

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI MINUMAN PROBIOTIK YOGHURT DRINK K

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA (LAB) FROM PACKAGED PROBIOTIC YOGHURT DRINK K

Rizky Maulana Cahyadi¹⁾, Sayyidah Novila Fitri²⁾, Najmi Berliana Maulida³⁾, Megga Ratnasari Pikoli⁴⁾

¹⁾ Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

²⁾ Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

³⁾ Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

⁴⁾ Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
Jl.. Ir H. Juanda No. 95, Ciputat, Kec. Ciputat Timur, Kota Tangerang Selatan, Banten 15412.

Corresponding author: rizkymchyd@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengidentifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari produk yoghurt kemasan K asal Bulgaria, serta memverifikasi kesesuaian jumlah koloninya dengan standar SNI 2981:2009. Yoghurt adalah produk susu fermentasi yang mengandung BAL probiotik. Isolasi BAL dilakukan dengan pengenceran berseri pada media MRSA, diikuti perhitungan koloni dan identifikasi makroskopis-mikroskopis. Hasil menunjukkan pH yoghurt rata-rata 3,62 (di bawah standar SNI) dan jumlah koloni BAL $2,22 \times 10^4$ CFU/ml (di bawah standar minimum SNI 107 CFU/ml). Isolat BAL yang teridentifikasi adalah *Streptococcus thermophilus*, yang memiliki morfologi kokus berantai, berwarna ungu, tidak membentuk spora, dan non-motil.

Kata kunci: BAL, yoghurt, total plate count, kontaminasi, media MRSA

PENDAHULUAN

Yoghurt merupakan salah satu minuman hasil pemanfaatan mikroba, terbentuk melalui aktivitas bakteri yang mengubah laktosa (gula alami dalam susu) menjadi asam laktat dan asam asetat. Yoghurt memiliki kandungan bakteri probiotik berupa Bakteri Asam Laktat (BAL) yang berperan penting dalam meningkatkan fungsi dan kinerja dari sistem pencernaan, dengan mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen penyebab masalah kesehatan pada saluran pencernaan. Probiotik didefinisikan sebagai suatu suplemen yang berupa mikroba hidup dengan manfaat tinggi dan memberikan pengaruh terhadap inang dengan meningkatkan keseimbangan mikroflora usus.

Bakteri Asam Laktat (BAL) tergolong ke dalam bakteri gram positif, tidak menghasilkan enzim katalase, dan mampu menghasilkan asam laktat melalui proses fermentasi karbohidrat. Bentuk selnya bulat (*coccus*) dan tersusun berpasangan atau

membentuk rantai. Bakteri ini tidak bergerak aktif, tidak membentuk spora, dapat hidup dengan atau tanpa oksigen (anaerob fakultatif), tidak memiliki flagela untuk bergerak, dan tumbuh optimal pada suhu sedang (mesofil). Peran utama BAL dalam pengolahan pangan fermentasi adalah menghasilkan asam. Asam yang dihasilkan ini efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit dan bakteri yang dapat merusak makanan. Karena termasuk kelompok bakteri baik dan secara umum diakui aman berstatus GRAS (Generally Recognize As Safe) (Medaando *et al.*, 2024).

Dilihat berdasarkan SNI (Standar Nasional Indonesia) 2981:2009 mengenai produk yoghurt, yoghurt dibagi jadi tiga jenis utama. Pertama, yaitu yoghurt biasa yang dibuat dari susu segar atau susu bubuk yang dilarutkan, lalu difermentasi dengan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus. thermophilus*, atau bakteri asam laktat lain yang diperbolehkan, dengan kandungan koloni bakteri minimal pada yoghurt sebesar 10^7 CFU/gr. Kedua, yoghurt rendah lemak yang bahan dasarnya susu rendah lemak atau susu bubuk rendah lemak yang dilarutkan, kemudian difermentasi. Ketiga, yoghurt tanpa lemak yang dibuat khusus dari susu skim (susu yang sudah dihilangkan lemaknya) atau susu skim bubuk yang dilarutkan, lalu difermentasi (Rafif *et al.*, 2023).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri BAL yang digunakan pada proses fermentasi produk yoghurt drink K dan membuktikan apakah jumlah kandungan koloni bakteri BAL sudah sesuai dengan SNI 2981:2009. Pemilihan yoghurt merk ini didasarkan pada karena merk ini merupakan hasil impor dari negara Bulgaria, yang menggunakan bakteri BAL yang diklaim langsung berasal dari Bulgaria.

BAHAN DAN METODE

Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di ruang Laboratorium Mikrobiologi Pusat Laboratorium Terpadu (PLT) Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan utama yaitu 3 buah produk yoghurt drink K, media MRSA (*de Man Rogosa and Sharpe Agar*), larutan NaCl fisiologis, pewarna *gentian violet*, dan, akuades. Alat yang digunakan berupa tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, batang *dry galsky*, mikropipet, tip mikropipet (*blue and yellow*), vortex, bunsen, botol semprot, pipet tetes, kaca preparat, dan mikroskop.

Persiapan Sampel Yoghurt

Sampel yoghurt yang digunakan berasal dari 3 kemasan yoghurt drink K original berbeda. Dilakukan pengukuran kadar pH terlebih dahulu dengan pH meter

pada setiap kemasan yoghurt untuk mengetahui tingkat keasaman dari setiap yoghurtnya untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan atau tidak. Sampel yoghurt dibuat dengan mengambil sebanyak 1 gr pada masing-masing kemasan dan dihomogenkan sehingga terdapat 3 gr sampel yoghurt.

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yoghurt

BAL dalam yoghurt diisolasi dengan metode pengenceran berulang (*Serial dilution*) ke dalam NaCl fisiologis dengan perbandingan sebesar 1:10. Pengenceran sampel dilakukan sebanyak 4 seri dengan faktor pengenceran 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} , dan 10^{-6} . Pengenceran 10^{-1} disuspensikan 1 gr (1 ml) sampel ke dalam 9 ml cairan fisiologis. Pengenceran 10^{-3} disuspensikan 0,1 ml dari pengenceran sebelumnya ke dalam 9,9 ml cairan fisiologis. Pengenceran 10^{-5} dilakukan seperti pada pengenceran sebelumnya, dan pengenceran 10^{-6} disuspensikan 1 ml dari pengenceran sebelumnya ke dalam 9 ml NaCl fisiologis.

Hasil seri pengenceran 10^{-3} , 10^{-5} , dan 10^{-6} diinokulasikan sebanyak 0,1 ml dengan mikropipet pada masing-masing 3 plat MRSA dengan metode sebar (*spread plate*) dan diratakan menggunakan *dry galsky*. Setelah sampel yoghurt yang telah diencerkan mengering pada media MRSA, dilakukan proses inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

Perhitungan Jumlah Koloni BAL Hasil Isolasi

Setelah proses inkubasi, setiap media MRSA pada cawan petri diamati dan dihitung jumlah koloni pada setiap seri pengenceran dengan rumus perhitungan populasi koloni bakteri (*Total Plate Count*) untuk mengetahui keberadaan jumlah sel bakteri. Tujuan utama dari pengujian ini adalah untuk menghitung total koloni bakteri yang tumbuh pada media agar sehingga dapat diperkirakan total sel bakteri yang tumbuh pada media. Perhitungan dilakukan dengan menghitung total koloni pada setiap seri pengenceran dengan rentang 30-300 koloni.

Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL)

Proses identifikasi isolat BAL dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui karakteristik BAL yang tumbuh. Identifikasi bakteri secara makroskopis dengan melihat bentuk koloni, warna koloni, dan tepi koloni untuk mengetahui kondisi morfologi isolate yang berhasil tumbuh. Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan proses pewarnaan sederhana yang merupakan untuk melihat bentuk dan susunan sel dari isolat bakteri yang tumbuh.

Pewarnaan sederhana dilakukan dengan memilih isolat bakteri yang tumbuh pada media MRSA dengan bentuk terbaik dan diduga sebagai bakteri BAL. Koloni bakteri

yang tumbuh diambil dengan ose steril dan dioleskan pada kaca preparat yang sudah diberikan larutan NaCl. Sampel kemudian diratakan dan dilakukan proses fiksasi dengan melewati pada nyala api sampai terlihat mengering. Pewarnaan sederhana dilakukan dengan memberikan pewarna primer yaitu *gentian violet* selama 1 menit untuk memberikan warna utama pada bakteri yang diduga sebagai BAL. Dilakukan proses pencucian dengan akuades untuk menghilangkan pewarna yang berlebih pada kaca preparat, dan dilakukan fiksasi untuk memastikan pewarna sudah mengering dan terserap ke dalam sel bakteri. Selanjutnya dilakukan proses pengamatan dengan mikroskop pada perbesaran 1000x untuk melihat bentuk sel dari isolat bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai pH pada 3 Kemasan Yoghurt Drink

Yoghurt drink yang digunakan sebagai sampel merupakan sebuah produk minuman probiotik yang berasal dari bulgaria, dibuat dengan susu segar, susu skim bubuk, lemak susu, dan kultur bakteri MB-11 (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*). Hasil uji nilai pH pada ketiga kemasan yoghurt drink dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Nilai pH pada 3 Kemasan Produk Yoghurt Drink Berbeda

No.	Kemasan Yoghurt	Nilai pH
1.	1	3,67
2.	2	3,58
3.	3	3,62
Rata-rata		3,62

Nilai rata-rata pH pada ketiga kemasan yoghurt drink menunjukkan angka 3,62, nilai ini berada pada di bawah standar nilai pH yoghurt berdasarkan SNI 2981:2009 yang berada pada rentang 3,8 - 4,5, sehingga menimbulkan rasa yang cukup asam. Nilai pH yang tertera pada pH meter merupakan konsentrasi ion-ion H^+ yang menunjukkan adanya jumlah asam terdisosiasi, sehingga kurang mewakili asam keseluruhan dari yoghurt. Perbedaan nilai pH pada 3 kemasan yoghurt dapat dipengaruhi oleh proses dan waktu produksi. Ketiga kemasan yoghurt drink K memiliki perbedaan *batch* yang didefinisikan sebagai pengelompokan produk yang diproduksi secara bersama-sama dalam satu siklus produksi yang sama pada waktu yang sama (Widyono & Hendrawati, 2021). Perbedaan *batch* pada setiap produk yoghurt drink K memiliki hasil nilai pH yang berbeda, yang memberikan indikasi bahwa dalam proses produksi yoghurt tersebut memiliki nilai standar pH berbeda yang dihasilkan selama proses fermentasi berlangsung. Kenaikan tingkat keasaman pada

yoghurt terjadi selama proses fermentasi, kenaikan tingkat keasaman ini sejalan dengan penurunan nilai pH pada yoghurt (Pangestu, *et al.*, 2021).

Nilai pH pada yoghurt dipengaruhi oleh aktivitas BAL dalam memproduksi asam, semakin rendah nilai pH maka bakteri BAL dalam yoghurt sangat optimal dalam memproduksi asam (Nofendri, *et al.*, 2016). Peningkatan nilai pH pada yoghurt diakibatkan oleh meningkatnya produksi asam laktat dan asam asetat hasil dari pemecahan senyawa laktosa sebagai sumber energi utama bagi bakteri BAL. Kondisi lingkungan yang optimal selama inkubasi juga akan memberikan pengaruh terhadap nilai pH yang dihasilkan, semakin lama waktu inkubasi dan dilakukan pada suhu optimal sekitar 37°C - 42°C, pertumbuhan bakteri BAL akan semakin optimal sehingga tingkat keasaman akan semakin tinggi (Yannuarista, *et al.* 2024).

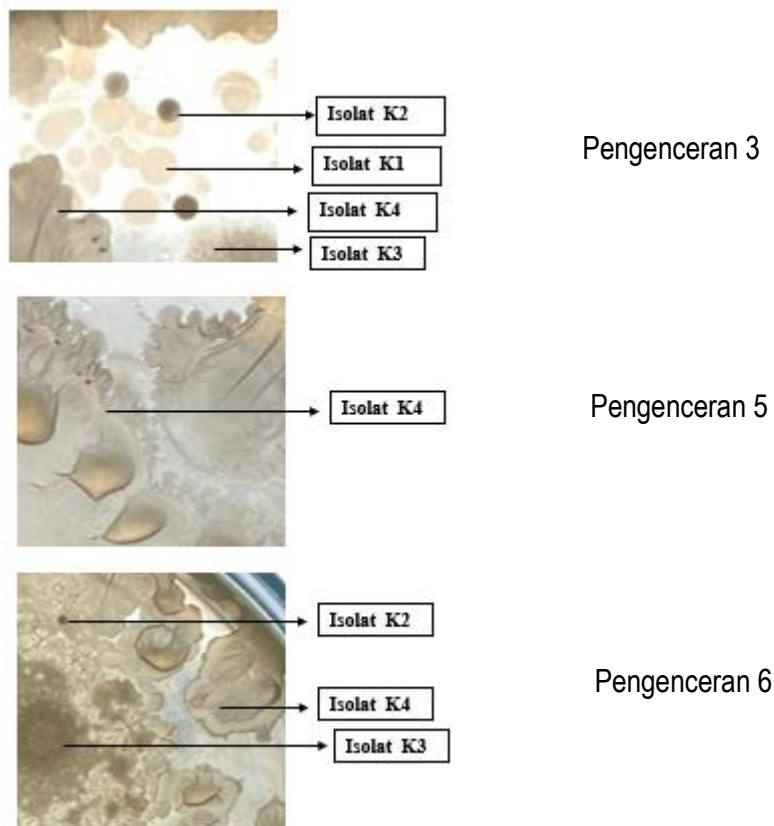
Mekanisme pembentukan asam laktat yang menjadi penyebab penurunan nilai pH pada yoghurt diawali dengan proses perombakan gula susu (laktosa) oleh bakteri BAL. Laktosa sebagai sumber C utama akan dihidrolisis di dalam sel bakteri BAL menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim *β -D-galaktosidase* dan menjadi glukosa dan galaktosa-6-fosfat dengan bantuan enzim *D-fosfogalaktosidase*. Glukosa yang dihasilkan akan diubah menjadi asam piruvat melalui mekanisme jalur EMP (*Embden-Meyerhof Parnass*) dalam keadaan sangat minim oksigen (anaerobik).

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolasi bakteri merupakan suatu teknik pengambilan bakteri dari suatu medium atau lingkungan asalnya untuk ditumbuhkan pada medium buatan yang sesuai sehingga dapat diperoleh suatu biakan murni. Isolasi bakteri memiliki prinsip yaitu pemisahan bakteri target dari jenis bakteri lain dan disertai dengan proses pemurnian bakteri. Terdapat dua metode utama dalam isolasi yaitu metode cawan gores dan cawan tuang, dengan prinsip pengenceran dengan tujuan untuk memperoleh koloni bakteri tunggal. Isolasi bakteri BAL dari sampel yoghurt drink menggunakan media selektif berupa *De Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) yang berfungsi sebagai media pertumbuhan kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL) secara berkoloni. MRSA mengandung pepton sebagai sumber nitrogen, *beef extract*, *yeast extract*, dextrose sebagai sumber karbohidrat, tween 80 sebagai pelarut, amonium sitrat (NH_4NO_3) sebagai penunjang pertumbuhan BAL, magnesium sulfat (MgSO_4) & mangan sulfat (MnSO_4) sebagai sumber ion dan sulfat, natrium asetat ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$), kalium fosfat (K_2HPO_4).

Hasil isolasi dari sampel yoghurt drink KIN menunjukkan terdapat setidaknya 4 isolat yaitu K1, K2, K3, dan K4 dengan warna koloni, bentuk koloni, *margin* koloni, dan elevasi koloni yang berbeda, di mana ke-4 isolat bakteri diduga sebagai bakteri BAL. Hasil isolasi dapat dilihat pada gambar 2.

Gambar 2. Karakteristik Bakteri Asam Laktat



Jumlah Koloni BAL

Perhitungan jumlah koloni bakteri (CFU/ml) merupakan proses menghitung jumlah mikroorganisme yang hidup pada suatu media, biasanya dengan menggunakan metode hitung cawan (*Total Plate Count/TPC*) atau metode pengenceran. Hasil perhitungan koloni BAL mengungkapkan bahwa terdapat sebesar $2,22 \times 10^4$ CFU/ml, di mana nilai ini jauh di bawah minimum jumlah koloni bakteri BAL pada yoghurt menurut SNI 2981:2009 dengan nilai minimal 10^7 CFU/ml. Sedikitnya jumlah bakteri BAL pada sampel yoghurt drink mengindikasikan adanya bakteri yang tidak terdeteksi dan tumbuh pada media akibat metode isolasi yang dilakukan kurang efektif dan pengaruh kondisi lingkungan yang kurang mendukung pertumbuhan bakteri.

Bakteri BAL tumbuh secara optimal dalam kondisi anaerobik atau tidak terdapat oksigen. Penggunaan media MRSA dengan satu lapisan memberikan hasil pertumbuhan bakteri yang kurang maksimal karena memiliki potensi masuknya sedikit

oksigen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri BAL. Metode *Double Layer Agar* (DLA) memiliki dua lapisan agar, lapisan atas mampu mencegah difusi oksigen ke dalam media agar pada lapisan bawah yang menjadi lokasi pertumbuhan bakteri BAL (Cleide, *et al.*, 2021). Selain itu, media MRSA yang memiliki kemampuan selektif untuk pertumbuhan bakteri juga memiliki kelemahan. Media MRSA bersifat kualitatif dan tidak mampu membedakan secara spesifik terhadap bakteri BAL yang tumbuh sehingga identifikasi bakteri BAL tidak cukup akurat, sehingga perhitungan jumlah koloni BAL rentan mengalami kesalahan (Rosyidah, 2023). Media MRSA juga perlu dilakukan proses modifikasi dengan penambahan bahan tertentu yang mengandung nutrisi lebih tinggi sehingga memiliki kondisi yang lebih efektif dan optimum bagi pertumbuhan bakteri BAL.

Salah satu modifikasi media MRSA adalah dengan penambahan senyawa CaCO_3 yang berfungsi sebagai penyeleksi bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat dalam proses metabolismenya. Bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat akan terdeteksi dengan mudah karena adanya zona bening pada sekitar koloni di dalam media MRSA yang terbentuk dari reaksi antara asam laktat dengan senyawa kalsium laktat ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_6$), sehingga proses perhitungan bakteri lebih akurat (Falakh & Asri, 2022).

Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Dalam membuktikan apakah isolat-isolat bakteri hasil isolasi sampel yoghurt drink K merupakan bakteri BAL, dilakukan proses identifikasi dan karakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui isolat bakteri yang sesuai dengan sifat-sifat umum bakteri BAL. Sifat-sifat umum bakteri BAL diantaranya morfologi berbentuk bulat kecil dengan tepi rata berwarna putih atau krem, bentuk sel bulat (*coccus*) atau batang panjang (*bacil*), gram positif (berwarna biru pada pewarnaan sederhana), katalase negatif, bakteri non-motil, dan tidak membentuk struktur spora (Marco, *et al.*, 2016). Hasil identifikasi dan karakterisasi isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

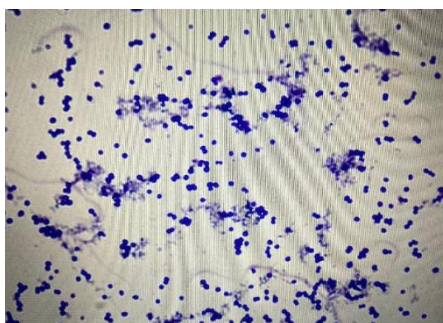
Tabel 3. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Bakteri dari Sampel Yoghurt Drink KIN pada MRSA

No.	Kode Isolat	Morfologi Koloni				
		Bentuk	Ukuran	Margin	Elevasi	Warna
1.	K1	<i>Circular</i>	Sedang	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Krem pekat
2.	K2	<i>Circular</i>	Kecil	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	Putih krem
3.	K3	<i>Filamentous</i>	Besar	<i>Filamentous</i>	<i>Flat</i>	Kekuningan gelap
4.	K4	<i>Irregular</i>	Besar-Sedang	<i>Undulate</i>	<i>Flat</i>	Kekuningan

Hasil identifikasi dan karakterisasi morfologi koloni isolat bakteri secara makroskopis menunjukkan bahwa hanya terdapat satu isolat bakteri yang memiliki karakteristik morfologi sangat mirip dengan BAL, yaitu isolat bakteri K2. Berdasarkan identifikasi karakteristik morfologi koloni keempat isolat bakteri, hanya isolat K2 yang memiliki karakteristik morfologi sesuai dengan morfologi bakteri BAL secara makroskopis. Morfologi bakteri BAL pada media MRSA berbentuk bundar (*circular*), berwarna putih, margin halus (*entire*), dan elevasi yang cembung (Syukur, 2012). Hasil penelitian yang dilakukan membuktikan bahwa morfologi koloni bakteri BAL yang ditumbuhkan pada media MRSA berbentuk bulat, berwarna putih susu, tepian rata halus, dan tidak dapat tertembus oleh cahaya.

Identifikasi lebih lanjut dibutuhkan untuk memperkuat dugaan bahwa isolat K2 merupakan bakteri BAL. Proses identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan metode pewarnaan sederhana untuk melihat secara jelas bagaimana bentuk dari sel isolat bakteri K2. Pewarnaan sederhana termasuk ke dalam metode identifikasi yang dipengaruhi oleh kultivasi bakteri karena memerlukan sel bakteri yang hidup dan murni. Prinsip dari identifikasi metode pewarnaan sederhana adalah dengan memberikan warna pada sel bakteri dengan latar belakang yang tidak berwarna, sehingga bentuk sel bakteri dapat terlihat jelas melalui mikroskop.

Kelompok bakteri gram positif akan menyerap warna ungu dari pewarna primer karena memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dan permeabilitas rendah, sehingga ketika proses *decolorizing* pori-pori peptidoglikan akan mengecil dan pewarna primer tetap berada di dalam sel bakteri. Pewarnaan sederhana dilakukan dengan menggunakan pewarna *gentian violet* yang merupakan pewarna trifenilmetana dengan fungsi utama memberikan warna ungu pada sel bakteri gram positif, sehingga bakteri dapat dibedakan berdasarkan jenis gramnya. *Gentian violet* merupakan senyawa simetris dengan 6 gugus metil (Prabha, *et al.*, 2020). Hasil pewarnaan sederhana yang diamati dengan mikroskop pada perbesaran 1000x dapat dilihat pada **Gambar 3**



Gambar 3. Morfologi Isolat Bakteri K2 Perbesaran 1000x pada Software Opika Vision Pro.

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat bakteri K2 memiliki bentuk sel bulat (*coccus*) berwarna biru keunguan dengan susunan sel yang beragam, terlihat berantai (2, 3, dan >4), bertumpuk rapat membentuk gumpalan rantai, dan hanya sel tunggal, tidak membentuk spora, dan tidak motil. Berdasarkan ciri morfologis dan sifatnya yang diamati secara mikroskopis maka kemungkinan besar isolat bakteri K2 merupakan jenis bakteri *Streptococcus thermophilus* yang secara umum memang digunakan dalam produksi yoghurt. Sejalan dengan hasil penelitian oleh Sumanti, T. (2014) yang mengungkapkan bahwa *Streptococcus thermophilus* memiliki bentuk bulat atau elips yang tumbuh secara berpasangan atau rantai pendek dan tidak membentuk spora. *Streptococcus thermophilus* merupakan bakteri gram positif yang mampu menghasilkan asam laktat (homofermentatif) dengan merombak karbohidrat (glukosa dan laktosa) sehingga diklasifikasikan sebagai BAL dengan kemampuan probiotiknya dalam melawan bakteri patogen seperti *E. coli* dan *Pseudomonas*, bakteri ini juga bersifat termofilik (tumbuh optimal pada suhu 40 - 45°C) tetapi dapat tumbuh baik pada suhu 37°C, dan mampu bertahan pada kondisi kadar asam tinggi (pH 3- 4). Berikut klasifikasi bakteri *S. Thermophilus*: Kingdom (Bacteria); Divisi (Firmicutes); Class (Cocci); Ordo (Lactobacillates); Familia (Streptococcaceae); Genus (Streptococcus); Species (*Streptococcus thermophilus*) (Jody., 2017).

Hasil identifikasi bakteri BAL yang dilakukan sesuai dengan klaim pada produk yoghurt drink yang menggunakan bakteri starter *Lactobacillus bulgarius* dan *Streptococcus thermophilus*, meskipun dalam penelitian ini hanya menemukan bakteri *Streptococcus thermophilus*. Hal ini kemungkinan dapat terjadi karena kemampuan *S. thermophilus* dalam menghasilkan asam laktat dari laktosa susu dengan cepat tanpa bantuan bakteri *L. bulgaricus*. Kemampuan *S. thermophilus* dalam memproduksi asam laktat secara cepat dipengaruhi oleh ketersediaan laktosa pada susu yang menjadi bahan baku utama dalam pembuatan yoghurt. Susu pasteurisasi *full cream* yang menjadi bahan baku utama pada sampel yoghurt memiliki kandungan laktosa tertinggi

sebesar 5% dibandingkan jenis susu lain. Karena kandungan laktosa yang tinggi menyebabkan pertumbuhan dari *S. thermophilus* akan optimal dan terjadi penurunan pH yang sangat cepat yang dapat mengganggu pertumbuhan *L. bulgaricus*.

Tidak ditemukannya bakteri *Lactobacillus bulgaricus* juga dapat dipengaruhi beberapa faktor lain seperti kurangnya identifikasi secara menyeluruh terhadap koloni BAL lain yang tumbuh sehingga *L. bulgaricus* tidak terdeteksi, kondisi lingkungan yang kurang optimal, seperti suhu inkubasi yang tidak berada pada suhu optimal *Lactobacillus bulgaricus* yaitu 42-45°C dan pH media yang terlalu basa dan terlalu asam akan menyebabkan pertumbuhan koloni bakteri *L. bulgaricus* tidak optimal karena bakteri ini tumbuh secara optimal pada pH 5,5 (Anjasari, B., 2010).

Selain itu, metode *spread plate* dalam proses inokulasi bakteri ke dalam media MRSA memiliki kelemahan yang menyebabkan pertumbuhan bakteri *L. bulgaricus* terhambat. Metode *spread plate* akan menghasilkan pertumbuhan bakteri yang berada pada lapisan atas media, sehingga menciptakan kondisi aerob karena terdapat kemungkinan paparan oksigen terhadap media. Hal ini menyebabkan pertumbuhan *L. bulgaricus* sedikit terhambat karena sifatnya yang anaerob.

Identifikasi secara menyeluruh diperlukan untuk mengetahui dan membuktikan keberadaan bakteri BAL dari sampel secara akurat. Proses identifikasi dapat dilakukan dengan metode molekular menggunakan PCR pada setiap koloni seperti isolat K2 yang memiliki ciri- ciri bakteri BAL. Metode identifikasi secara molekular ini termasuk ke dalam metode identifikasi yang tidak dipengaruhi oleh kultivasi bakteri karena tidak perlu sel bakteri yang masih hidup untuk menggunakan metode ini. Dalam identifikasi BAL secara molekular digunakan primer DNA 27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) untuk arah *forward* dan primer DNA 1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) untuk arah *reverse*, dan kemudian dilakukan amplifikasi pada gen 16S rRNA (Yuniarti, *et al.*, 2021). Dengan metode ini dapat memberikan informasi jenis bakteri BAL secara akurat yang terdapat pada sampel yoghurt drink.

Keberadaan bakteri *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* memberikan pengaruh terhadap kualitas dari rasa, aroma, dan tekstur yoghurt. Kedua bakteri melakukan simbiosis mutualisme dalam fermentasi susu menjadi yoghurt. Dalam keadaan suhu dan waktu fermentasi optimal, bakteri *S. thermophilus* akan berkembang terlebih dahulu untuk mengolah laktosa menjadi asam laktat, asam format, dan asam asetat yang menurunkan pH susu. Keadaan ini akan memberikan rangsangan untuk *L. bulgaricus* berkembang dan melakukan fermentasi dengan menghasilkan glisin, asam amino, histidin, dan asetaldehid yang diperlukan bagi *S. thermophilus* ketika kondisi suhu dan pH sudah sangat optimal bagi pertumbuhan *L. bulgaricus*. Bakteri *L.*

bulgaricus berperan dalam memberikan aroma khas pada yoghurt dengan menghasilkan senyawa asetaldehid dan diasetil, sedangkan bakteri *S. thermophilus* berperan dalam memberikan cita rasa dan tingkat keasaman yoghurt.

PENUTUP

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa produk yoghurt drink kemasan mengandung bakteri asam laktat (BAL) berjenis *Streptococcus thermophilus* dengan nilai pH rata-rata 3,62 yang masih di bawah standar SNI. Jumlah koloni BAL yang ditemukan adalah $2,22 \times 10^4$ CFU/ml, di bawah standar minimum SNI yaitu 10^7 CFU/ml. Isolat bakteri yang berhasil diidentifikasi secara mikroskopis adalah *Streptococcus* dengan kemungkinan jenis yaitu *Streptococcus thermophilus*, yang sesuai dengan salah satu bakteri starter yang digunakan dalam produk yoghurt drink K. Metode isolasi dan inokulasi yang efektif berupa *double layer agar* dan *pour plate*, serta memperhatikan kondisi suhu inkubasi diharapkan memberikan pertumbuhan maksimal terhadap bakteri *L. bulgaricus*.

REFERENSI

- Anjasari, B. (2010). *Pangan hewani: Fisiologi pasca mortem dan teknologi*. Penerbit Graha Ilmu.
- Cleide, O. A. M., Freire, L., Rosim, R. E., Margalho, L. P., Balthazar, C. F., Franco, L. T., Sant'Ana, A. S., Corassin, C. H., Rattray, F. P., & Oliveira, C. A. F. (2021). Effect of lactic acid bacteria strains on the growth and aflatoxin production potential of *Aspergillus parasiticus* and their ability to bind aflatoxin B₁, ochratoxin A, and zearalenone *in vitro*. *Front. Microbiol*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.655386>
- Falakh, M. J., & Asri M. T. (2022). Uji potensi bakteri asam laktat dari nia siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. *LenteraBio*, 11(3): 514-524.
- Jody, S. I. S. (2017). *Penentuan kadar asam laktat dan organoleptik pada yoghurt bengkuang dengan penambahan starter (Lactobacillus bulgaricus dan Streptococcus thermophilus) dan madu dengan konsentrasi yang berbeda*. [Skripsi, Universitas Diponegoro].
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, R. A., Cifelli, D. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M. G., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E. J., & Uccella, M. (2016). Health benefits of fermented foods: Microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>
- Medaando, Rahmawati, & Turip, M. (2024). Identifikasi bakteri asam laktat

- berdasarkan kemiripan fenotipik dari kulit nanas varietas Queen di Kalimantan Barat yang difermentasi secara alami. *Life Science*, 13(1).
- Nofendri, Y., Yusmarini., & Evy, R. (2016). Evaluasi jumlah BAL dan mutu sensori dari yoghurt yang difermentasi dengan isolat *Lactobacillus plantarum* I. *JOM FAPERTA*, 3(2), 1-15.
- Nudyanto, A., & Zubaidah, E. (2015). Isolasi bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida dari kimchi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2), 743-748.
- Pangestu, A. D., Kurniawan., & Supriyadi. (2021). Pengaruh variasi suhu dan lama penyimpanan terhadap viabilitas bakteri asam laktat (BAL) dan nilai pH yoghurt. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology (BJMLT)*, 3(2), 231-236.
- Prabha, N., Gupta, H., Singh, N., & Singh, R. (2020). Gentian violet: Revisited. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, 86(6), 600–603.
- Rafif, 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.
- Sumanti, T. (2014). *Isolasi dan identifikasi morfologi koloni mikroba pada hasil olahan susu kerbau berupa penjem pada berbagai konsentrasi gula dan pengajarnya di SMA Negeri 4 Palembang*. [Skripsi, Universitas Muhammadiyah Palembang].
- Syukur, S. (2012). *Bioteknologi dasar dan bakteri asam laktat antimikrobia*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.
- Widyono, M. F., & Hendrawati, N. (2021). Seleksi proses dan penentuan kapasitas pabrik kimia pembuatan yoghurt dari bahan baku kedelar. *DISTILAT: Jurnal Teknologi Separasi*, 7(2), 664-670.
- Yannuarista, D., Prasajo, N. D., & Sasmito, M. S. (2024). Optimasi suhu dan waktu terhadap kualitas yoghurt probiotik menggunakan custom inkubator. *AGRITEPA*, 11(2), 469-480.
- Yuniarti, F., Hidayati, W., Fitriani, F., & Sarah, A. (2021). Skrining antibakteri dan identifikasi molekuler bakteri asam laktat dari fermentasi buah kakao merah (*Theobroma cacao* L. Varietas Criollo) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 16(1), 21–29.