat, raised, convex, umbonate*) dan warna koloni.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dimulai dengan membersihkan gelas objek dengan menggunakan alkohol 96%. Kemudian diambil 1 tetes akuades dan diletakkan di atas gelas objek selanjutnya diambil koloni yang tumbuh terpisah pada media MRSA dengan menggunakan ose. Koloni dihomogenkan dengan akuades di atas gelas objek dan fiksasi. Kemudian preparat tersebut diberi pewarna kristal violet selama 1 menit. Setelah itu, preparat ditetesi lugol dibiarkan 1 menit dan dicuci dengan etanol selama 20 detik. Preparat ditetesi dengan safranin dan dibiarkan selama 1 menit. Selanjutnya, preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, preparat ditetesi dengan minyak emersi dan diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x [16].

Uji Fermentasi Kit API 50 CHL

Uji fermentasi dilakukan dengan menggunakan kit API 50 CHL (API Bio Merieux Perancis). Media API 50 CHL merupakan media siap pakai yang mengandung 49 macam karbohidrat. Pengamatan atas dasar uji dilakukan berdasarkan kemampuan isolat bakteri asam laktat untuk memfermentasikan atau bereaksi dengan karbohidrat yang digunakan. Sel isolat BAL diperoleh melalui sentrifugasi kemudian dibuat suspensinya pada media suspensi. Masing-masing karbohidrat pada API 50 CHL diinokulasikan dengan suspensi isolat bakteri yang diuji. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C [17]. Terjadinya perubahan warna dari warna biru menjadi hijau hingga kuning atau hitam dinyatakan sebagai uji positif.

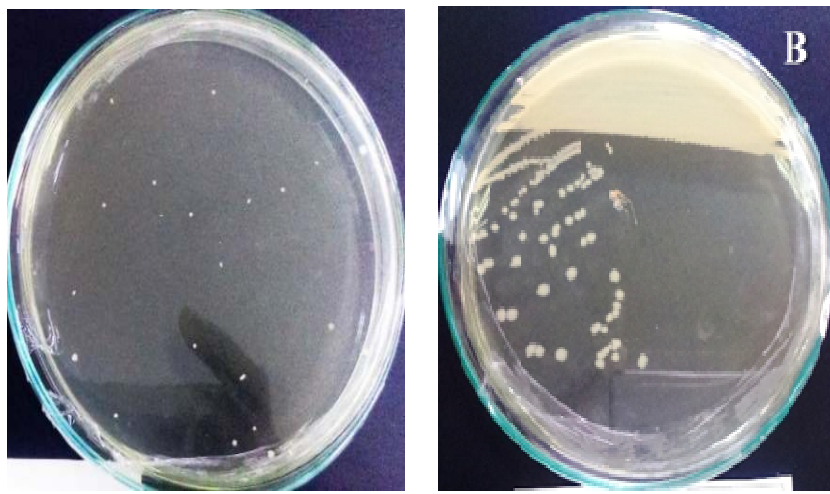
Analisis Data

Koloni LAB yang berhasil diisolasi di lanjutkan identifikasi dengan pewarnaan Gram, dan uji fermentasi menggunakan Kit API 50 CHL (*API Bio Merieux Perancis*). Analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer Apiweb™ Version V5.2 untuk mengidentifikasi spesies.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolasi bakteri merupakan sebuah teknik untuk mendapatkan koloni tunggal suatu bakteri. Sampel feses orangutan Sumatera diambil dari satu ekor orangutan dalam satu kali pengambilan di Stasiun Penelitian Suaq Belimbing. Isolasi BAL asal feses orangutan Sumatera pada liar dilakukan sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) ISO 68871: 2012. Koloni yang tumbuh merata pada media setelah diinkubasi selama 24 jam hanya pada pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} yang koloninya tumbuh terpisah, sedangkan pada pengenceran yang lain pertumbuhan bakteri sangat padat dan memenuhi semua permukaan media. Koloni yang tumbuh pada media MRS agar dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni BAL yang tumbuh pada media MRS, A= pengenceran 10^{-4} , B= pengenceran 10^{-5}

Proses isolasi dilakukan dengan teknik goresan. Kultur tumbuh terpisah diinokulasikan pada media agar MRS dengan metode gores dan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Koloni BAL tunggal yang tumbuh dimurnikan kembali dengan cara menginokulasikan kembali koloni ke dalam media MRS Agar secara goresan, kemudian diinkubasi kembali pada inkubator.

Hasil isolasi didapatkan koloni BAL yang tumbuh secara terpisah/tunggal. Tahap selanjutnya dilakukan identifikasi makroskopis dengan mengamati langsung morfologi koloni yang meliputi bentuk (*circular, irregular, spindle, filamentous, rhizoid*), tepian (*entire, lobate, undulate, serrate filamentous, curled*), elevasi (*flat, raised, convex, umbonate*), dan

warna. Hasil identifikasi makroskopis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi Isolat secara Makroskopik

No Isolat	Morfologi			
	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna
1 OUL	Bulat	Rata	Cembung	Krem

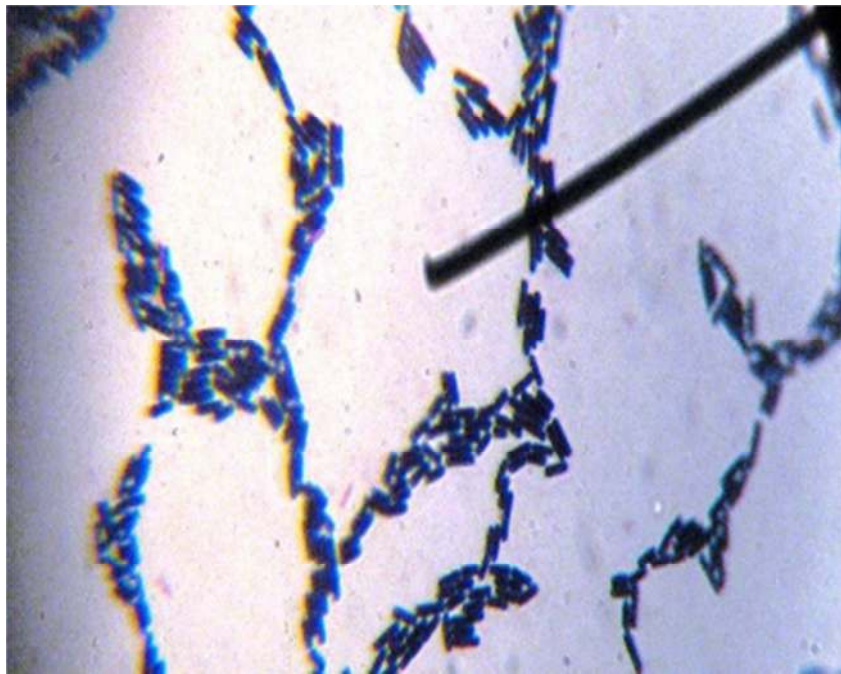
Media agar MRS yang bersifat selektif, yang menghambat pertumbuhan bakteri lain dan mendukung pertumbuhan BAL. Dari hasil identifikasi secara makroskopis didapatkan koloni BAL dengan bentuk bulat, tepian rata, elevasi cembungan berwarna krem. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sya'baniar (2017) yang melakukan isolasi BAL genus *Lactobacillus* yang diisolasi dari feses orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) di Kebun Binatang Kasang Kulim Bangkinang Riau, dengan hasil identifikasi secara makroskopis mendapat koloni dengan bentuk bulat, tepian rata, elevasi cembung serta berwarna krem [18].

Pewarnaan Gram

Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan cara pengamatan langsung di bawah mikroskop untuk mengamati morfologi dari sel BAL. Identifikasi BAL secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram digunakan untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta untuk membedakan bakteri Gram positif (warna ungu) dan Gram negatif (warna merah). Perbedaan warna disebabkan oleh perbedaan komposisi dinding sel. Menurut Campbell *et al.* (2008) bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih sederhana dengan jumlah peptidoglikan yang relatif banyak, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang lebih sedikit dan lebih kompleks secara struktural, dengan membran luar yang mengandung lipopolisakarida (karbohidrat yang berikatan dengan lipid) [19]. Hasil pewarnaan Gram bisa dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram terhadap isolat yang sudah identifikasi secara makroskopis didapatkan sel yang berbentuk batang (*basil*) dan berwarna ungu. Hal ini sesuai dengan ciri BAL yang merupakan kelompok bakteri Gram positif yang disatukan oleh

karakteristik morfologi, metabolik, dan fisiologis tertentu. Secara umum BAL merupakan kelompok Gram positif, tidak memiliki spora, dengan bentuk *coccus* dan *basil* yang menghasilkan asam laktat sebagai produk utama selama fermentasi karbohidrat [20]. Tahap selanjutnya dilakukan uji biokimia dengan menggunakan KIT API 50 CHL untuk menentukan spesies dan genus dari BAL yang sudah diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis.



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram BAL Orangutan liar

Uji Fermentasi Kit API 50 CHL

API 50 CHL digunakan untuk mengidentifikasi genus BAL hingga ke tingkat spesies. Kit API testtersusun atas 49 *tube* yang terdiri dari 49 jenis gula yang akan difermentasi oleh isolat uji. Fermentasi ditandai dengan perubahan warna indikator bromkresol ungu menjadi hijau kekuningan hingga kuning, kecuali jenis gula nomor 25 (*Esculin ferric citrate*) fermentasi ditandai dengan perubahan warna menjadi hitam. (apiweb.biomerieux.com). Hasil fermentasi isolat BAL OUL dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil uji memperlihatkan bahwa isolat BAL OUL asal orangutan liar dapat memfermentasi 10 jenis gula, diantaranya *D-Ribose*, *D-Glucose*, *D-Fructose*, *N-Acetyl Glucosamine*, *Esculin ferric citrate*, *D-Maltose*, *D-Melibiose*, *D-Sacharose*, *D-Trehalose* dan *Gentiobiose*. Salminen (2004) menyatakan bahwa kemampuan BAL untuk melakukan fermentasi gula merupakan salah satu

karakteristik penting untuk identifikasi genus BAL[20]. Winarno *et al.* (2003) juga menjelaskan bahwa sifat terpenting dari bakteri asam laktat adalah kemampuannya untuk memfermentasi gula menjadi asam laktat [21].



Gambar 3. Hasil fermentasi Kit API 50 CHL

Hasil identifikasi menggunakan API WEB *software* V5.2. menunjukkan isolat OUL adalah *Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii* dengan kemiripan 93,8% dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Identifikasi KIT API 50 CHL

No	Isolat	Identifikasi	Identity(%)
1	OUL	<i>Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii</i>	93,8 %

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat OUL termasuk ke dalam kelompok homofermentatif. Holzapfel (2014) menyatakan bahwa genus *Lactobacillus* sebahagian bersifat homofermentatif dan sebahagiannya lagi bersifat heterofermentatif, namun *Lactobacillus*

delbrueckii ssp delbrueckii dan *Lactobacillus salivarius* termasuk dalam kelompok homofermentatif, sedangkan *Lactococcus lactis ssp lactis* juga dikelompokkan dalam kelompok homofermentatif [22].

Genus *Lactobacillus* terdiri atas banyak spesies yang digunakan untuk fermentasi dan pengawet makanan. Dari 106 spesies *Lactobacillus*, 56 diantaranya berpotensi sebagai probiotik [23]. Beberapa probiotik dari genus *Lactobacillus* antara lain *L. achidophilus*, *L. casei*, *L. delbruecki*, *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. cellobiosus*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. farmicinis* dan *L. jonsoni* [24].

Selama pertumbuhannya, BAL dapat memproduksi komponen metabolit, seperti asam

organik, hidrogen peroksida, bakteriosin, dan komponen lainnya. Bakteriosin merupakan suatu peptida antimikroba yang dihasilkan bakteri asam laktat selama fase pertumbuhan eksponensial yang dalam jumlah yang cukup, dapat membunuh atau menghambat bakteri lain yang berkompetisi dalam ekologi yang sama [25]. BAL dapat menghasilkan molekul yang menarik di antaranya adalah *gamma amino butiric acid* (GABA) *exopolysaccharides* (EPS), *fructooligosaccharides* (FOS), asam lemak rantai pendek (SCFA), asam linoleat terkonjugasi (CLA), dan selenoprotein. Selain itu BAL juga diketahui sebagai probiotik, anti oksidan, anti kanker prostat, pengurang kolesterol, imunomodulator, memodulasi fungsi imunologi, anti-inflamasi dan pro inflamasi [1].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan KIT API 50 CHL dapat disimpulkan bahwa koloni bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* dengan spesies

Lactobacillus delbrueckii ssp delbrueckii terdapat pada feses orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) Liar di Stasiun Penelitian Suaq Belimbing Aceh Selatan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pessione E. 2012. Lactic Acid Bacteria Contribution to Gut Microbiota Complexity: Lights and Shadows. *Journal Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, Volume 2 : 1-15.
- [2] Adams, M.R and M.O. Moss. 2008. *Food Microbiology*. 3rd ed. The Royal Society of Chemistry Publishing, UK.
- [3] Havenaar, R. B.T . Brink, and J.H.J. In't Veld. 1992. Selection of strains for probiotic use. In : *Probiotics, The Scientific Basis*. Ed. Fuler, R. Chapman & Hall, London . pp. 209-224.
- [4] Tannock, G.W. 2002. *Probiotics and prebiotics. Where are we going?*. Norfolk, UK: Caister Acad Press.
- [5] Prasthani I. H.P., Masdiana C Pandaga, Dyah A. Oktavianie. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Feses Orangutan (*Pongo Pygmaeus*) Sebagai Kandidat Probiotik. *Student Journal Vet School Universitas Brawijaya* Vol. 1.
- [6] Syahputra, Y. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Feses orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) di Kebun Binatang Bukittinggi Sumatera Barat, *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- [7] Hajar S., Safika., Darmawi., Sary W. N., Rahmi E., Syahputra Y., Nurliana., Rinidar. 2016. Characterization of Lactic Acid Bacteria (LAB) Origin Sumatran Orangutan (*Pongo abelii*) In Zoo Bukittinggi Based On Analysis 16 S rRNA. *Int. Journal. Trop. Vet. Biomed. Res.*2:6-14.
- [8] Septiarini, W.E. 2011. Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Diisolasi dari Feses Orangutan (*Pongo pygmaeus*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri

- Enterik patogen secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.
- [9] Qaida Minati, Arman Sayuti, Idawati Nasution. 2014. Interpretasi Ukuran Jantung Orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) Berdasarkan Foto Rontgen Toraks Di Pusat Karantina Orangutan Sumatera Utara. *Jurnal Medika Veterinaria* Vol. 7, No. 2 ; 409-417.
- [10] Nater, A., M.P. Greminger, A. Nurcahyo, M.G. Nowak, M. de Manuel Montero, T. Desai, C.P. Groves, M. Pybus, T.B. Sonay, C. Roos, A.R. Lameira, S.A. Wich, J. Askew, M. Davila-Ross, G.M. Fredriksson, G. de Valles, F. Casals, J. Prado-Martinez, B. Goossens, E.J. Verschoor, K. S. Warren, I. Singleton, D. A. Marques, J. Pamungkas, D. Perwitasari-Farajallah, P. Rianti, A. Tuuga, I.G. Gut, M. Gut, P. OrozcoTerWengel, C.P. van Schaik, J. Bertranpetit, M. Anisimova, A. Scally, T. Marques-Bonet, E. Meijaard, and M. Krützen. 2017. in press. Morphometric, behavioural, and genomic evidence for a new orangutan species. *Current Biology*.
- [11] Rijksen, H.D., Meijaard, E. 1999. Our Vanishing Relative: The status of Wild Orang-utans at the close the Twentieth Century. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- [12] Singleton, I., Wich, S., Husson, S., Stephens, S., Atmoko, S.U., Leighton, M., Rosen, N., Traylor-Holzer, K., Lacy, R. & Byers, O. (eds.). 2004. Orangutan Population and Habitat Viability Assessment: Final Report. IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group, Apple Valley, MN.
- [13] Wich, S.A, Meijaard, E., Marshall, A.J, Huson, S., Ancrenaz, M., Robert, C.L., van Schaik, C.P., Sugardjito, J., Simorangkir, T., Kathy, T.H, Doughty, M., Supriatna, J., Dennis, R., Gumal, M., Knott, C.D., & Singleton, I. 2008. Distribution and conservation status of the orang-utan (*Pongo spp*) on Kalimantan and Sumatera: 43(3) : 329-339.
- [14] IUCN. 2017. IUCN. Red List of Threatened Species. Version 3 May 2017. www.iucnredlist.org.
- [15] Rahmi E., Agustina D dan Jamin F. 2014. Isolasi dan Identifikasi Genus *Salmonella* dan *Shigelladari* Feses Orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) di Pusat Reintroduksi Orangutan Jantho, *Jurnal Medika Veterinaria* Vol. 8 No. 1; 5-8.
- [16] Purwani, E., S.W.N. Hapsari, dan R. Rauf. 2009. Respon hambatan bakteri gram positif dan negatif pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diawetkan dengan ekstrak jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Kesehatan*. 2(1): 61-70.
- [17] Widyastuti Y., Sofarianawati E. 1999. Karakter Bakteri Asam Laktat Enterococcus sp. yang Diisolasi Dari Saluran Pencernaan Ternak. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, Vol 4 NO. 2 : 50-53.
- [18] Sya'baniar L., Erina, Sayuti A. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam laktat (BAL) Genus *Lactobacillus* Dari Feses Orangutan Sumatera (*Pongo abelii*) di Kebun Binatang Kasang Kulim Bangkinang Riau. *JIMVET*. 01(3): 351-359.
- [19] Campbell, N. A. & J. B. Reece. 2008. Biologi, Edisi Kedelapan Jilid 3. Terjemahan: Damaring Tyas Wulandari. Jakarta: Erlangga.
- [20] Salminen, S., Atte Von W., Arthur O. 2004. Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects Third Edition. Revised and Expanded, Marcel Dekker, Inc., New York.
- [21] Winarno FG, Ahnan WW, Widjajanto W. 2003. Flora Usus dan Yoghurt. Bogor (ID): M-BRIO Pr. hlm 9-17.
- [22] Holzapfel, W.H. and Wood, B.J.B. (2004) Lactic Acid Bacteria Biodiversity and Taxonomy. John Wiley and Sons, Ltd., United Kingdom.
- [23] Otieno, D.O. 2011. Biology of Prokaryotic Probiotics, In Probiotics, Microbiology Monographs (M.T. Liong, ed.) pp. 1-25. Springer-Verlag. Berlin.

- [24] Gibson, G.R. and M. Roberfroid. 2000.
Handbook Ingredients of Probiotics.
CRC Press, Australia.
- [25] Vasiljevic, T. dan Shah, N.P. 2008.
Probiotics-from Metchnikoff to
bioactive. *Int Dairy J.* Vol. 18 (7) :
714-728.