

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Yoghurt Bermerek CY

(Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from CY Brand Yoghurt)

Muhammad Saltes Albiansyah¹, Mutiara Salsabila², Aisyah Afina Muslimah³, Alya Istiana Annisa⁴, Megga Ratnasari Pikoli⁵

¹⁾ *Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*

²⁾ *Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*

³⁾ *Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*

⁴⁾ *Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*

⁵⁾ *Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*

Jl. Ir. H. Juanda No. 95, Kota Tangerang Selatan, Banten, 15412

Email: Saltes820@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat (BAL) memiliki peran penting dalam fermentasi pangan, termasuk yogurt, dengan menghasilkan asam laktat dan senyawa antimikroba yang mendukung keamanan dan mutu produk. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi BAL dalam yogurt komersial merek CY melalui metode *culture-dependent*. Isolasi dilakukan menggunakan media selektif MRSA dari sampel yogurt yang telah diencerkan, diikuti dengan pengamatan morfologi koloni dan pewarnaan sederhana. Hasil menunjukkan bahwa bakteri pada pengenceran CY-1 dan CY-3 memiliki morfologi koloni yang sesuai dengan genus *Streptococcus*, didukung oleh hasil yang menunjukkan bentuk kokus, hasil ini memiliki kesesuaian dengan komposisi produk kemasan yoghurt CY. Pengukuran pH yogurt didapatkan rata-rata sebesar 3,58, nilai pH lebih rendah dari standar yang ditetapkan SNI 2981:2009 yang berkisar antara 3,80 hingga 4,50. Kesimpulannya, genus *Streptococcus* merupakan BAL dominan dalam produk tersebut, namun dibutuhkan analisis molekuler untuk validasi lebih lanjut.

Keywords: Bakteri Asam Laktat; Isolasi dan Identifikasi Bakteri; SNI 2981:2009; Yoghurt komersial

PENDAHULUAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif yang memiliki kemampuan memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat sebagai produk utama metabolisme. Selain itu, BAL juga dapat menghasilkan senyawa antimikroba, seperti hidrogen peroksida, bakteriosin, dan asam organik lainnya yang berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen. BAL memiliki peran penting dalam industri pangan, khususnya pada proses fermentasi produk olahan susu seperti yogurt.

Yogurt merupakan salah satu olahan dari susu sapi segar, bakteri starter, pemberi cita rasa, dan penambahan susu skim sebagai pengental (Nugroho et al., 2023). Terdapat berbagai macam BAL dalam pembuatan yogurt, seperti *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, dan *Bifidobacterium* spp. (Rashwan et al., 2022). Bakteri Asam Laktat (BAL) memiliki sel berbentuk kokus, tersusun berpasangan atau berbentuk rantai, katalase negatif, tidak membentuk spora, anaerob fakultatif, bersifat non motil, dan tergolong mesofil karena tumbuh optimal pada suhu sedang (El Kahlout et al., 2018).

Sifat yang terpenting dari BAL adalah kemampuannya untuk merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dihasilkan asam pada pangan fermentasi. BAL dapat diisolasi dari berbagai sumber antara lain dari susu hasil fermentasi, sayuran yang telah busuk dan dari saluran pencernaan ikan atau udang (Amor et al., 2024). BAL termasuk dalam kelompok bakteri baik dan umumnya memenuhi status GRAS (*Generally Recognized as safe*) yaitu aman bagi manusia, sehingga dapat diaplikasikan sebagai agen probiotik. Probiotik adalah mikroba menguntungkan dan bermanfaat untuk memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan dan memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Untuk dapat memanfaatkan BAL sebagai agen probiotik, diperlukan tahapan awal berupa isolasi dan kultivasi untuk memperoleh biakan murni yang dapat dikarakterisasi lebih lanjut (Pratama et al., 2019).

Isolasi dan kultivasi merupakan dua tahapan penting untuk memperoleh dan memperbanyak mikroorganisme tertentu. Isolasi adalah proses pemisahan mikroorganisme dari suatu sampel campuran untuk mendapatkan koloni individu atau biakan murni yang berasal dari satu jenis mikroba. Proses ini biasanya dilakukan dengan metode gores (*streak plate*) pada media padat, agar koloni dapat tumbuh secara terpisah (Kurahman et al., 2020). Sementara itu, kultivasi adalah proses menumbuhkan mikroorganisme di dalam media kultur baik padat maupun cair yang sesuai dengan kebutuhan nutrisinya. Proses ini bertujuan untuk memperbanyak jumlah mikroorganisme agar dapat diamati karakteristiknya, diuji aktivitas biologisnya, atau digunakan dalam aplikasi tertentu. Kultivasi dilakukan dalam kondisi yang dikontrol, seperti suhu, pH, dan ketersediaan oksigen, agar mikroorganisme dapat tumbuh secara optimal (Sakamoto, 2023).

Identifikasi BAL dapat dilakukan dengan dua metode utama, yaitu identifikasi tergantung-kultivasi (*culture-dependent*) dan tidak tergantung-kultivasi (*culture-independent*). Identifikasi tergantung-kultivasi merupakan serangkaian teknik yang bergantung pada kemampuan bakteri untuk tumbuh pada media buatan. Setelah pertumbuhan koloni diamati, dilakukan analisis lanjutan seperti pewarnaan sederhana, uji katalase, pengamatan morfologi sel, serta uji biokimia spesifik untuk menentukan jenis bakteri. Meskipun masih banyak digunakan, metode ini memiliki keterbatasan karena

tidak semua bakteri dapat tumbuh optimal di luar habitat alaminya (Agustine et al., 2019). Setelah proses identifikasi dilakukan, BAL dapat dikelompokkan ke dalam klasifikasi taksonomi yang sesuai berdasarkan karakteristik yang telah diketahui. Klasifikasi bakteri merupakan proses sistematis untuk mengelompokkan bakteri ke dalam taksonomi tertentu berdasarkan karakteristik morfologi, fisiologi, genetik, dan biokimia (Sakamoto, 2023).

Yogurt CY merupakan produk pangan fermentasi yang telah dikenal luas dan diminati oleh masyarakat. Seiring dengan meningkatnya konsumsi yogurt, perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji kandungan bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat dalam produk yogurt komersial (Rully et al., 2023). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kesesuaian penelitian dengan membuktikan keberadaan kandungan bakteri yang tercantum pada komposisi bahan produk yoghurt CY, yaitu *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* melalui serangkaian metode identifikasi bakteri.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Pusat Laboratorium Terpadu (PLT) UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Pada penelitian ini, dilakukan isolasi bakteri asam laktat dari yogurt komersial. Kemudian, menghitung jumlah koloni dan identifikasi morfologi bakteri. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah yogurt komersial bermerek CY, media selektif MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*), NaCl 0,85%, *gentian violet*, dan aquadest. Alat-alat yang digunakan adalah inkubator, autoklaf, pH meter, mikropipet, tip 1000 μ L dan 100 μ L, cawan petri, vortex, tabung reaksi, objek glass dan cover glass, minyak imersi, mikroskop cahaya dan kamera.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, yaitu pengukuran pH, isolasi bakteri, identifikasi karakteristik koloni, dan pewarnaan sederhana. Isolasi dilakukan dengan metode *spread* pada media MRSA dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, dilakukan pengamatan morfologi koloni secara makroskopis serta penghitungan jumlah koloni dari hasil pengenceran serial. Koloni terpilih kemudian diambil untuk dilakukan pewarnaan sederhana guna mengetahui karakteristik dinding sel bakteri.

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Sebanyak tiga sampel yogurt CY dari batch yang berbeda diambil sebagai sampel komposit. Pengukuran pH masing-masing sampel dilakukan menggunakan pH meter. Selanjutnya, yogurt diambil secara aseptik sebanyak 1 gram dari masing-masing batch, sehingga diperoleh total 3 gram. Sampel tersebut kemudian dicampurkan secara homogen di atas cawan petri menggunakan ose steril. Setelah tercampur, 1 gram yogurt diambil dari

sampel tersebut untuk dilakukan pengenceran. Pengenceran dilakukan dengan faktor pengenceran 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-6} . Pengenceran bertujuan untuk mendapatkan koloni bakteri yang terpisah ketika ditumbuhkan di medium. Hasil pengenceran ketiga terakhir ditanam dengan metode *spread plate* dalam media MRSA, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Identifikasi & Perhitungan Bakteri Asam Laktat (BAL)

Setelah 48 jam inkubasi, cawan petri diamati untuk menghitung jumlah koloni yang tumbuh. Perhitungan dilakukan terhadap koloni yang tampak secara makroskopis pada permukaan media. Selain itu, karakteristik koloni diamati secara morfologis, meliputi bentuk, ukuran, tepi, elevasi, warna, serta permukaan koloni. Dokumentasi visual dilakukan dengan memotret cawan petri menggunakan kamera digital dengan pencahayaan yang seragam untuk mendukung analisis dan pencatatan data. Berdasarkan tahapannya, identifikasi bakteri dilakukan dengan *culture dependent method*.

Pewarnaan Sederhana

Membuat slide dengan mengambil sedikit sampel dari media atau kultur dengan menggunakan ose dan oleskan pada kaca objek yang sudah ditetesi NaCl 0,85%, sebarakan hingga membentuk film tipis di atas kaca objek, lalu keringkan di dekat udara panas pembakar spiritus. Lakukan fiksasi dengan melewati preparat dengan cepat pada nyala api sebanyak tiga kali. Setelah itu, beri beberapa tetes gentian violet pada permukaan preparat dan biarkan selama beberapa detik. Kemudian bilas zat warna dengan akuades. Lalu keringkan preparat dengan menekan-nekan preparat secara perlahan dengan tissue. Setelah preparat kering, pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya. Lensa objektif 100x digunakan bersama dengan minyak imersi untuk meningkatkan resolusi dan kejernihan gambar. Minyak imersi ditetaskan langsung pada preparat sebelum lensa objektif diturunkan. Pengamatan difokuskan pada morfologi sel bakteri, termasuk bentuk dasar (kokus, basil, atau spiral) serta pola penyusunan (misalnya, tunggal, berantai, atau berkelompok).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran pH dari tiga batch sampel yogurt CY ditampilkan pada **Tabel 1**. Nilai rata-rata pH yang diperoleh sebesar 3,58. Berdasarkan hasil pengukuran pH pada ketiga sampel, nilai pH yang terukur lebih rendah dari standar yang ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) 2981:2009 yang berkisar antara 3,80 hingga 4,50. Nilai ini menunjukkan bahwa seluruh sampel memiliki tingkat keasaman yang cukup tinggi dan mencerminkan peningkatan produksi metabolit asam, terutama akibat aktivitas enzimatik bakteri asam laktat (BAL) selama proses fermentasi, yang berkontribusi pada penurunan

pH akhir produk. pH yang rendah berfungsi untuk menurunkan pH medium serta berperan penting dalam pembentukan cita rasa asam, pengawetan produk, dan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme patogen (Berutu et al., 2023).

Tabel 1. Hasil Pengukuran pH Ketiga Sampel Yogurt CY

Sampel	pH
1	3,62
2	3,51
3	3,62
Rata-rata	3,58

Setelah melalui serangkaian tahapan mulai dari pengukuran pH, pengenceran serial, inokulasi pada media selektif MRSA, dan inkubasi diperoleh pertumbuhan serta karakteristik koloni bakteri yang berhasil diisolasi. Prosedur ini dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan dan profil awal bakteri asam laktat (BAL) yang terkandung dalam sampel yogurt komersial bermerek CY. Parameter yang diamati meliputi jumlah koloni dan morfologi makroskopis koloni BAL pada media selektif. Hasil isolasi tersebut disajikan pada gambar berikut.



Gambar 1. Karakteristik Koloni BAL pada Media MRS

Tabel 2. Deskripsi Morfologi Koloni dari Sampel Yoghurt CY

Kode Isolat	Ciri-Ciri Koloni Bakteri							Jumlah Koloni
	Warna	Ukuran	Bentuk	Elevasi	Permukaan	Margin	Opacity	

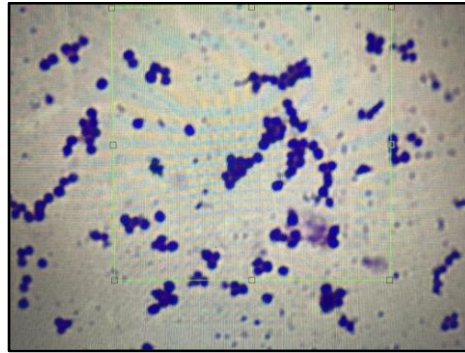
CY-1	<i>Putih</i>	<i>Small</i>	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Halus</i>	<i>Entire Lobate</i>	<i>Opaque</i>	4
CY-2	-	-	-	-	-	-	-	0
CY-3	<i>Putih</i>	<i>Small</i>	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Halus</i>	<i>Entire Lobate</i>	<i>Opaque</i>	1

Berdasarkan data pada **Tabel 2.** telah berhasil diisolasi tiga isolat bakteri dari sampel yogurt yang diberi kode sesuai besaran pengenceran. Isolat CY-1 dan CY-3 menunjukkan kesamaan dalam karakteristik morfologi koloni. Keduanya memiliki warna putih, ukuran koloni kecil (small), bentuk koloni sirkular, elevasi datar (flat), permukaan halus (halus), margin kombinasi antara entire dan lobate, opasitas koloni yang opaque (tidak tembus cahaya), serta berukuran 0,5–2 mm. Karakteristik ini sering dikaitkan dengan koloni bakteri Gram positif, terutama dari genus *Lactobacillus* atau *Streptococcus*, yang umum ditemukan dalam produk fermentasi seperti yoghurt (Rizkinata et al., 2018). Organisme ini termasuk dalam kingdom *Bacteria*, filum *Firmicutes*, dan kelas *Bacilli*. Ia tergolong dalam ordo *Lactobacillales* serta famili *Streptococcaceae* dan genusnya adalah *Streptococcus* (Aryati et al., 2018).

Perbedaan jumlah koloni yang terbentuk cukup mencolok, di mana isolat CY-1 menghasilkan 4 koloni, sedangkan CY-3 hanya menghasilkan 1 koloni. Hal ini dapat mencerminkan perbedaan kelimpahan atau viabilitas mikroorganisme dari titik isolasi yang berbeda dalam sampel yoghurt. Faktor-faktor seperti distribusi mikroba dalam sampel, pH lokal, atau keberadaan senyawa antimikroba juga dapat mempengaruhi jumlah koloni yang tumbuh (Bilqis et al., 2016).



Gambar 1. Hasil Kultur Murni Sampel Yogurt CY. A Sebagai Isolat CY-1 dengan Pertumbuhan 4 Koloni Bakteri Karakteristik Sama. B Sebagai Isolat CY-3 dengan Pertumbuhan 1 Koloni Bakteri.



A

Gambar 2. Hasil Identifikasi Bakteri Asam Laktat Secara Mikroskopis dengan Pewarnaan Sederhana pada Perbesaran 1000x. A (Morfologi Isolat Bakteri dari Mikroskop Cahaya)

Berdasarkan pengamatan karakteristik morfologi bakteri yang tumbuh, teridentifikasi sebagai kandidat bakteri genus *Streptococcus*. Selanjutnya dilakukan validasi dengan melakukan pengujian pewarnaan sederhana bakteri pada media kultur menggunakan *gentian violet*. Hasil yang didapatkan tertera pada **Gambar 2.**, terlihat morfologi selnya berbentuk *coccus* dalam pengamatan dibawah mikroskop cahaya dan mikroskop digital dengan perbesaran 1000x, Gram positif, tidak membentuk endospora, tidak mengandung lapisan lilin pada dinding selnya. Karakteristik ini sesuai dengan morfologi sel bakteri *Streptococcus* (Sugata et al., 2024). Sementara itu, Tidak terdeteksi koloni dengan morfologi yang mengindikasikan keberadaan *Lactobacillus bulgaricus* dalam kondisi pengujian ini. Hasil ini tidak dapat dijadikan dasar untuk menyimpulkan ketiadaan bakteri tersebut, karena mungkin dipengaruhi oleh keterbatasan metode isolasi yang digunakan.

Pada penelitian ini tidak dilakukan pengumpulan data kuantitatif seperti perhitungan TPC, karena jumlah koloni yang ditemukan pada isolat CY-1 dan CY-3 masing-masing sebanyak 4 dan 1 koloni, tidak memenuhi syarat minimal validasi kuantitatif (<30 koloni). Maka dari itu, tidak dilakukan perhitungan TPC dan data ini tidak dibandingkan secara langsung dengan standar viabilitas bakteri SNI, yaitu sebanyak 1×10^7 dalam satu kemasan dari kombinasi bakteri yang ada pada komposisi bahan. Pada media kultur hanya ditemukan pertumbuhan koloni bakteri kandidat genus *Streptococcus*, hal ini tidak sesuai dengan komposisi bakteri yang tertera pada kemasan yaitu adanya kombinasi bakteri *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*.

PENUTUP

Morfologi koloni dan hasil pewarnaan menunjukkan karakteristik kokus Gram positif yang konsisten dengan genus *Streptococcus*. Namun, karena keterbatasan metode yang

digunakan, identifikasi genus masih bersifat dugaan awal dan belum dapat dipastikan secara definitif. Kemudian pengukuran pH yang diperoleh kurang dari standar SNI 2981:2009 yang berkisar antara 3,80 hingga 4,50. Untuk memastikan identitas bakteri secara lebih akurat, disarankan melakukan penambahan metode identifikasi lain yang berkaitan dan melakukan analisis lanjutan menggunakan metode molekuler seperti PCR.

REFERENSI

Agustine, L., Okfrianti, Y., & Jumiati, J. (2019). Identifikasi total bakteri asam laktat (BAL) pada yoghurt dengan variasi sukrosa dan susu skim. *Jurnal Dunia Gizi*, 7(2), 97–104.

Amor Tresna K., Dodi Darmakusuma, Rony S. Mauboy, Djeffry Amalo, Abdullah Mutis. (2024). Potensi bakteri asam laktat sebagai penghasil senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler. *Jurnal Biotropikal Sains*, 21(2), 56-65.

Aryati Abdul, Syams Kumaji, Faisal Duengo. (2018). Pengaruh penambahan susu sapi terhadap kadar asam laktat pada pembuatan yoghurt jagung manis oleh *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. *Jurnal Biologi Makassar*, 3(2), 1-9.

Berutu, P. J., Arief, I. I., Soenarno, M. S., & Dekriyatna, L. C. E. N. S. (2023). Karakteristik fisikokimia, mikrobiologi, dan uji pasar yogurt smoothies rosela stroberi pada usia remaja dan dewasa di bogor. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 28(4), 546–556. <https://doi.org/10.18343/jipi.28.4.546>

Bilqis, R. F., Wahyuningsih, E. N., & Darundiati, H. Y. (2016). Faktor-faktor yang berhubungan dengan jumlah koloni bakteri dan keberadaan *E. coli* pada air cucian peralatan makan pedagang makanan di Tembalang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro*, 4(3), 888-896.

El Kahlout, K.E.M., El Quqa, I.M., El Hindi, M.W. & El Bashiti, T.A. (2018). Isolation, biochemical characterization and DNA identification of yogurt starters *Streptococcus thermophilus* & *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in Gaza Strip. *Advances in Microbiology*, 8, 1005-1020. <https://doi.org/10.4236/aim.2018.812068>

Kurahman, T. O., Yuliawati, A., Haerunnisa, L., Supriyatna, A., Cahyanto, T., Suryani, Y., Supriadin, A., Hidayat, C., & Masri, M. (2020). The isolation and identification bacteria on jallalah animal sStudy on the feeding tilapia (*Oreochromis niloticus*) with chicken manure as foods. *Journal of Islamic Science and Technology*, 6(2), 222-236.

Nugroho, R. M., Wanniatie, V., Qisthon, A., & Septinova, D. (2023). Sifat fisik dan total bakteri asam laktat (BAL) yoghurt dengan bahan baku susu sapi yang berbeda. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan*, 7(2), 279-286.

Pangestu, R. F., Legowo, A. M., Al-Baarri, A. N., & Pramono, Y. B. (2017). Aktivitas antioksidan, pH, viskositas, viabilitas bakteri asam laktat (BAL) pada yogurt powder daun kopi dengan jumlah karagenan yang berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(2), 78–84. <https://doi.org/10.17728/jatp.185>

Pratama, D., R., Aritonang, S., N., Adnani, I., Roza, E., Yellita, Y., Pratama, Y., E., & Purwati, E (2019). Implementasi teknologi yoghurt dengan menggunakan kultur bakteri isolat dari dadiah asal nagari tanjung bonai untuk pemberdayaan peternak di jorong kayu maranting. *Jurnal Hilirisasi IPTEKS*, 2(4), 481–489.

Rashwan, N. Karim, Y. Xu, H. Cui, J. Fang, K. Cheng. (2022). Chemical composition, quality attributes and antioxidant activity of stirred-type yogurt enriched with *Melastoma dodecandrum* lour fruit powder. *Food & Function*, 13 (3), 1579-1592.

Rizkinata, D., Andrian, D., Tan, S. R. S., Jap, L., & Tan, T. J. (2018). Isolation of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* as starter culture candidate originated from Indonesian Cow's milk. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 46 (3), 201–209. <https://doi.org/10.4014/mbl.1805.05011>

Sakamoto, M. (2023). Isolation, Cultivation, and Classification of Microorganisms. *Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria*, 34(1), 3–8.

Sugata, M., Layarda, M., Chrislin, F., & Jan, T. (2024). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari susu sapi di Indonesia. *Jurnal Biologi Udayana*, 28(1), 19-28. <https://doi:10.24843/JBIOUNUD.2024.v28.i01.p02>

Zampieri, A., Babbucci, M., Carraro, L., Milan, M., Fasolato, L., Cardazzo, B. (2021). Combining culture-dependent and culture-independent methods: New methodology insight on the vibrio community of *Ruditapes philippinarum*. *Foods*, 10(6), 1271.