

## Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Yoghurt Komersial 'EV'

### *Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Commercial Yoghurt 'EV'*

Arva Soraya Putri<sup>1)</sup>, Aulia Lutfi Alawiyah<sup>2)</sup>, Naqiya Nurul Izzah<sup>3)</sup>, Megga Ratnasari  
Pikoli<sup>4)</sup>

- 1) *Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*
- 2) *Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*
- 3) *Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*
- 4) *Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta  
Jl. Ir. H. Juanda No. 95, Ciputatm Kec. Ciputat Timur, Kota Tangerang Selatan*

Email: [arvaaasp01@gmail.com](mailto:arvaaasp01@gmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat (BAL) dari yoghurt komersial merek EV. BAL berperan penting dalam fermentasi, menghasilkan asam laktat yang menurunkan pH dan berfungsi sebagai probiotik. Isolasi dilakukan dengan metode *spread plate* pada media MRS agar, dilanjutkan karakterisasi koloni secara makroskopis dan mikroskopis serta pewarnaan sederhana. Hasil menunjukkan rata-rata nilai pH yoghurt dari 3 batch sampel sebesar 3,76 belum memenuhi standar SNI. Jumlah koloni BAL yang diperoleh hanya  $5 \times 10^4$  CFU/mL, di bawah standar minimum  $10^7$  CFU/mL. Morfologi menunjukkan keberadaan *Streptococcus thermophilus* sebagai BAL dominan yang terdapat pada yoghurt komersial EV. Meskipun produk mengklaim mengandung starter *Bifidobacterium*, bakteri tersebut tidak ditemukan secara morfologis. Penelitian ini menunjukkan pentingnya verifikasi menggunakan metode molekuler untuk mengidentifikasi BAL secara akurat.

**Keywords:** Bakteri Asam Laktat; Fermentasi; Isolasi; Karakterisasi; Yoghurt

### PENDAHULUAN

Yoghurt merupakan produk olahan susu yang dihasilkan melalui proses fermentasi oleh mikroorganisme, khususnya bakteri asam laktat (BAL). Proses ini tidak hanya mengubah laktosa menjadi asam laktat, tetapi juga berperan dalam pembentukan tekstur, cita rasa, dan aroma khas untuk produk fermentasi yoghurt. Selain itu, aktivitas bakteri asam laktat (BAL) akan menurunkan pH produk sehingga dapat meningkatkan daya simpan dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen (Purwantiningsih, *et al.*, 2022)

Jenis bakteri asam laktat yang biasanya digunakan adalah *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgarius*. Suhu optimum untuk bakteri *Lactobacillus bulgarius* dalam memecah laktosa menjadi asam laktat adalah 42-45°C sedangkan bakteri *Streptococcus thermophilus* dengan suhu optimumnya sekitar 38-42°C (Widiani et al., 2017). Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 2981:2009, yoghurt yang baik harus mengandung bakteri asam laktat hidup minimal 10<sup>7</sup> CFU/g pada akhir masa disimpan. BAL umumnya bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, katalase negatif, serta menghasilkan asam laktat sebagai metabolit utama. Selain berperan dalam fermentasi, BAL juga dikenal sebagai probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan, antara lain dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus, meningkatkan sistem imun, serta membantu mencegah infeksi saluran pencernaan. (Rahmadhany, 2022)

Isolasi dan karakterisasi BAL dari yoghurt komersial sangat penting dilakukan untuk mengetahui keragaman dan potensi probiotik dari strain yang digunakan. Karakterisasi ini juga berperan dalam menjamin kualitas mikrobiologis produk, memastikan keamanan pangan, serta mendukung pengembangan produk fermentasi yang inovatif dan bernilai tambah tinggi (Pamela, 2022). Pemahaman terhadap karakteristik BAL diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam peningkatan mutu dan keamanan yoghurt komersial di pasaran.

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri asam laktat (BAL) pada yoghurt komersial yang sering dikonsumsi masyarakat, serta mengetahui apakah jumlah koloni telah sesuai dengan standar mutu mikrobiologis berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI).

## **METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 22 – 29 April 2025 di Laboratorium Mikrobiologi Dasar, Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Penelitian dilakukan selama kurang lebih 1 minggu.

### **Alat dan Bahan**

Penelitian ini menggunakan berbagai alat laboratorium yang meliputi inkubator untuk proses inkubasi, autoklaf untuk sterilisasi, serta pH meter untuk mengukur tingkat keasaman sampel. Mikropipet dengan kapasitas 100 µL dan 1000 µL beserta tip-nya digunakan dalam proses pengambilan dan pengenceran sampel. Cawan petri dan tabung reaksi digunakan sebagai wadah kultur dan media pengenceran, sementara vortex digunakan untuk homogenisasi larutan. Untuk analisis mikroskopis, digunakan kaca objek dan kaca penutup, mikroskop cahaya, minyak imersi, serta kamera untuk dokumentasi visual.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yoghurt komersial E sebagai sumber isolat bakteri, Media MRS (*de Man, Rogosa, and Sharpe*) produksi Himedia yang digunakan sebagai media selektif untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Larutan NaCl 0,85% digunakan sebagai pelarut dalam proses pengenceran bertingkat. Selain itu,

digunakan aquadest sebagai pelarut umum dan *gentian violet* sebagai pewarna dalam metode pewarnaan sederhana untuk pengamatan mikroskopis.

### **Isolasi dan Kultivasi Bakteri Asam Laktat**

Pengambilan sampel yoghurt komersial EV dilakukan secara komposit dari tiga *batch* berbeda. Setiap sampel diukur nilai pH-nya menggunakan *pH meter*. Kemudian, sampel yoghurt dibuat dengan mengambil sebanyak 1 gr pada masing-masing kemasan dan dihomogenkan sehingga terdapat 3 gr sampel yoghurt. Lalu, dilakukan analisis jumlah total bakteri dengan metode *Total Plate Count* (TPC), yaitu dengan melakukan pengenceran bertingkat  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ , dan  $10^{-6}$  menggunakan larutan NaCl 0,85%. Hasil pengenceran kemudian diinokulasi pada media MRS agar (*Agar De Man–Rogosa–Sharpe*) menggunakan metode sebar (*spread plate*) dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam.

### **Perhitungan Jumlah Koloni dengan Teknik TPC**

Setelah diinkubasi selama 48 jam, didapatkan koloni yang tumbuh pada media MRSA, koloni tersebut dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah bakteri (CFU/mL)} = \frac{\Sigma C}{(10^{-1} \times \text{pengenceran})}$$

: jumlah pengenceran yang digunakan

### **Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL)**

Setelah sampel diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , dilakukan pengamatan terhadap koloni yang tumbuh pada media MRSA. Setiap koloni yang tumbuh pada cawan petri dihitung jumlahnya, dicatat karakter morfologinya (bentuk, warna, tepi, dan elevasi), serta didokumentasikan melalui foto. Morfologi diamati dibawah mikroskop cahaya tanpa mengeluarkan isolat dari cawan petri menggunakan perbesaran 40x dan hasil didokumentasikan.

### **Pewarnaan Sederhana pada Bakteri Asam Laktat**

Karakterisasi seluler yang diduga sebagai Bakteri Asam Laktat (BAL) dari isolat bakteri dilakukan melalui metode pewarnaan sederhana menggunakan *gentian violet*. Koloni yang terpilih dari hasil pengenceran yang paling baik diambil dan dioleskan pada kaca objek, dilakukan prosedur pewarnaan sederhana terhadap isolat yang terpilih, dan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan bantuan minyak imersi. Untuk memperjelas hasil pengamatan isolat diamati lagi menggunakan Mikroskop OPTILAB IRIS-4 dan hasil ditampilkan pada komputer menggunakan aplikasi Optika Vision Pro sehingga hasil dapat diamati lebih jelas. Karakter morfologi seluler, seperti bentuk dan susunan sel, yang telah diamati didokumentasikan melalui pencatatan dan pemetretan.

Berdasarkan data hasil pengamatan morfologi koloni, karakter mikroskopis, dan rujukan dari literatur, dilakukan klasifikasi isolat bakteri hingga ke tingkat taksonomi tertentu, mencakup domain, filum, kelas, ordo, famili, genus, dan kemungkinan spesies.

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### Hasil Uji pH terhadap 3 Sampel Yoghurt EV

Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) (2009) menyatakan syarat mutu pH yogurt yang baik berkisar antara 3,80–4,50. Selain itu, syarat minimal total bakteri asam laktat (BAL) yang terkandung dalam yogurt adalah sebesar  $10^7$  CFU/mL. Bakteri asam laktat (BAL) yang terbentuk selama proses fermentasi akan menurunkan pH yogurt sehingga kasein susu akan mengalami koagulasi dan pembentukan gel. Uji pH telah dilakukan pada tiap sampel yoghurt EV dan didapatkan data hasil seperti pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Hasil uji pengukuran pH

| Batch     | pH   |
|-----------|------|
| 1         | 3,81 |
| 2         | 3,75 |
| 3         | 3,74 |
| Rata-rata | 3,76 |

Pengukuran pH pada tiga batch sampel yoghurt, yang masing-masing merepresentasikan satu kemasan produk, menunjukkan tingkat keasaman yang berada dalam rentang hampir seragam, dengan nilai pH berkisar antara 3,74 hingga 3,81. Setelah dihitung rata-rata pH dari ketiga batch sampel, didapatkan hasil rata-rata dari ketiga batch sampel tersebut adalah 3,76. Hal ini menandakan sampel yoghurt komersial EV belum memenuhi standar pH yang sesuai untuk produk yoghurt fermentasi. Nilai pH yang lebih asam dari standar ini juga menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang terdapat pada yoghurt komersial EV masih aktif dalam proses fermentasi dan memberikan karakteristik rasa asam khas pada yoghurt (Widhyasih, *et al.*, 2022).

Fermentasi oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) pada yoghurt komersial ini menghasilkan asam laktat sebagai produk utama metabolisme karbohidrat, yang menyebabkan penurunan pH dalam substrat susu. Penurunan pH ini akan berdampak pada denaturasi protein susu, khususnya kasein, yang kemudian menyebabkan terjadinya koagulasi dan pembentukan struktur gel khas yoghurt. Oleh karena itu, semakin tinggi aktivitas fermentatif BAL, semakin rendah nilai pH yang tercapai. Selain itu, nilai pH yang mendekati batas bawah seperti halnya pH 3,74 pada sampel 3 menunjukkan kemungkinan aktivitas BAL yang cukup tinggi, yang bisa berdampak pada rasa lebih asam dan tekstur lebih padat (Saragih *et al.*, 2025). Hal ini juga dibuktikan pada saat

dilakukannya pengamatan, tekstur sampel yoghurt komersial EV yang sangat padat dan lebih kental dibandingkan dengan sampel yoghurt komersial *brand* lainnya.

Hasil pengujian pH ini menunjukkan bahwa yoghurt EV mengandung aktivitas fermentasi BAL yang baik, tetapi belum mencapai kualitas keasaman yang sesuai standar seperti disyaratkan oleh SNI 2981:2009.

### **Isolasi dan Kultivasi Bakteri Asam Laktat (BAL)**

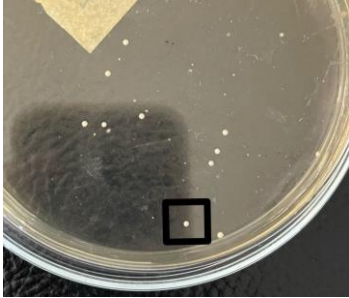
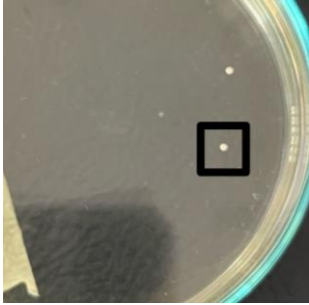
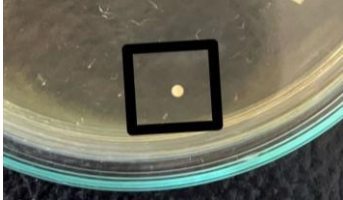
Isolasi merupakan metode yang memisahkan mikroorganisme satu dengan mikroorganisme lainnya, agar mendapatkan biakan murni yang setelahnya dapat dilakukan proses identifikasi bakteri tersebut (Taib *et al.*, 2023). Sedangkan, kultivasi bakteri merupakan usaha dalam menumbuhkan mikroorganisme pada media kultur. Biakan murni atau kultur murni yang didapatkan dari hasil penelitian ini akan membuktikan keberadaan bakteri pada yoghurt komersial EV. Metode isolasi yang paling umum digunakan untuk melakukan isolasi dan karakterisasi suatu mikroorganisme, yaitu metode *spread-plate* (cawan sebaran) dan metode *pour-plate* (cawan tuang). Kedua metode ini didasarkan pada prinsip yang sama yaitu mengencerkan organisme sedemikian rupa sehingga individu spesies dapat dipisahkan dan akhirnya didapatkan biakan murni (Reza, 2024).

Pada penelitian ini, setelah sampel yoghurt di siapkan, dilakukan isolasi dan kultivasi bakteri asam laktat (BAL) dengan menggunakan metode atau teknik *spread-plate* (cawan sebaran). Metode isolasi ini dengan cara menyebarkan sampel cair yoghurt yang telah disiapkan pada permukaan media MRSA (*de Man, Rogosa, and Sharpe*) dalam cawan petri steril. Setelah di inkubasi, pada permukaan media akan tumbuh koloni-koloni terpisah sehingga menghasilkan biakan murni. Sedangkan, jika penelitian ini menggunakan metode atau teknik *pour-plate* suspensi dari sampel cair akan dituang bersamaan dengan menuangkan media yang masih cair ke dalam cawan petri. Hasil koloni akan tumbuh didalam media agar yang mengeras. Metode-metode tersebut merupakan metode kultur-*dependent*, yaitu metode yang mengandalkan pertumbuhan mikroorganisme di media kultur untuk identifikasi, enumerasi, atau isolasi. Artinya, mikroba yang dapat tumbuh dan diamati berasal dari sampel yang diinokulasi ke dalam atau di atas media tertentu (Apriyani, 2020).

Pada penelitian ini digunakan media MRSA karena media ini mengandung beberapa komponen yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat (Nochebuena-Pelcastre *et al.*, 2023). Media MRSA (*de Man, Rogosa, and Sharpe*) mengandung dekstrosa, ekstrak daging, ekstrak ragi, ammonium sitrat ( $\text{NH}_4$ ), magnesium sulfat ( $\text{MgSO}_4$ ), pepton, natrium asetat ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), dikalium fosfat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), tween 80, dan mangan sulfat ( $\text{MnSO}_4$ ). Kandungan ammonium sitrat pada pH rendah akan menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat. Dikalium fosfat dan natrium asetat merupakan dapar atau penyangga untuk menjaga pH tetap rendah, sementara tween 80 adalah pelarut zat-zat lain. Mangan dan magnesium sulfat merupakan sumber dari ion dan sulfat. Sedangkan pepton, daging dan ragi adalah sumber nutrisi untuk pertumbuhan karena mengandung nitrogen, vitamin, mineral dan asam amino. Sedangkan, dekstrosa pada media ini adalah karbohidrat fermentasi yang berfungsi sebagai karbon dan sumber energi (Hasbi, *et al.*, 2024)

Berdasarkan 3 sampel dengan batch berbeda yang digunakan, pengenceran telah dilakukan pada sampel dan didapatkan koloni yang terbentuk pada ketiga cawan petri seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Koloni yang Terbentuk Pada Media MRS Agar

| No. | Seri Pengenceran | Jumlah Koloni | Koloni pada MRS Agar  |
|-----|------------------|---------------|---|
| 1.  | $10^{-3}$        | 50            |    |
| 2.  | $10^{-5}$        | 3             |  |
| 3.  | $10^{-6}$        | 6             |  |

#### **Perhitungan Jumlah Koloni**

Dari tiga seri pengenceran yang diamati, hanya pengenceran  $10^{-3}$  yang memenuhi kriteria jumlah koloni valid, yaitu 50 koloni per cawan, sedangkan pengenceran  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$  menghasilkan jumlah koloni yang terlalu rendah (masing-masing 3 dan 6 koloni), secara teoritis, perhitungan jumlah koloni yang dapat dihitung menggunakan rumus adalah jika koloni yang tumbuh pada suatu cawan petri berjumlah 30-300 koloni.

Pengenceran  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$  tidak memenuhi kriteria sehingga tidak digunakan dalam perhitungan. Total koloni dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Jumlah bakteri (CFU/mL)} = \frac{\Sigma C}{(10^{-l} \times \text{pengenceran})}$$

: jumlah pengenceran yang digunakan

Hasil perhitungan jumlah total koloni bakteri asam laktat (BAL) dengan metode Total Plate Count (TPC) menunjukkan nilai sebesar  $5 \times 10^4$  CFU/mL. Jumlah ini berada di bawah standar minimum yang ditetapkan oleh SNI 2981:2009, yaitu  $\geq 10^7$  CFU/mL untuk yoghurt siap konsumsi. Padahal, BAL yang digunakan dalam produk yoghurt komersial umumnya merupakan jenis yang mudah tumbuh pada media agar standar yang digunakan dalam metode TPC. Oleh karena itu, jumlah koloni yang rendah kemungkinan disebabkan oleh keterbatasan jumlah sampel, sehingga hasilnya kurang mewakili populasi BAL sebenarnya dalam produk.

## **PENUTUP**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa yoghurt komersial EV mengandung bakteri asam laktat (BAL) dengan karakteristik morfologi yang sesuai dengan genus *Streptococcus*. Nilai pH produk berada pada rentang 3,74–3,81, dengan hanya satu batch yang memenuhi standar SNI (3,80–4,50). Perhitungan jumlah koloni dengan metode TPC menunjukkan total BAL sebesar  $5 \times 10^4$  CFU/mL, yang masih berada di bawah standar minimum SNI untuk yoghurt ( $\geq 10^7$  CFU/mL). Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan jumlah sampel yang lebih besar dan mempertimbangkan metode kultur-independen seperti PCR atau sekuensing gen 16S rRNA untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dalam mendeteksi keseluruhan populasi BAL dan meningkatkan kualitas analisis mikrobiologis produk fermentasi.

## **REFERENSI**

Apriyani, R. (2020). *Isolasi Dan Uji Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Buah Nipah (Nypa fruticans) Dalam Memfermentasi Kopi Gayo* (Doctoral dissertation, UIN Ar-raniry Banda Aceh).

Ari, M. M., Scholz, K. J., Cieplik, F., & Al-Ahmad, A. (2025). Viable but non-cultivable state in oral microbiota: a critical review of an underexplored microbial survival strategy. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15.

Brown, A. and E. H. R. S. (2017). *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology Fourteenth Edition*. McGraw-Hill Education.

Fany Erlangga Saragih, M. Fazil Mawla Lubis, Putri Rizq Achyari, Yulianti Sinurat, & Miftahul Khairani. (2025). Study Literatur: Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Rasa Dan Tekstur Yogurt. *Trigonometri: Jurnal Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 6(1), 91–100. <https://doi.org/10.3483/trigonometri.v6i1.11070>.

Hasbi, N., Rosyunita, R., Rahim, A. R., Parwata, W. S. S., Ayunda, R. D., Farras, A., ... & Billah, M. A. (2024). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Feses Bayi Secara Fenotipik. *Prosiding SAINTEK*, 6, 101-109.

Hendarto, D. R., Handayani, A. P., Esterelita, E., & Handoko, Y. A. (2021). Mekanisme Biokimiawi dan Optimalisasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dalam Pengolahan Yoghurt yang Berkualitas. *Jurnal Sains Dasar*, 8(1), 13–19.

Kumesan, E. C., Pandey, E. V., & Lohoo, H. J. (2017). Analisa total bakteri, kadar air dan pH pada rumput laut (*Kappaphycus alvarezii*) dengan dua metode pengeringan. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 5(1), 30-35.

Nochebuena-Pelcastre, X., Álvarez-Contreras, A. K., Hernández-Robles, M. F., Natividad-Bonifacio, I., Parada-Fabián, J. C., Quiñones-Ramirez, E. I., Vazquez-Quñones, C. R., & Vázquez Salinas, C. (2023). Development of a low pollution medium for the cultivation of lactic acid bacteria. *Heliyon*, 9(12), e22609.

Pamela, V. Y. (2022). Karakteristik Karakteristik Sifat Organoleptik Yoghurt Dengan Variasi Susu Skim Dan Lama Inkubasi: Sifat Organoleptik Yoghurt. *Nutriology: Jurnal Pangan Gizi Kesehatan*, 3(1), 18–24.

Purwantiningsih, T. I., Bria, M. A. B., & Kia, K. W. (2022). Kadar protein dan lemak yoghurt yang terbuat dari jenis dan jumlah kultur yang berbeda. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 4(1), 66-73.

Rahmadhany, A. N. (2022). *Uji aktivitas antibakteri bakteri Asam Laktat Isolat Yogurt Yumoo terhadap Escherichia Coli dan Staphylococcus Aureus* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

REZA, J. N. (2024). *Isolasi Bakteri Penghasil Protease Dari Larutan Ekoenzim Berbahan Limbah Sayuran* (Doctoral dissertation, UIN RADEN INTAN LAMPUNG).

Sumathi, S. a. N. M. a. V. (2018). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria From Different Food Samples. *Zenodo (CERN European Organization for Nuclear Research)*.

Taib, E. N., Maya, H., Shabirah, R., & Siregar, F. R. (2023). Isolasi dan Identifikasi Mikroba pada Tanah Bekas Pertumbuhan Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Biologi Edukasi: Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 15(2), 96-104.

Tannock, G. W. (2005). *Probiotics and prebiotics: Scientific Aspects*. Caister Academic Press Limited.

Widhyasih, R. M., Iriyanti, D. B., & Lestari, P. (2022). Pengaruh penambahan fruktosa dan lama penyimpanan terhadap jumlah bakteri asam laktat pada produk olahan yoghurt. *Jurnal Analis Kesehatan*, 11(2), 58-63.

Widiani, N., Mareta, G., dan Setianingrum, S. (2017). Pengaruh Variasi Temperatur Terhadap Karakteristik Fisika, Kimia, dan Biologi Yoghurt Susu Jagung. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*. 8(1): 28-39.