

## Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Kefir Susu Kambing Saanen (*Capra aegagrus Hircus*)

Ronanda Rumaisha, Ofa Suzanti Betha, Hendri Aldrat\*

Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

\*corresponding author: hendri@uinjkt.ac.id

Diterima: 4 Maret 2021; Disetujui 8 April 2021

**Abstract:** Kefir is a health drink that has a positive effect on humans whose ingredients can come from goat and cow milk. The change of milk to sour in kefir occurs due to the presence of various types of microbes that live symbiotically on kefir grains. So far there have not been many reports of LAB types in kefir obtained from Saanen goat milk in Indonesia. This study aims to determine the types and characteristics of LAB from Saanen goat milk kefir. LAB isolation was carried out using a multilevel dilution technique using distilled water, then grown on MRS agar medium which had been added with 1% CaCO<sub>3</sub> and incubated at 37°C for 48 hours. LAB characterization is done by observing colony morphology, cell morphology, a physiological and biochemical characterization which included catalase test, motility test, fermentation type test, growth at temperature 11°C, 37°C, and 45°C, and growth in NaCl 5%, 6.5%, and 10%. As results, 4 isolates were found in accordance with the general characteristics of BAL, which were Gram-positive, spherical-shaped, non-spore-forming, and negative catalase. All isolates are non-motile, homofermentative, non-hemolytic, which can grow at temperatures of 11°C-45°C and NaCl concentrations of 5%-10%. The characterization results showed that the four isolates were included in the genus *Enterococcus*. The role of *Enterococcus* as a producer of lactic acid is discussed in this study.

**Keywords:** Lactic acid bacteria (BAL), Saanen goat milk kefir, isolation, characterization

**Abstrak:** Kefir merupakan minuman kesehatan yang memiliki efek positif bagi manusia yang bahannya bisa berasal dari susu kambing dan sapi. Perubahan susu menjadi asam pada kefir terjadi karena adanya berbagai jenis mikroba yang hidup bersimbiosis pada bulir kefir. Sejauh ini belum banyak dilaporkan jenis BAL pada kefir yang diperoleh dari susu kambing Saanen di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis dan karakteristik BAL yang terkandung dalam kefir susu kambing Saanen. BAL diisolasi dengan menggunakan media MRS yang disuplemen dengan CaCO<sub>3</sub> 1% dan diinkubasi 48 jam suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan karakterisasi BAL dengan cara mengamati morfologi koloni dan sel, karakterisasi fisiologi dan biokimia yang di antaranya: uji katalase, motilitas, tipe fermentasi, pertumbuhan pada suhu 11°C, 37°C, dan 45°C, serta uji pertumbuhan yang disuplemen dengan NaCl 5%, 6.5%, dan 10%. Penelitian ini berhasil memperoleh 4 isolat yang sesuai dengan karakteristik umum BAL, yaitu Gram positif berbentuk bulat, tidak membentuk spora, dan bersifat katalase negatif. Semua isolat bersifat non motil, homofermentatif, dapat tumbuh pada suhu 11°C-45°C dan konsentrasi NaCl 5%-10%. Hasil karakterisasi menunjukkan keempat isolat termasuk dalam genus *Enterococcus*. Peran *Enterococcus* sebagai penghasil asam laktat didiskusikan dalam kajian ini.

**Kata kunci** Bakteri asam laktat (BAL), kefir susu kambing Saanen, isolasi, karakterisasi

### 1. PENDAHULUAN

Susu kambing dikenal memiliki beberapa keunggulan dibandingkan susu sapi dari segi nutrisi. Susu kambing mengandung vitamin B6 25%, vitamin A 47%, dan kalsium 13% lebih banyak dibandingkan susu sapi. Selain itu, rantai asam lemak susu kambing lebih pendek dibandingkan susu sapi sehingga lebih mudah dicerna dan diserap oleh tubuh (Getaneh *et al.*, 2016). Peningkatan cita rasa dan aroma susu kambing dapat dilakukan melalui proses fermentasi. Salah satu produk hasil fermentasi dari susu kambing yaitu kefir.

Kefir merupakan produk susu fermentasi yang dibuat dengan menambahkan bibit kefir ke dalam susu kambing, sapi, atau domba (Ismail, Yulvizar and Mazhitov, 2018). Rasa asam yang muncul pada kefir akibat adanya bibit kefir mengandung bakteri asam laktat (BAL) seperti *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Streptococcus* spp.), bakteri asam asetat (*Acetobacter* spp), khamir (*Saccharomyces*, *Torula*), dan mikroorganisme lainnya (Kıvanç and Yapıcı, 2015). Kambing Saanen

merupakan salah satu jenis kambing yang berasal dari Lembah Saanen, Swiss yang dapat menghasilkan jumlah susu yang banyak yakni 300-2000 kg selama 150-300 hari laktasi (Devendra and Haenlein, 2011).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, katalase negatif, tahan terhadap asam dan bersifat fakultatif anaerob. BAL ini merupakan bakteri yang terdapat pada kefir yang merubah susu menjadi asam. BAL disebut juga sebagai bakteri probiotik yang dapat memberikan manfaat untuk saluran pencernaan. BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan beberapa cara, antara lain dengan menghasilkan senyawa antibakteri (asam organik, hidrogen peroksida, reuterin, reuterisiklin, bakteriosin) serta membentuk kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan (Lahtinen *et al.*, 2012; Yuniastuti, 2014). Tidak hanya itu, LAB pada kefir juga memiliki kemampuan menurunkan kolesterol sebagaimana yang dilaporkan pada penelitian sebelumnya (Yusuf *et al.*, 2020).

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa susu kambing fermentasi mengandung *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, dan *L. paracasei* (Cho *et al.*, 2018). Bakteri asam laktat perlu diidentifikasi dengan tujuan untuk memperoleh informasi jenis mikroba apakah terlibat dalam perubahan susu menjadi asam akibat proses fermentasi dengan bulir kefir. Mikroba penghasil asam laktat tersebut memiliki potensi untuk dikembangkan di masa mendatang sebagai probiotik alami dan keperluan industri.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Alat

Peralatan yang dibutuhkan untuk penelitian ini antara

lain: alat-alat gelas (botol kaca steril, gelas kimia, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, batang pengaduk, cawan petri, pipet tetes, corong), pH meter (Sartorius), *hot plate* (VELP Scientifica), termometer, kertas saring, mikropipet (Bio-Rad dan Ranin), *triangle spreader*, jarum inokulum (ose) bulat dan runcing, kaca objek, *cover glass*, tabung Durham, pipet tetes, timbangan analitik (Ogawa Seiki), bunsen, mikroskop (Olympus), vortex (Gemmy Industrial Corp), *refrigerator* (GEA), inkubator (France Etuves), *shaker incubator* (IKA), *laminar air flow cabinet* (Ogawa Seiki), autoklaf, oven (Memmert), rak tabung reaksi, saringan besi, plastik wrap, aluminium foil, tali kasur, kapas, kasa, dan magnetic stirrer.

### 2.2 Bahan

Bahan-bahan untuk keperluan penelitian ini adalah starter kefir yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok. Susu kambing Saanen diperoleh dari Peternakan Kampung 99 Pepohonan di Meruyung Kota Depok, akuades, media de Man, Rogosa and Sharpe agar (MRSA), media de Man, Rogosa and Sharpe broth (MRSB), media motility test, media blood agar, CaCO<sub>3</sub>, larutan NaCl (5%, 6,5%, dan 10%), alkohol (70%, 90% dan 96%), kristal violet, iodine, safranin, larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dan *malachite green*.

### 2.3 Prosedur Kerja

#### a. Pembuatan Kefir Susu Kambing Saanen

Proses pembuatan kefir susu kambing Saanen diawali dengan pengukuran pH susu kambing Saanen menggunakan pH meter. Selanjutnya 1L susu kambing Saanen yang telah dipasteurisasi dimasukkan ke dalam botol kaca steril yang telah berisi 5% starter kefir (50 g). Selanjutnya susu diaduk

merata dan botol kaca ditutup. Proses fermentasi dilakukan pada suhu 25°C dengan kecepatan rotasi 125 rpm selama 24 jam di dalam *shaker incubator*. Lalu kefir disaring menggunakan saringan *stainless steel*. Kemudian bibit kefir disimpan untuk digunakan pada inokulasi selanjutnya. Kefir susu kambing Saanen dimasukkan ke dalam botol kaca steril, dilakukan pengukuran pH dan disimpan pada suhu 4°C (Ismail *et al.*, 2018; Otles & Cagindi, 2003; Pop *et al.*, 2014).

#### **b. Isolasi dan Pemurnian BAL dari Kefir Susu Kambing Saanen**

Sebanyak 1 mL kefir ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades. Kemudian larutan sampel dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat dari pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  dan  $10^{-7}$  (Ismail, Yulvizar and Mazhitov, 2018). Hasil dari masing-masing pengenceran tersebut diambil sebanyak 100 µl dan masing-masing diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi media MRS agar yang telah ditambahkan dengan  $\text{CaCO}_3$  1% dengan metode *spread plate* secara duplo. Kemudian isolat diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam berdasarkan Ismail *et al.* dengan sedikit modifikasi (Ismail, Yulvizar and Mazhitov, 2018).

Pemurnian isolat BAL dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat bakteri yang menghasilkan zona bening di sekeliling koloni bakteri tersebut pada media MRS agar baru dengan metode *streak plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Ismail, Yulvizar and Mazhitov, 2018). Kultur yang telah dimurnikan selanjutnya disimpan pada suhu 11°C dengan media MRS agar (Misgiyarta and Widowati, 2007).

#### **c. Karakterisasi Morfologi Isolat BAL dari Kefir Susu Kambing Saanen**

Proses karakterisasi penentuan morfologi isolate BAL dilakukan dengan dua cara, yakni makroskopis dan mikroskopis. Morfologi makroskopis BAL diamati secara visual bentuk-bentuk koloni, tepi, warna, dan elevasi dari isolat bakteri (Ismail *et al.*, 2018)

**Pewarnaan Gram:** Kaca objek disterilisasi dengan alkohol 70%. Selanjutnya, isolate bakteri dicuplik menggunakan jarum ose secara aseptik dan dioleskan pada kaca objek dan selanjutnya dilewatkan beberapa kali di atas nyala api bunsen. Setelah itu, 2 tetes kristal violet diteteskan di atas kaca yang mengandung isolat bakteri, lalu didiamkan 1 menit, kemudian dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Isolat bakteri kemudian diteteskan iodine lalu didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Selanjutnya isolat bakteri perlahan-lahan diteteskan alkohol 96% selama 30 detik, kemudian dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Setelah itu isolat bakteri diteteskan safranin perlahan selama 30 detik, kemudian dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Pengamatan isolat bakteri berupa bentuk dan warna dinding selnya dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 40× (Ismail *et al.*, 2018).

**Pewarnaan Endospora:** Kaca objek disterilisasi dengan alkohol 70%. Kemudian isolat bakteri diambil dengan jarum inokulum (ose) secara aseptik dan dioleskan pada kaca objek dan dilewatkan beberapa kali di atas api bunsen. Setelah itu preparat ditutup dengan kertas saring dan ditetesi dengan malachite hijau. Preparat kemudian diletakkan di atas kawat yang dipanaskan di atas uap air mendidih selama 5 menit, kemudian dibilas dengan aquades. Lalu preparat diteteskan dengan safranin, didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan aquades

dan dikeringkan. Preparat kemudian diamati dengan mikroskop. Sel vegetatif ditandai dengan warna merah, sedangkan spora ditandai dengan warna hijau (Misgiyarta & Widowati, 2007).

#### **d. Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia BAL dari Kefir Susu Kambing Saanen**

**Uji Katalase:** Uji katalase dilakukan dengan mengoleskan satu ose isolat bakteri berusia 24 jam pada kaca objek yang disterilkan menggunakan alkohol 70%, selanjutnya ditambahkan 2 tetes  $H_2O_2$  3%. Keberadaan gelembung oksigen menunjukkan bahwa bakteri dapat menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah  $H_2O_2$  menjadi air ( $H_2O$ ) dan oksigen ( $O_2$ ) (Ismail *et al.*, 2018).

**Uji Motilitas:** Sebanyak satu ose isolat bakteri diambil dan ditusukkan ke dalam media *motility test* pada tabung reaksi menggunakan jarum ose runcing lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $37^\circ C$ . Hasil positif menunjukkan pertumbuhan bakteri yang menyebar pada permukaan media, sedangkan hasil negatif akan menunjukkan pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar dan hanya tumbuh di sekitar lokasi yang ditusukkan (Ismail *et al.*, 2018).

**Uji Tipe Fermentasi:** Berdasarkan tipe fermentasi, BAL dikelompokkan menjadi dua, yakni homofermentatif dan heterofermentatif. Uji ini dilakukan menggunakan tabung Durham yang diisi dengan kultur yang mengandung media MRS broth di dalam tabung reaksi, lalu diinkubasi pada suhu  $37^\circ C$  selama 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat terbentuknya gelembung udara pada tabung Durham (Romadhon *et al.*, 2012). Bakteri yang dapat menghasilkan gelembung udara merupakan bakteri heterofermentatif, sedangkan bakteri yang tidak dapat menghasilkan gelembung udara merupakan bakteri homofermentatif (Ismail *et al.*, 2018).

#### **Uji Pertumbuhan BAL pada Suhu yang Berbeda:**

Sebanyak satu ose bakteri diinokulasikan pada media MRS broth dan diinkubasi pada suhu  $11^\circ C$ ,  $37^\circ C$ , dan  $45^\circ C$  selama 7 hari. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan pada media (modifikasi Ismail *et al.*, 2018).

#### **Uji Pertumbuhan BAL pada Konsentrasi NaCl yang Berbeda:**

Sebanyak satu ose bakteri diinokulasikan pada media MRS broth dengan konsentrasi NaCl 5%, 6,5%, dan 10% lalu diinkubasi pada suhu  $37^\circ C$  selama 7 hari. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan pada media (Ismail *et al.*, 2018).

#### **e. Uji Hemolitik**

Uji hemolitik dilakukan dengan menginokulasikan satu ose isolat bakteri yang berumur 24 jam setelah inkubasi. Streak satu koloni tersebut pada media *blood agar* dan diinkubasi pada suhu  $37^\circ C$  selama 48 jam. Aktivitas hemolitik diamati dengan melihat adanya zona bening (hemolitik- $\beta$ ), atau zona hijau (hemolitik- $\alpha$ ), atau tidak terbentuk zona (hemolitik- $\gamma$ ) di sekitar koloni bakteri. Uji hemolitik dilakukan untuk mengetahui bakteri bersifat patogen atau non-patogen. Keberadaan bakteri patogen ditunjukkan dengan munculnya zona di sekitar koloni bakteri yang menunjukkan adanya aktivitas hemolitik, sedangkan bakteri non-patogen ditandai dengan tidak terbentuknya zona di sekitar koloni bakteri (modifikasi Hargrove dan Alford dalam Hawaz, 2014).

### **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **3.1 Pembuatan Kefir Susu Kambing Saanen**

Pada Proses fermentasi susu kambing Saanen menggunakan bibit kefir menunjukkan adanya

aktivitas BAL yang terkandung dalam bibit kefir menyebabkan penurunan pH susu dari 6,82 menjadi 4,53. Hal ini disebabkan BAL memecah laktosa pada susu menjadi asam laktat, sehingga susu menjadi asam. Selain itu, peningkatan bobot bibit kefir dari 50,07 g menjadi 151,43 g menunjukkan adanya aktivitas *L. kefiranofaciens* selama proses fermentasi (Rahayu & Nurwitri, 2012).

### 3.2 Isolasi dan Pemurnian Isolat BAL dari Kefir Susu Kambing Saanen

Pada penelitian ini didapatkan 6 isolat bakteri dari kefir susu kambing Saanen yang diberi kode nama KS1, KS2, KS3, KS4, dan KS6. Pemilihan isolat berdasarkan zona bening di sekitar isolat dan perbedaan morfologi koloninya. Zona bening yang dihasilkan isolat menunjukkan adanya reaksi antara asam laktat, produk metabolit dari isolat dengan  $\text{CaCO}_3$  dan membentuk Ca-laktat yang larut dalam media (Pradana *et al.*, 2018). Selanjutnya isolat hasil isolasi dimurnikan dengan metode goresan 4 kuadran. Pemurnian dilakukan sebanyak 4-5 kali hingga didapatkan koloni tunggal dari isolat murni. Isolat yang telah murni kemudian dipindahkan ke dalam media MRS agar miring.

### 3.3 Karakterisasi Morfologi Isolat BAL dari Kefir Susu Kambing Saanen

Karakterisasi morfologi dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Karakterisasi morfologi bakteri makroskopik dilakukan dengan mengamati bentuk koloni (dilihat dari atas), tepi koloni (dilihat dari atas), elevasi (dilihat dari samping), dan warna koloni secara langsung menggunakan mata (Ismail *et al.*, 2018). Hasil pengamatan morfologi makroskopis isolat BAL dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik morfologi isolat BAL dari kefir susu kambing Saanen secara makroskopis

Isolat	Morfologi Koloni				Ukuran
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	
KS1	Bulat	Licin	Cembung	Putih	1 mm
KS2	Bulat	Licin	Cembung	Putih	1 mm
KS3	Bulat	Licin	Cembung	Putih	0,5 mm
KS4	Bulat	Licin	Cembung	Putih	1 mm
KS5	Bulat	Licin	Cembung	Putih	1,5 mm
KS6	Bulat	Licin	Cembung	Putih	2 mm

Berdasarkan hasil isolasi, semua isolat berbentuk bulat, tepian licin, elevasi cembung, berwarna putih dengan ukuran 0,5-2 mm. Hasil yang didapatkan sesuai dengan morfologi makroskopis BAL yang diperoleh (Ismail *et al.*, 2017), yaitu berbentuk bulat, elevasi cembung dan datar, berwarna putih susu dan krem, dengan tepian licin. Karakterisasi morfologi secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora yang kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 $\times$ . Hasil pewarnaan Gram isolat BAL dari kefir susu kambing Saanen dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pewarnaan Gram isolat BAL dari kefir susu kambing Saanen

Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
KS1	Positif	Bulat
KS2	Positif	Bulat
KS3	Negatif	Bulat
KS4	Negatif	Bulat
KS5	Positif	Bulat
KS6	Positif	Bulat

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa 4 isolat (KS1, KS2, KS5, KS6) merupakan Gram positif dengan keberadaan warna ungu dan 2 isolat lainnya (KS3, KS4) merupakan bakteri Gram negatif yang ditandai dengan warna merah. Semua isolat memiliki bentuk sel bulat. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan isolat KS1, KS2, KS5, dan KS6 diduga tergolong BAL, karena sesuai dengan salah satu karakteristik umum dari BAL yaitu Gram positif dengan bentuk sel bulat atau batang (Khandelwal *et al.*, 2016). Selanjutnya dilakukan pewarnaan endospora pada keempat isolat Gram positif, yaitu KS1, KS2, KS5, dan KS6. Hasil pewarnaan endospora menunjukkan semua isolat tidak memiliki spora, karena hanya terlihat sel vegetatif yang berwarna merah setelah diberikan

pewarna safranin. Pada pewarnaan endospora, spora yang dihasilkan bakteri akan menyerap pewarna malachite hijau (Misgiyarta and Widowati, 2007). Hasil pewarnaan endospora keempat isolat sesuai dengan karakteristik umum BAL, yaitu tidak membentuk spora (König and Fröhlich, 2009).

### 3.4 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia Isolat BAL dari Kefir Susu Kambing Saanen

Karakterisasi fisiologi dan biokimia dilakukan dengan uji katalase, uji motilitas, uji tipe fermentasi, uji pertumbuhan pada suhu dan konsentrasi NaCl yang berbeda. Semua uji ini dilakukan pada isolat BAL yang termasuk Gram positif dan tidak membentuk spora, yaitu isolat KS1, KS2, KS5, dan KS6 (Tabel 3).

Hasil uji katalase isolat BAL sifat katalase negatif yang ditandai dengan isolat tidak menghasilkan gelembung ketika ditetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hidrogen peroksida merupakan produk samping dari proses metabolisme aerobik yang bersifat toksik, sehingga bakteri aerob menghasilkan enzim katalase untuk memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang ditandai dengan terbentuknya gelembung gas oksigen. (Goyal *et al.*, 2012). Hasil uji motilitas menunjukkan keempat isolat BAL bersifat non motil yang ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar dan hanya tumbuh di sekitar lokasi penusukan. Hasil uji tipe fermentasi menunjukkan keempat isolat BAL bersifat homofermentatif yang ditandai dengan tidak terbentuk gelembung pada tabung Durham setelah inkubasi selama 48 jam. Hal ini disebabkan bakteri homofermentatif menggunakan jalur fermentasi *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP), sehingga dalam proses fermentasinya hanya

dihasilkan produk akhir asam laktat, genus BAL yang bersifat homofermentatif meliputi beberapa spesies dari genera *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus* dan *Tetragenococcus* (Jay *et al.*, 2005).

Hasil uji pertumbuhan isolat BAL menunjukkan semua isolat dapat tumbuh pada suhu 11°C, 37°C, dan 45°C yang ditandai dengan kekeruhan media MRSB. *Enterococcus* dapat tumbuh pada suhu 10°C dan 45°C (Lahtinen *et al.*, 2012). Selanjutnya, isolat BAL diujikan terhadap tiga konsentrasi NaCl yang berbeda menunjukkan semua isolat dan *L. casei* dapat menoleransi konsentrasi NaCl 5%, 6,5%, dan 10%. *Enterococcus* dan *Aerococcus* dapat menoleransi konsentrasi NaCl 6,5% (Cappucino & Sherman, 2012). Bakteri *Enterococcus* penghasil asam laktat bisa memiliki beberapa aspek yang perlu disikapi dengan hati-hati. Adanya strain-strain *Enterococcus* ini yang bisa melakukan transfer genetik yang dapat mengakibatkan resisten antibiotik baik dari *E. faecalis* atau *E. faecium* (Franz *et al.*, 2011). Oleh sebab itu perlu dimonitor agar strain-strain tertentu yang berpotensi meningkatkan resistensi antibiotik tidak masuk ke dalam makanan atau minuman yang difermentasi menggunakan BAL. Di sisi lain, asam laktat yang dihasilkan oleh BAL merupakan bahan baku untuk pembuatan *polylactic acid* (PLA), substansi yang disukai karena bisa diproduksi dari sumber terbarukan (Subramanian, Talluri and Christopher, 2015). Lebih lanjut Subramanian *et al.* mengungkapkan bahwa PLA merupakan polimer termoplastik yang merupakan bahan baku penting dalam industri *printing* 3D. *E. faecalis* juga dilaporkan sebagai penghasil asam laktat dengan konsentrasi tinggi dibandingkan dengan BAL jenis lainnya.

Tabel 3. Karakteristik fisiologi, dan biokimia isolat BAL dari kefir susu kambing Saanen

	Isolat			
	KS1	KS2	KS5	KS6
Pewarnaan Gram	+	+	+	+
Bentuk sel	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Pewarnaan endospora	-	-	-	-
Uji katalase	-	-	-	-
Uji motilitas	-	-	-	-
Uji tipe fermentasi	HM	HM	HM	HM
Uji suhu				
Suhu 11°C	+	+	+	+
Suhu 37°C	+	+	+	+
Suhu 45°C	+	+	+	+
Uji toleransi NaCl				
NaCl 5%	+	+	+	+
NaCl 6,5%	+	+	+	+
NaCl 10%	+	+	+	+
Uji hemolitik	Hemolitik- $\gamma$	Hemolitik- $\gamma$	Hemolitik- $\gamma$	Hemolitik- $\gamma$
Identifikasi genus	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>

Keterangan: (+): hasil reaksi positif, (-): hasil reaksi negatif, HM: homofermentatif, TD: tidak dilakukan. (Sumber: Lahtinen *et al.*, 2012; Schillinger & Lucke, 1989 dalam Kalschne *et al.*, 2015)

### 3.5 Uji Hemolitik

Bakteri berdasarkan aktivitas hemolitiknya dapat dibedakan menjadi tiga kategori, yaitu hemolitik- $\beta$  (menghasilkan zona bening di sekeliling koloni bakteri), hemolitik- $\alpha$  (menghasilkan zona hijau di sekeliling koloni bakteri, dan hemolitik- $\gamma$  (tidak menghasilkan zona di sekeliling koloni bakteri) (Cappucino & Sherman, 2012; Hawaz, 2014). Bakteri hemolitik- $\beta$  memiliki kemampuan memecahkan eritrosit secara sempurna sehingga menghasilkan zona bening. Bakteri hemolitik- $\alpha$  tidak dapat memecahkan eritrosit secara sempurna dan hanya menyebabkan kebocoran saja sehingga menghasilkan zona hijau. Bakteri hemolitik- $\gamma$  tidak dapat memecahkan eritrosit sehingga tidak menghasilkan zona (Suardana *et al.*, 2014).

Hasil uji hemolitik pada keempat isolat BAL menunjukkan bakteri bersifat non hemolitik (hemolitik- $\gamma$ ) dan tidak dapat memecahkan eritrosit yang ditandai dengan tidak terbentuk zona di

sekeliling koloni bakteri. Bakteri patogen seperti *S. aureus* bersifat hemolitik- $\beta$  yang menunjukkan bakteri dapat memecahkan eritrosit secara sempurna yang ditandai dengan terbentuk zona bening di sekeliling koloni bakteri.

## 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa empat isolat BAL yang berhasil diisolasi dari kefir susu kambing Saanen dan termasuk dalam genus *Enterococcus*. Keempat isolat BAL memiliki karakteristik Gram positif berbentuk bulat, tidak membentuk spora, bersifat non motil, katalase negatif, homofermentatif, dapat tumbuh pada kisaran suhu 11-45°C dan konsentrasi NaCl 5-10%. Keempat BAL ini memiliki sifat bersifat non hemolitik (hemolitik- $\gamma$ ) dan tidak dapat memecahkan eritrosit.

## 5. DAFTAR PUSTAKA

- Cho, G. S. *et al.* (2018) 'Isolation and characterization of lactic acid bacteria from fermented goat milk in Tajikistan', *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(11), pp. 1834–1845. doi: 10.4014/jmb.1807.08011.
- Devendra, C. and Haenlein, G. F. W. (2011) 'Goat breeds', in Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H. (eds) *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 2nd edn. Amsterdam: Elsevier, pp. 310–324.
- Franz, C. M. A. P. *et al.* (2011) 'Enterococci as probiotics and their implications in food safety', *International Journal of Food Microbiology*. *Int J Food Microbiol*, pp. 125–140. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.014.
- Getaneh, G. *et al.* (2016) 'Review on Goat Milk Composition and its Nutritive Value', *Journal of Nutrition and Health Sciences*. Annex Publishers, LLC, 3(4), p. 401. doi: 10.15744/2393-9060.3.401.
- Goyal, R. *et al.* (2012) 'Characterization of the Lactobacillus Isolated from Different Curd Samples', *African Journal of Biotechnology*, 11(79), pp. 14448–14452. doi: 10.5897/AJB11.310.
- Hawaz, E. (2014) 'Isolation and identification of probiotic lactic acid bacteria from curd and in vitro evaluation of its growth inhibition activities against pathogenic bacteria', *African Journal of Microbiology Research*, 8(13), pp. 1419–1425. doi: 10.5897/AJMR2014.6639.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C. and Mazhitov, B. (2018) 'Characterization of lactic acid bacteria from local cows milk kefir', *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 130(1), pp. 1–8. doi: 10.1088/1755-1315/130/1/012019.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C. and Putriani (2017) 'Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (Theobroma cacao L.)', *Jurnal Bioleuser*, 1(2).
- Jay, J. M., Loessner, M. J. and Golden, D. A. (2005) *Modern Food Microbiology*. 7th edn. Edited by D. R. Heldman. New York: Springer.
- Khandelwal, P. *et al.* (2016) 'Lactic Acid Bacteria', in Ray, R. C. and Montet, D. (eds) *Fermented Foods*. Part I: Bi. New York: CRC Press, pp. 127–146.
- Kıvanç, M. and Yapıcı, E. (2015) 'Kefir as a Probiotic Dairy Beverage: Determination Lactic Acid Bacteria and Yeast', *International Journal of Food Engineering*, 1(1), pp. 55–60. doi: 10.18178/ijfe.1.1.55-60.
- König, H. and Fröhlich, J. (2009) 'Lactic Acid Bacteria', in König, H., Fröhlich, J., and Uden, G. (eds) *Biology of Microorganism on Grapes, in Must and in Wine*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 3–6.
- Lahtinen, S. *et al.* (2012) *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects*. Fourth. New York: Taylor & Francis Group.
- Misgiyarta and Widowati, S. (2007) 'Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus', *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*, 24(4), pp. 38–57. doi: 10.1111/j.1540-5842.2007.00924.x.
- Otles, S. and Cagindi, O. (2003) 'Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects', *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2), pp. 54–59. doi: 10.1093/pasj/48.2.377.
- Pop, C. *et al.* (2014) 'Influence of Different Growth Conditions on the Kefir Grains Production, Used in the Kefiran Synthesis', *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 71(2), pp. 147–153. doi: 10.15835/buasvmcnfst.
- Pradana, I. P. E., Dewi, S. S. and Wilson, W. (2018) 'Aktivitas Kefir dan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Kefir dalam Menghambat Pertumbuhan Salmonellatyphi', in *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*, pp. 170–177.
- Rahayu, W. P. and Nurwitri, C. (2012) *Mikrobiologi Pangan*. Edited by P. Komalasari. Bogor: Penerbit ITB Press. Available at: [https://books.google.co.id/books?hl=en&lr=&id=Ho8SEA-AAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=GrTddsDhjD&sig=ql72\\_x\\_mvSffQvKpDZu0RxxHlgQ&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.co.id/books?hl=en&lr=&id=Ho8SEA-AAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=GrTddsDhjD&sig=ql72_x_mvSffQvKpDZu0RxxHlgQ&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false) (Accessed: 3 March 2021).
- Romadhon, R., Subagiyo, S. and Margino, S. (2012) 'Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria Pada Produk-Produk Hasil Perikanan', *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 8(1), pp. 59–64. doi: 10.14710/IJFST.8.1.59-64.
- Suardana, I. W., Utama, I. H. and Wibowo, H. (2014) 'Identifikasi Escherichia coli O157:H7 dari Feses Ayam dan Uji Profil Hemolisisnya pada Media Agar Darah', *Jurnal Kedokteran Hewan*, 8(1), pp. 1–5.
- Subramanian, M. R., Talluri, S. and Christopher, L. P. (2015) 'Production of lactic acid using a new homofermentative Enterococcus faecalis isolate', *Microbial Biotechnology*. John Wiley and Sons Ltd, 8(2), pp. 221–229. doi: 10.1111/1751-7915.12133.
- Trujillo, M. E. *et al.* (eds) (2015) *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Wiley. doi: 10.1002/9781118960608.
- Yuniastuti, A. (2014) *Probiotik ( Dalam Perspektif Kesehatan )*. 1st edn. Semarang: UNNES PRESS.
- Yusuf, D. *et al.* (2020) 'In Vitro Characterization of Lactic Acid Bacteria from Indonesian Kefir Grains as Probiotics with Cholesterol-Lowering Effect', *Journal of Microbiology and Biotechnology*. Korean Society for Microbiology and Biotechnology, 30(5), pp. 726–732. doi: 10.4014/jmb.1910.10028.