

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
WHEY TAHU SERTA UJI POTENSI PROBIOTIK**

SKRIPSI

Oleh :

**ALAWIYATUL HIMMAH M
NIM. 17620113**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI
WHEY TAHU SERTA UJI POTENSI PROBIOTIK**

SKRIPSI

Oleh:

ALAWIYATUL HIMMAH M

NIM: 17620113

diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
DARI WHEY TAHU SERTA UJI POTENSI PROBIOTIK**

SKRIPSI

Oleh:

ALAWIYATUL HIMMAH M

NIM: 17620113

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
pada tanggal,

Dosen Pembimbing I



Ir. Liliek Harianie AR., M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

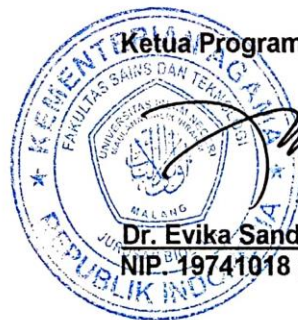
Dosen Pembimbing II



Oky Bagas Prasetyo, M.PdI
NIDT. 19890113 20180201 1244

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.
NIP. 19741018 200312 2 002

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT
DARI WHEY TAHU SERTA UJI POTENSI PROBIOTIK**

SKRIPSI

Oleh:

**ALAWIYATUL HIMMAH M
NIM: 17620113**

telah dipertahankan





di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima

sebagai

salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana

Sains (S.Si.)

Tanggal: _____ 2021

Ketua Penguji	Prof. Dr.Ulfah Utami, M.Si NIP: 19650509 199903 2 002	
Anggota Penguji 1	Dr. Nur Kusmiyati, M.Si NIP: 19890816 2016080 1 2061	
Anggota Penguji 2	Ir.Liliek Harianie AR, M.P NIP: 19620901 199803 2 001	
Anggota Penguji 3	Oky Bagas Prasetyo, M.PdI NIDT: 19890113 20180201 1244	

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi




**Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.
NIP. 19741018 200312 2 002**

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk semua orang yang telah mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini, khususnya:

1. Abi dan ibuk tercinta, yang telah mendidik, merawat, mendoakan serta memberikan semangat dan dukungan dengan sangat tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Tidak lupa pula pada kakak dan adik-adik saya, yang selalu mendoakan dan memberi support kepada saya untuk tetap semangat dalam menyelesaikan skripsi.
2. Om dan tante saya, serta semua keluarga saya yang sudah mensupport dan mendoakan saya.
3. Para pekerja di pabrik tahu yang sudah memberikan limbah tahu kepada saya secara gratis.
4. Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan semangat kepada penulis dari awal hingga akhir studi.
5. Ir.Lilieek Harianie AR, M.P., selaku dosen pembimbing skripsi yang banyak meluangkan waktu, tenaga, materi serta ilmu yang tidak terhingga untuk memberikan bimbingan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
6. Oky Bagas Prasetyo, M.PdI., selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
7. Teman-teman di lab mikrobiologi yang telah berjuang bersama dan banyak membantu dalam proses penelitian satu sama lain.
8. Teman-teman Wolves Biologi 2017, D'werkewer 2017 dan kontrakan Halal Entertainment yang selalu memberi semangat kepada penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Alawiyatul Himmah M
NIM : 17620113
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari *whey* tahu serta uji potensi probiotik

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil tiruan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 24 Desember 2021

Yang membuat Pernyataan



[Handwritten Signature]
Alawiyatul Himmah M
NIM.17620113

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

MOTTO

LA TAKHAF WA LA TAHZAN, INNALLAHA MA'ANA

**(Janganlah kamu takut dan janganlah kamu bersedih, sesungguhnya
Allah ada bersama kita)**

Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari *whey* tahu serta uji potensi probiotik

Alawiyatul Himmah M, Liliek Harianie, Oky Bagas Prasetyo

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Tahu merupakan makanan tradisional yang banyak digemari oleh masyarakat, dalam pengolahannya tahu menghasilkan dua limbah yaitu limbah padat (okara) dan limbah cair (*whey*). *Whey* tahu merupakan sisa cairan yang dibuang langsung ketika proses penggumpalan tahu, dan masih terdapat protein, lemak, karbohidrat serta zat lainnya. Limbah tahu mengalami suatu proses yaitu fermentasi secara spontan dengan menghidrolisis zat organik seperti protein, karbohidrat dan lemak yang terkandung dalam limbah tersebut. Bakteri asam laktat dalam makanan fermentasi berperan untuk menghasilkan aroma, rasa, tekstur yang lebih baik, meningkatkan nilai gizi, keamanan dan beberapa senyawa fungsional. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan sebagai probiotik. Penelitian pada *Whey* tahu diawali dengan isolasi dan karakterisasi terhadap beberapa bakteri adapun pengujian yang dilakukan yaitu pewarnaan Gram, pewarnaan endospore, uji katalase dan uji produksi gas, dimana hasilnya menunjukkan bahwa dari 10 isolat terdapat enam jenis isolat bakteri asam laktat yang diduga sebagai genus *Lactobacillus*. Pengujian terhadap potensi probiotik dengan uji ketahanan terhadap pH rendah menggunakan media MRSB yang telah diatur pH (2,3,4) dan 6,2 sebagai kontrol dan di inkubasi selama 3 jam, isolat yang mampu bertahan terhadap pH rendah dilanjutkan uji ketahanan garam empedu menggunakan oxgal 0,3%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari ke enam isolat tidak tahan terhadap pH 2 dan 3 akan tetapi tahan terhadap pH 4 yaitu isolat dengan kode WT 9, isolat tersebut di uji ketahanan terhadap garam empedu memiliki ketahanan dengan nilai $\geq 0,1$ yaitu WT 9 = 0,193. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif kuantitatif. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui genus bakteri asam laktat dari *whey* tahu serta uji potensinya sebagai probiotik.

Kata kunci: *Bakteri asam laktat, whey tahu, probiotik*

Isolation and characterization of lactic acid bacteria from tofu whey as probiotic potency test

Alawiyatul Himmah M, Liliek Harianie, Oky Bagas Prasetyo

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Tofu is a traditional food that is much favored by the community, in its processing it produces two wastes, namely solid waste (okara) and liquid waste (whey). Tofu whey is the residual liquid that is disposed of directly during the tofu clumping process, and there are still proteins, fats, carbohydrates and other substances. Tofu waste undergoes a process, namely spontaneous fermentation by hydrolyzing organic substances such as proteins, carbohydrates and fats contained in the waste. Lactic acid bacteria in fermented foods play a role in producing better aroma, taste, texture, increasing nutritional value, safety and several functional compounds. Lactic acid bacteria have the ability as probiotics. Research on whey tofu begins with the isolation and characterization of several bacteria. The tests carried out were Gram staining, endospore staining, catalase test and gas production test, where the results showed that from 10 isolates there were six types of lactic acid bacteria isolates suspected of being the genus *Lactobacillus*. Tests on the potential of probiotics with a low pH resistance test using MRSB media that have been adjusted to pH (2,3,4) and 6.2 as a control and incubated for 3 hours, isolates that are able to withstand low pH are then tested for bile salt resistance using oxgal 0.3%. The results showed that of the six isolates that were not resistant to pH 2 and 3 but were resistant to pH 4, namely isolates with the code WT 9, the isolates tested for resistance to bile salts had resistance with a value of 0.1, namely WT 9 = 0.193. This research is a quantitative qualitative descriptive research. The purpose of this study was to determine the genus of lactic acid bacteria from tofu whey and to test its potential as a probiotic.

Keywords: Lactic acid bacteria, tofu *whey*, probiotics

عزل وتوصيف البكتيريا حمض اللاكتيك من مصل اللبن التوفو، فضلا عن الاختبارات المحتملة بروبيوتيك

علويات الهمة م، ليليك هارياني، أوكي باغاس براسيتيو
قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم
مالانج

الملخص

التوفو هو الغذاء التقليدي الذي يحب كثيرا من قبل المجتمع، في تجهيز التوفو تنتج اثنين من النفايات، وهي النفايات الصلبة (أوكارا) والنفايات السائلة (مصل اللبن). مصل اللبن التوفو هو بقية السائل الذي يتم التخلص منه مباشرة أثناء عملية تكتل التوفو، ولا تزال هناك البروتينات والدهون والكربوهيدرات وغيرها من المواد. تخضع نفايات التوفو لعملية، وهي التخمير التلقائي عن طريق التحلل المائي للمواد العضوية مثل البروتينات والكربوهيدرات والدهون الموجودة في النفايات. تلعب بكتيريا حمض اللاكتيك في الأطعمة المخمرة دورا في إنتاج رائحة وطعم وملمس أفضل وقيمة غذائية محسنة وسلامة وبعض المركبات الوظيفية. بكتيريا حمض اللاكتيك لديها القدرة على البروبيوتيك. بدأ البحث على توفو مصل اللبن عن طريق عزل وتوصيف العديد من البكتيريا بينما كانت الاختبارات التي أجريت هي تلوخي الجرام وتلوخي البوغ واختبار الكاتلاز واختبار إنتاج الغاز، حيث أظهرت النتائج أنه من 10 عزلات كان هناك ستة أنواع من بكتيريا حمض اللاكتيك تشته في بكتيريا من جنس اللاكتوباكيلوس. اختبار إمكانات البروبيوتيك عن طريق اختبار مقاومة pH المنخفض باستخدام وسائط MRSB التي تم تعديلها إلى pH (4,3,2) و 6.2 كعنصر تحكم واحتضانها لمدة 3 ساعات، ثم يتم اختبار العزلات القادرة على تحمل درجة الحموضة المنخفضة لمقاومة ملح الصفراء باستخدام أوكسجال (oxgal) 0.3%. وأظهرت النتائج أنه من بين ستة عزلات لا تقاوم pH 2 و 3 ولكن مقاومة ل pH 4، وهي يعزل مع رمز WT9، تم اختبار عزل لمقاومة الأملاح الصفراوية مع قيمة ≤ من 0.1 وهو WT9 = 0.193. هذا البحث هو بحث وصفي نوعي كمي. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد جنس بكتيريا حمض اللاكتيك من مصل التوفو واختبار قدرتها على أنها بروبيوتيك.

الكلمات الرئيسية: بكتيريا حمض اللاكتيك، توفو مصل اللبن، البروبيوتيك

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Bismillahirrohmanirrohim, Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “ Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari *Whey* Tahu serta Uji Potensi Probiotik ”. Tidak lupa pula shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakan diinul islam yang terpatri hingga akhirul zaman Aamiin.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberi dorongan dan bimbingan sampai terselesaikannya tugas akhir ini khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H.M. Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Kaprodi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Ir. Liliek Harianie AR.,M.P dan Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.PdI. selaku dosen pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh keikhlasan dan kesabaran dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga terselesaikannya tugas akhir ini.
5. Ibu Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc selaku Dosen wali, yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
6. Seluruh dosen dan laboran di program studi biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang dengan setia menemani dan membantu penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.

7. Abi dan ibuku serta segenap keluarga besarku tercinta yang telah memberikan doa, dukungan, semangat dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan program studi.
8. Terimakasih kepada teman-teman biologi kelas D'Werkewer, WOLVES 17 dan kontrakan Halal Entertainment telah membantu dan memberi semangat.
9. Terimakasih kepada segenap Asatidzah TPQ Al-Mu'aawanah telah memberi semangat dan do'a.

Semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis menjadi pahala dan semoga mendapat balasan dari Allah SWT. Skripsi ini sudah ditulis dengan baik dan cermat, apabila terdapat kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Malang, 30 November 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	v
MOTTO	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
المخلص	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.1. Rumusan Masalah	6
1.2. Tujuan.....	6
1.3. Manfaat.....	6
1.5. Batasan Masalah.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Bakteri asam laktat (BAL)	8
2.1.1. Lactobacillus	10
2.1.2. Streptococcus	11
2.1.3. Pediococcus.....	11
2.1.4. Leuconostoc	12

2.2. Manfaat bakteri asam laktat (BAL).....	12
2.3. Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL)	13
2.4. Probiotik	15
2.5. Tahu.....	17
2.6. <i>Whey</i> tahu	18
2.7. Isolasi bakteri asam laktat (BAL).....	21
2.8. Karakterisasi bakteri asam laktat (BAL)	22
2.9. Media selektif MRSA dan MRSB.....	24
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Rancangan penelitian	25
3.2. Waktu dan tempat.....	25
3.3. Alat dan bahan penelitian	25
3.3.1. Alat.....	25
3.3.2. Bahan.....	25
3.4. Prosedur kerja.....	26
3.4.1. Sterilisasi alat	26
3.4.2. Pengambilan sampel.....	26
3.4.3. Pembuatan media	26
3.4.4. Isolasi bakteri asam laktat	27
3.4.5. Karakterisasi bakteri asam laktat	27
3.4.6. Uji potensi probiotik	28
3.5. Teknik Analisis Data	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Karakterisasi Genus BAL Dari <i>Whey</i> Tahu	30
4.1.1. Pengamatan Makroskopis	30
4.1.2. Pengamatan Mikroskopis.....	33
4.2. Uji kandidat probiotik	39
4.2.1. Hasil Uji Ketahanan Terhadap pH Asam	39
4.2.2. Hasil uji ketahanan terhadap garam empedu	41
BAB V PENUTUP	
5.1. Kesimpulan.....	43

5.2. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Koagulan Tahu Secara Umum	18
Tabel 2.2 Komposisi Kimia Whey Tahu.....	18
Tabel 4.1 Karakter Morfologi Koloni Bakteri Dari Whey Tahu	30
Tabel 4.2 Ketahanan Terhadap pH Rendah	40
Tabel 4.3. Ketahanan Terhadap Garam Empedu	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1 Pewarnaan Gram	34
Gambar 4.2 Pewarnaan Endospora	36
Gambar 4.3 Uji Katalase	37
Gambar 4.4 Uji Produksi Gas	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian.....	53
Lampiran 2 Data Uji Ketahanan Terhadap pH Rendah	54
Lampiran 3 Data Uji Ketahanan Terhadap Garam Empedu	56
Lampiran 4 Gambar Penelitian	57

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	keterangan
BAL	Bakteri asam laktat
MRSA	<i>De Mann Rogosa Sharpe Agar</i>
MRSB	<i>De Mann Rogosa Sharpe Broth</i>
CaCO ₃	Kalsium karbonat
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
NaCl	Natrium clorida

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Tahu merupakan makanan pokok yang sangat terkenal di Indonesia yang dikonsumsi sebagai makanan sehari-hari. Kandungan gizi yang tinggi pada tahu bermanfaat bagi kesehatan tubuh, yang terdiri dari kadar air 88%, protein 6%, karbohidrat 1.9%, kadar abu 0.6% dan lemak 3.5% (Andarwulan dkk., 2018). Industri tahu banyak tersebar di Indonesia dengan kapasitas produksi yang berbeda-beda, salah satunya industri tahu di Jawa Timur di Kota Malang berdasarkan data Disperindag (Dinas Perindustrian dan Perdagangan) tahun 2005 bahwa terdapat 8 industri tahu formal dengan kapasitas produksi 673.900 kg per bulan (Ernawati 2011). Berdasarkan data penelitian Jaya dkk. (2018) pada pabrik UD. Sumber Urip pengolahan 150 kg kedelai menghasilkan limbah padat berupa ampas tahu sebesar 210 kg dan total limbah cair sebesar 2.115,51 kg/hari. Industri pengolahan tahu secara umum merupakan industri kecil rumah tangga yang menghasilkan limbah dalam skala yang besar, baik limbah padat maupun limbah cair apabila tidak ditangani secara baik dapat menimbulkan masalah pencemaran lingkungan.

Kelangsungan hidup biota yang ada dalam badan perairan akan sangat dipengaruhi oleh kualitas air. Kualitas air akan berubah apabila ada bahan yang masuk, seperti bahan organik yang dapat mencemari perairan, menghasilkan produk dekomposisi berupa ammonia (NH_3), CO_2 , H_2S dan asam asetat yang dapat bersifat racun bagi biota perairan dan menurunkan kualitas perairan yang menyebabkan gangguan terhadap kehidupan biota akuatik. Apabila limbah ini dialirkan ke sungai terus menerus, berdampak buruk pada lingkungan perairan termasuk bagi ikan-ikan budidaya yang dipelihara pada keramba di lingkungan perairan tersebut dan ekosistem lingkungan perairan menjadi tidak stabil serta menimbulkan bau busuk (Pagoray dkk., 2021) Salah satu upaya yang dapat dilakukan yaitu dengan memanfaatkan kembali air limbah industri tahu tersebut, misalnya untuk kegiatan pertanian, limbah cair tahun juga dapat dimanfaatkan

sebagai POC (pupuk organik cair) (Siswoyo dan Joni., 2017). Industri tahu dalam skala kecil maupun besar masih membuang limbahnya langsung ke sungai, menyebabkan aliran menjadi keruh, berbau tidak sedap dan organisme di dalam air banyak yang mati (Pangestika dan Nelson., 2020).

Whey tahu merupakan sisa cairan yang dibuang langsung ketika proses penggumpalan tahu, dan masih terdapat protein, lemak, karbohidrat serta zat lainnya. Limbah yang dibuang tanpa adanya proses keberlanjutan akan mengalami pengendapan terhadap zat-zat organik, terjadinya pembusukan serta berkembangnya mikroorganisme patogen di badan perairan (Sinaga dkk., 2014 dan Yeni dkk., 2016). Proses pembuatan tahu kedelai digiling sehingga menjadi susu kedelai dan dipanaskan lalu dikoagulasi dengan garam ataupun asam sehingga menghasilkan produk akhir berupa limbah berwarna kuning yang sering disebut *whey* tahu. Sedangkan limbah padat pada tahu disebut ampas (Li *et al.*, 2017 and Cua, 2019).

Limbah tahu mengalami suatu proses yaitu fermentasi yang dilakukan oleh mikroba secara spontan dengan menghidrolisis zat organik yaitu protein, lemak dan karbohidrat yang terdapat didalam limbah tersebut. Terdapat beberapa jenis mikroorganisme yang terdapat pada proses ini, diantaranya bakteri hidrolitik memecah molekul organik kompleks seperti (protein, selulosa, lignin, lemak) menjadi molekul monomer yang terlarut yaitu glukosa, gliserol, asam amino dan asam lemak. Molekul monomer dimanfaatkan langsung oleh beberapa kelompok bakteri berikutnya. Bakteri asidogenik (pembentuk asam) seperti *Clostridium* merubah asam lemak, gula, asam amino menjadi asam organik (seperti asam asetat, propionat, formiat, laktat, butirrat, atau suksinat), alkohol dan keton (seperti etanil, metanol, gliserol, aseton), asetat, CO₂ dan H₂ (Yudhistira dkk., 2016). Bakteri asam laktat dapat bersumber dari fermentasi makanan, tumbuhan ataupun hewan yang kaya akan protein dan karbohidrat (Suryani 2020).

Produk tahu memiliki dua limbah dimana ampas tahu telah diteliti sebelumnya mengandung unsur hara yang dapat menjadi media pertumbuhan mikroorganisme Bakteri Asam Laktat (BAL). Pada ampas tahu terdapat BAL *Lactobacillus pentosus* dan *Lactobacillus plantarum* (Aritonang *et al.*, 2017).

Whey tahu didominasi oleh genus *Lactobacillus* sebesar 95,31%. Pada *whey* kedelai yang diperoleh dari hasil perasan tahu terdapat bakteri sebanyak 112 *Lactobacillus* spp, 18 *Streptococcus* spp. dan 33 ragi (Li *et al.*, 2017 and Fei, 2018). Manfaat dari limbah tahu yang mengandung BAL yaitu dapat dijadikan sebagai kultur starter untuk koagulan tahu, probiotik dan kemampuan dalam mengubah isoflavon glukosida menjadi aglikon, bakteriosin sebagai bahan penghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk (Fei *et al.*, 2017 and Fei *et al.*, 2018).

Berdasarkan data dari LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) tahun 2017 melaporkan bahwa laporan Kementerian Riset dan Teknologi 2010 menjelaskan terdapat 84.000 pengrajin tahu (skala kecil maupun besar) yang terdapat di Indonesia. Setiap pengrajin tahu dapat membutuhkan biji kedelai sekitar 2,56 juta ton per tahun dan menghasilkan limbah sebesar 14,6 -20 juta liter per tahun. Berdasarkan BPS (Badan Pusat Statistik) (2016) perkembangan konsumsi tahu secara berturut-turut tahun 2016-2017 yaitu sebesar 7,87 kg/ kapita sampai 7,88 kg/kapita per tahun. Pada tahun 2019 meningkat menjadi 8,03 kg/kapita per tahun. Sally dkk. (2019) menyatakan bahwa kenaikan dalam jumlah produksi tahu ini akan menyebabkan akumulasi limbah semakin meningkat.

BAL memiliki kelebihan yaitu tidak membentuk spora, tidak motil, tahan terhadap pH asam, aerotoleran (tidak membutuhkan oksigen), katalase-negatif, produksi asam laktat (LA) yang dihasilkan dijadikan untuk produk metabolisme akhir dari fermentasi karbohidrat (Mora-Villalobos *et al.*, 2020). Bakteri asam laktat yang terdapat pada makanan fermentasi akan memberikan kelebihan atau peranan penting dalam makanan tersebut untuk menghasilkan aroma, rasa, tekstur yang lebih baik, meningkatkan nilai gizi, keamanan dan beberapa senyawa fungsional (Yudianti, 2020). Ciri- ciri bakteri asam laktat sebagai berikut BAL termasuk Gram positif, termasuk organisme anaerob fakultatif, non-spora, katalase negatif, toleran asam kecuali beberapa spesies tertentu, termasuk organisme yang aman (Suryani 2020).

Penelitian mengenai potensi probiotik dari *whey* tahu dilakukan karena probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang umumnya dimiliki oleh bakteri

asam laktat yang memodifikasi mikroflora pada sistem pencernaan manusia, terutama mikroflora usus. Probiotik memberikan dampak baik bagi tubuh. dengan bercirikan Gram positif, batang, anaerobik, terutama termasuk kedalam jenis bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Manfaat dari mengkonsumsi probiotik, salah satunya untuk gejala alergi sangat aman dan tidak memberikan efek samping, sehingga dilakukannya uji potensi probiotik untuk dapat dikembangkan manfaatnya dalam segala aspek (Zukiewicz-Sobczak *et al.*, 2014). Limbah cair tahu masih mengandung protein tinggi dan dapat digunakan untuk proses pertumbuhan bakteri asam laktat dalam menghasilkan produk tertentu, seperti minuman probiotik (Irmayanti *et al.*, 2020).

Bakteri asam laktat dapat ditemukan pada berbagai macam olahan makanan yaitu tahu, kecap, tauco, tempe dan asinan. Proses pembuatan tahu dan tempe bisa dilakukan dengan menambahkan bakteri asam laktat (Murni dkk., 2013). Senyawa asam yang dominan dalam *whey* tahu merupakan asam laktat (Kumalaningsih, 2014). Bakteri asam laktat tidak berbahaya untuk kesehatan apabila dikonsumsi, mampu mengubah laktosa dan gula menjadi asam laktat, (Roni dan Netty., 2012).

Penelitian ini dilakukan karena banyaknya ketersediaan limbah tahu yang dihasilkan pada setiap pabrik yang masih kurang dimanfaatkan, apabila dibiarkan akan menimbulkan masalah pada lingkungan, dengan ini dapat dilakukan suatu upaya penelitian mengenai adanya bakteri asam laktat dari limbah cair tahu, uji karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah tahu meliputi pewarnaan Gram, endospora, katalase dan produksi gas serta uji potensi probiotik yang meliputi uji ketahanan terhadap pH rendah dan ketahanan terhadap garam empedu. Karakterisasi ini penting untuk dilakukan untuk mendapat isolat bakteri asam laktat yang dapat dikembangkan dalam berbagai tujuan. Penelitian ini difokuskan dalam usaha memberikan informasi adanya bakteri asam laktat dari *whey* tahu mengingat bakteri ini merupakan jenis bakteri yang menguntungkan dan juga dapat dimanfaatkan sebagai probiotik untuk pencegahan dalam pengobatan banyak penyakit termasuk alergi. Penjelasan terkait makhluk Allah yang tidak terlihat termaktub dalam Al-Quran surat Q.S: Al-Haqqah [69]: 38-39).

فَلَا أُقْسِمُ بِمَا تُبْصِرُونَ ۚ ۳۸ وَمَا لَا تُبْصِرُونَ ۚ ۳۹

Artinya : Maka Aku bersumpah dengan apa yang kamu lihat.{38} Dan dengan apa yang tidak kamu lihat {39}.

Penjelasan dikutip dari tafsir Al-Aisar firman Allah ta'ala yang artinya” *maka aku bersumpah dengan apa yang kamu lihat. Dan dengan apa yang tidak kamu lihat*”. Maka tidaklah perkara seperti apa yang kalian lihat dan katakan wahai para pendusta. Aku bersaksi atas hal yang nampak oleh mata dan yang tidak nampak oleh penglihatan (mata) seperti makhluk yang ada wujudnya di bumi dan di langit (Al-jazairi, 2009).

“*Maka Aku tidak bersumpah dengan apa yang kamu lihat dan dengan apa yang tidak kamu lihat*” dari ciptaan-Ku. Kata (لَا) dalam firman-Nya: (فَلَا أُقْسِمُ) sebagian memahaminya dengan makna *tidak*, Allah tidak bersumpah dengan semua wujud yang telah nyata apa yang akan disampaikan sehingga tidak perlu adanya penegasan dengan bersumpah. Pemahaman lain terkait arti kata (لَا) itu bertujuan sebagai sisipan untuk menguatkan sumpah. Jadi, seakan-akan awal ayat di atas memberi penjelasan bahwa *Sungguh saya bersumpah*. Ayat ini (بِمَا تُبْصِرُونَ. وَمَا لَا تُبْصِرُونَ.) “*dengan apa yang kamu lihat dan dengan apa yang tidak kamu lihat*” menjelaskan tentang adanya wujud yang tidak terlihat oleh mata atau yang terlihat sekalipun oleh manusia (Shihab, 2002).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa telah banyak ilmu yang ada di dunia ini. Salah satunya seperti ilmu tentang mikrobiologi, yang didalamnya membahas terkait bakteri, virus dan jamur. Penelitian ini menggambarkan bahwa terdapat makhluk ciptaan Allah yang lebih kecil daripada semut yaitu bakteri asam laktat. Mikroorganisme ini memiliki bentuk dan ukuran yang relatif kecil yang tidak dapat dilihat oleh mata, untuk dapat melihatnya memerlukan bantuan alat seperti mikroskop.

1.1.Rumusan Masalah

1. Apa saja genus bakteri asam laktat yang terdapat di dalam *whey* tahu ?
2. Apakah genus bakteri asam laktat yang terdapat dalam *Whey* tahu memiliki potensi sebagai probiotik?

1.2.Tujuan

1. Mengetahui genus bakteri asam laktat dari *Whey* tahu.
2. Mengetahui genus bakteri asam laktat yang terdapat dalam *Whey* tahu yang berpotensi sebagai probiotik.

1.3.Manfaat

1. Memberikan informasi tentang jenis bakteri asam laktat dari *Whey* tahu untuk dapat dimanfaatkan atau dikembangkan untuk berbagai macam tujuan tertentu terutama dalam bidang mikrobiologi pangan
2. Memberikan inspirasi untuk dapat diteliti lebih lanjut terhadap bakteri asam laktat yang ada pada beberapa limbah dari produk olahan makanan agar tidak terbuang sia-sia sehingga menimbulkan pencemaran lingkungan.
3. Memberi gambaran secara ilmiah terkait jenis bakteri asam laktat (BAL) dari *Whey* tahu berpotensi probiotik.

1.5. Batasan Masalah

1. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di pabrik tahu di sukun
2. Sampel diambil dari 1 pabrik tahu
3. Bakteri yang diamati jenis bakteri asam laktat
4. Media tumbuh bakteri yaitu MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) dan MRSB (*De Mann Rogosa Sharpe Broth*)
5. Teknik yang digunakan dalam mengisolasi bakteri yaitu dengan cara pengenceran bertingkat yang diinokulasikan pada MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) dengan cara pour plat
6. Teknik dalam mengkarakterisasi bakteri dengan beberapa uji diantaranya makroskopis dan mikroskopis yang meliputi pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, uji katalase, uji produksi gas

7. Karakterisasi bakteri asam laktat dilakukan sampai tingkat genus dengan menggunakan panduan buku *Bergey's 1994*
8. Pengujian terkait potensinya sebagai probiotik dengan melihat kemampuan dalam ketahanan terhadap pH rendah dan ketahanan terhadap garam empedu

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri asam laktat (BAL)

Bakteri yang memiliki peranan terbesar di produk pangan yaitu bakteri asam laktat, dapat dimanfaatkan sebagai makanan fungsional dan pengawet alami dalam suatu produk fermentasi. Pemanfaatan untuk pengawet alami secara biopreservatif dengan memanfaatkan bakteri asam laktat telah banyak dikembangkan, pemanfaatan metabolitnya dijadikan sebagai agen antimikroba (Ibrahim dkk., 2015). Proses fermentasi pangan melibatkan bakteri BAL (Sasmita dkk., 2018). BAL telah dimanfaatkan secara tradisional dalam kehidupan manusia baik dalam proses fermentasi makanan seperti halnya asinan, kecap, tahu, tauco, tempe (Murni dkk., 2013).

Ciri- ciri bakteri asam laktat yaitu termasuk dalam bakteri Gram positif, non-motil, katalase-negatif, endospora-negatif dan sebagai penghasil antimikroba. Bakteri yang memiliki kemampuan dalam memfermentasikan glukosa atau karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat dengan jumlah yang tinggi (Romadhon, 2012). Bakteri asam laktat (BAL) terdapat dua family yaitu, Lactobacillaceae dan Streptococcaceae. Terbagi atas 12 Genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* termasuk family *Lactobacillaceae* memiliki bentuk batang, sedangkan *Streptococcaceae* berbentuk bulat termasuk genus *Leuconostoc* dan *Pediococcus* (Aritonang, 2017). *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium*, *Weissella*, dan *Oenococcus*. Digolongkan kedalam kelompok BAL karena memiliki kemampuan dalam memetabolisme asam laktat (Nurhikmayani, 2019).

Probiotik dapat dihasilkan dari bakteri asam laktat (BAL), kelompok bakteri probiotik bersifat menghasilkan asam laktat, non patogen, kelompok, berbentuk coccus atau bacillus, tidak membentuk spora, katalase negatif dan oksidase positif. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan dalam memfermentasikan gula menjadi asam laktat, produksi asam laktat oleh BAL

sangat cepat perkembangannya, sehingga pertumbuhan mikroba lain yang tidak diinginkan dapat terhambat (Putri, 2018).

Bakteri asam laktat (BAL) dapat dikatakan sebagai *food grade microorganisms* yang merupakan jenis mikroba menguntungkan bagi kesehatan tidak bersifat toxic terhadap berbagai bahan pangan, melainkan sangat menguntungkan bagi kesehatan (Ibrahim dkk., 2015). Asam organik yang dihasilkan dari asam laktat yang didapat dari hasil metabolit utama fermentasi BAL memiliki harga jual tinggi karena peranannya yang bermacam-macam dalam bidang industri (Safitri, 2016). Bakteri asam laktat (BAL) secara umum akan menghasilkan etanol dalam jumlah besar, asam laktat dan asam asetat, menghasilkan asam organik dalam jumlah kecil dari fermentasi substrat energi karbohidrat yang merupakan senyawa antimikroba (Dewi, 2019). Bakteri asam laktat (BAL) yang ditambahkan pada suatu produk akan dapat menurunkan pH substrat dan dapat mencegah munculnya bakteri berbahaya (patogen). Bakteri asam laktat pada makanan akan memberikan nilai gizi lebih dari bahan aslinya. Komponen mikroba yang ada pada suatu makanan akan memecah secara kompleks menjadi sederhana untuk dengan mudah dapat dicerna (Usmania, 2018).

Asam laktat yang dihasilkan dari suatu proses metabolisme karbohidrat akan mempengaruhi nilai pH lingkungan tempat bakteri tersebut tumbuh sehingga menyebabkan rasa asam. Tingginya nilai asam laktat akan mempengaruhi terhadap rendahnya nilai pH. *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* merupakan spesies bakteri asam laktat, mampu memecah karbohidrat menjadi asam laktat (Abdul dkk., 2018). BAL memiliki dua sifat yaitu homofermentatif yang terdiri dari jenis bakteri *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Lactobacillus*, BAL heterofermentatif terdiri dari jenis bakteri yaitu *Leuconostoc* dan beberapa dari spesies *Lactobacillus* (Aritonang, 2017). *Lactobacillus* dapat digunakan sebagai probiotik, produksi asam laktat serta bacteriosin (Hidayat dkk., 2018).

Nutrisi utama yang dibutuhkan bakteri asam laktat adalah terpenuhinya sumber karbon dan nitrogen. Karbohidrat dibutuhkan sebagai nutrisi yang lebih banyak dibandingkan dengan protein. (Azizah dkk., 2012) Bakteri asam laktat

menggunakan sumber karbon sebagai sumber energi dan bahan pembentuk asam laktat, sedangkan nitrogen digunakan sebagai bahan pembentuk biomassa sel. Bakteri asam laktat pada fase pertumbuhan memanfaatkan protein sebagai sumber nitrogen, yang digunakan oleh bakteri untuk sintesis protein, asam amino (Safitri dkk., 2016). Sumber karbon yang baik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat adalah glukosa. Glukosa sebagai monosakarida merupakan senyawa yang langsung dapat digunakan secara penuh oleh bakteri *P. pentosaceus* dalam metabolismenya. (Yeni dkk., 2016)

Bakteri asam laktat memiliki peranan penting dalam fermentasi makanan dengan adanya BAL tidak hanya berkontribusi pada pengembangan sifat sensoris yang diinginkan pada produk akhir akan tetapi untuk keamanan mikrobiologis BAL. Bakteri asam laktat memiliki status GRAS yang pada umumnya aman pada makanan, di Eropa status aman pada makanan sekitar 25%, serta 60% makanan di Negara berkembang juga terdiri dari makanan fermentasi dari BAL (Juodeikiene, 2015). Bakteri asam laktat tersebar dalam 16 genus, 12 diantaranya terdapat pada makanan, bersifat Gram positif, sebagian diantaranya berbentuk batang, kokus (seperti bola) atau kokobasil. Kebanyakan mesofilik, tetapi sebagian dapat tumbuh pada suhu refrigerator (4°C) sampai 45°C (Ingratubun dkk., 2013).

Bakteriosin adalah protein yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang mampu menghambat pertumbuhan berbagai patogen dan bakteri perusak. Asam laktat dapat terbentuk melalui proses fermentasi yang berlangsung dengan adanya aktivitas bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus*, yang berlangsung secara spontan, dan terjadi secara alamiah dengan memperhatikan kondisi lingkungannya yaitu anaerobic (Sutrisna dkk., 2015).

2.1.1. Lactobacillus

Genus *Lactobacillus* memiliki beberapa karakter yaitu termasuk bakteri Gram positif, berbentuk basil/batang, non-motil bakteri ini mampu tumbuh pada media agar MRS pada pH 4,4 (Cho *et al.*, 2013). Tidak tumbuh pada kadar garam 18 % bakteri banyak dimanfaatkan pada hasil produk pangan fermentasi karena

aman, produk pangan fermentasi meliputi bekasam, sawi asin, sourkraut, dan tempoyak (Widowati, 2014).

Lactobacillus merupakan bakteri asam laktat yang dikelompokkan ke dalam jenis bakteri heterogenus, terdiri dari 135 spesies, 27 subspecies. Genus ini memiliki kelebihan sebagai agen probiotik, karena dapat bertahan pada pH rendah, garam empedu, memproduksi antimikroba, memiliki kemampuan antagonistik terhadap patogen enterik, mengikat kolesterol diet, mengkonjugasi garam empedu, dapat tumbuh pada media sederhana. Mampu menghambat bakteri patogen genus salmonella, vibrio, listeria, shigella dan staphylococcus. Menghasilkan komponen antimikroba (bakteriosin) seperti asidolin, asidofilin, dan laktosidin. Beberapa spesies yang digunakan sebagai probiotik dalam produk komersial diantaranya *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. delbrueckii subcp*, *L. brevis*, dan *L. cellobiosus*, *L. bulgaricus* (Hidayat, 2018).

2.1.2. Streptococcus

Streptococcus memiliki ciri-ciri yaitu Gram-positif, memiliki bentuk cocci (bulat, oval) dan non-motile (Sulmiyati, 2018). *Streptococcus* memiliki 35 spesies yang telah diidentifikasi, yang dapat dimanfaatkan sebagai fermentasi produk dalam pemroduksian minuman ataupun makanan. Beberapa spesies yang sering digunakan yaitu *S. lactis*, *S. cremoris*, *S. salivarius*, subsp. *Thermophiles* dan *S. intermedius* (Hidayat, 2018).

2.1.3. Pediococcus

Pediococcus memiliki karakteristik berbentuk *coccus*, termasuk bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, non-motil, tergolong bakteri asam laktat karena proses akhir metabolisme berupa asam laktat (Osamanagaoghu *et al.*, 2011). *Pediococcus* memiliki bentuk yang berbeda dari jenis coccus lainnya yaitu membentuk tetrad dan tidak menghasilkan gas (Wikandari dkk., 2012). *Pediococcus* dapat tumbuh pada suhu 25-40°C, pH 4,2 dan media yang mengandung 6,5% NaCl, habitat terdapat pada tumbuhan, susu, urin, hewan dan

bir (Hutkins, 2006). Hasil penelitian dari FTP UGM menyatakan bahwa aplikasi kultur starter *pediococcus acidilactici* F-11 dapat digunakan sebagai preservasi tahu, dengan menambahkan bakteriosin pada tahu simpan dingin hingga dapat menekan pertumbuhan bakteri dan dapat memperpanjang masa kadaluarsa (Rahayu & Tyas, 2019).

2.1.4. Leuconostoc

Leuconostoc memiliki karakteristik bentuk sel kokus, termasuk bakteri Gram positif, uji katalase negatif dan menghasilkan asam laktat. Masa simpan 6 minggu pada suhu 10°C (Sumarsih *et al.*, 2012). Bakteri jenis ini memiliki perbedaan yang signifikan dengan genus *Lactobacillus* dan *Streptococcus* yaitu bersifat heterofermentatif yaitu memfermentasi gula menjadi asam laktat, asam asetat, etanol dan CO₂ (Hutkins, 2006). BAL heterofermentatif seperti *Leuconostoc*, akan memecah glukosa menghasilkan ± 50% asam laktat dan sisanya dapat berupa etanol, asam asetat, asetaldehid, diasetil, dan CO₂ (Fauzi dkk., 2012).

2.2. Manfaat bakteri asam laktat (BAL)

Pemanfaatan BAL terhadap proses fermentasi akan menghilangkan aroma *prengus* yang tidak diinginkan pada suatu produk (Setyawardani, 2017). Manfaat dari mengonsumsi makanan yang didalamnya terdapat peranan BAL, dapat meningkatkan kesehatan saluran pencernaan, sistem imun, menurunkan gejala *lactose intolerance*, menurunkan prevalensi alergi pada individu yang rentan alergi dan dapat menurunkan resiko kanker kolon (Widodo, 2019). Berbagai jenis mikroba yang dapat dimanfaatkan manusia sebagai probiotik diantaranya bakteri asam laktat, *Bifidobacterium sp.*, *Saccharomyces boulardi*, *E. coli* non- enteropatogenik, *Pediococcus acidilactici* dan *Bacillus subtilis*. Sedangkan bakteri yang lebih banyak digunakan sebagai probiotik dari jenis bakteri asam laktat dan *Bifidobacterium* karena keduanya merupakan golongan organisme GRAS (*Generally recognized as safe*) (Hidayat, 2018)

Bakteri asam laktat (BAL) memiliki peranan dalam menghambat mikroba patogen secara alami dan juga dapat dijadikan agen probiotik untuk kesehatan hewan dan manusia dalam menurunkan kadar serum kolesterol,

mengurangi timbulnya penyakit diare, penghambat berkembang biaknya penyakit tumor dan kanker pada sistem pencernaan sehingga diperlukannya pemeliharaan dalam keseimbangan mikroba pada sistem pencernaan, kasus intoleransi laktosa, sebagai sistem imun, mengendalikan infeksi patogen, sebagai pengganti antibiotik (Manalu *et al.*, 2020).

Bakteri asam laktat (BAL) memiliki peranan sebagai senyawa antimikroba yang sering disebut bakteriosin, yang peranannya dapat memperpanjang masa simpan makanan dan dapat menghambat mikroorganisme yang tidak diinginkan dan aman dikonsumsi serta tidak beracun (Aritonang, 2017). Bakteri asam laktat apabila ditambahkan ke dalam makanan akan memberikan nilai rasa, aroma sehingga diperoleh bentuk makanan yang baik, adanya bakteri asam laktat juga meningkatkan nilai gizi dan senyawa fungsional pada suatu produk itu sendiri (Yudianti, 2020).

2.3. Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Secara umum potensi bakteri asam laktat sebagai berikut (Rahayu & Tyas, 2019) :

- a. Sebagai starter (*inoculum*) dalam fermentasi makanan, seperti keju, kecap, buah, asinan sayuran, yogurt.
- b. Agen probiotik yang banyak dimanfaatkan dalam kesehatan
- c. Agen dalam pengawetan makanan (biopreservasi), seperti komponen bakteriosin atau biokontrol (biomassa).

Yoghurt merupakan produk hasil fermentasi susu dengan memanfaatkan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Proses fermentasi pada yoghurt memiliki peran penting dalam pembentukan asam laktat. *Lactobacillus* berfungsi dalam pembentukan aroma, sedangkan *Streptococcus thermophilus* berfungsi dalam memberikan cita rasa pada olahan yoghurt (Arini, 2017).

Bakteri asam laktat berpotensi sebagai agen probiotik dalam meningkatkan penyerapan laktosa dalam tubuh, aktifitas antimutagenik yang mencegah terjadinya kanker pada saluran pencernaan dan mencegah terjadinya

diare (Tambunan, 2016). Bakteriosin adalah senyawa peptida yang bersifat menghambat pertumbuhan, membunuh bakteri patogen, antibakteri yang diperoleh dari beberapa bahan makanan dan minuman fermentasi (Cotter & Hill, 2003).

Peranan penting bakteri asam laktat adalah kemampuan dalam memproduksi antimikroba, seperti bakteriosin. Bakteriosin diketahui potensial menjadi biopreservatif pada bahan makanan. Senyawa ini berfungsi memperpanjang umur simpan produk. Kemampuan bakteriosin sebagai biopreservatif dibuktikan dengan kemampuannya dalam menghambat mikroorganisme patogen. Bakteriosin dapat berupa protein yang memberikan efek bakterisidal khususnya terhadap bakteri Gram positif. Bakterisidal adalah senyawa yang mempunyai kemampuan untuk membunuh mikroorganisme lain. Target utama dari bakteriosin yang diproduksi bakteri asam laktat kemungkinan besar adalah membran sitoplasma. Bakteriosin akan mengubah permeabilitas membran sehingga mengganggu transpor membran atau menghilangkan tenaga gerak proton yang mengakibatkan terhambatnya produksi energi dan biosintesis protein (Rahmiati., 2017).

Beberapa metabolit aktif yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yaitu asam laktat, bakteriosin, etanol, dan hidrogenperoksida. Metabolit ini dapat dijadikan sebagai agen dalam membunuh bakteri. Salah satunya bakteriosin yang dijadikan sebagai antimikroba dan merupakan suatu senyawa peptida. Asam laktat yang diproduksi dapat menurunkan pH lingkungan. pH yang rendah dapat membunuh mikroba patogen dan menghambat kontaminasi mikroba pembusuk (Sasmita, 2018).

Beberapa bakteri asam laktat memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan manusia dan sebagai probiotik. Probiotik bakteri dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh manusia, mengurangi kolesterol, meredakan intoleransi laktosa dan alergi, dan meningkatkan mikrobiota usus, serta memiliki antikanker dan sifat anti diare (Meryandini *et al.*, 2020)

2.4. Probiotik

Probiotik merupakan suatu istilah yang berasal dari bahasa Yunani yaitu kata "probios" yang berarti "seumur hidup" sedangkan "antibiotik", memiliki arti "melawan kehidupan". Sejarah dikenalnya istilah probiotik ketika manusia mengkonsumsi beberapa makanan fermentasi yang terkenal di Yunani dan Romawi. Probiotik adalah mikroorganisme yang terjadi secara alami dapat dikonsumsi sebagai komponen makanan atau suplemen makanan yang baik untuk kesehatan. Berbagai macam produk makanan dan minuman probiotik, hasil fermentasi yaitu minuman susu, yoghurt, keju dan es krim, yang dilakukan melalui kultur probiotik yang baik, sehingga dapat memberikan kesehatan bagi tubuh (Hossain *et al.*, 2018). BAL penghasil antibakteri berpotensi untuk digunakan sebagai probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang apabila dikonsumsi dapat memberikan manfaat bagi kesehatan. Mikroorganisme probiotik mampu menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen. (Aritonang *et.al.*, 2017)

Pemberian profilaksis probiotik pada awal kehidupan (dengan pemberian ASI atau senyawa sintetis pengganti susu) sangat penting karena mikroflora usus berperan besar dalam perkembangan sistem kekebalan tubuh (Zukiewicz-Sobczak *et al.*, 2014) Spesies probiotik yang tersedia secara komersial berasal dari genus *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* dan *Bifidobacterium* (Moravillalobos, 2020). *Lactobacillus delbrueckii subsp*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis* dan *Leuconostoc mesenteroides* (Zukiewicz Sobczak *et al.*, 2014).

Syarat bakteri dapat dikategorikan sebagai probiotik yaitu, aman untuk dikonsumsi, mampu bertahan terhadap pH asam karena probiotik yang dikonsumsi harus dapat melewati lambung yang pH-nya mencapai 2, tahan dalam kondisi garam empedu, karena berperan dalam proses pencernaan makanan, tahan pada kondisi anaerob yang mencerminkan suatu kondisi saluran cerna manusia, mampu menghambat bakteri patogen, mudah dikultivikasi yaitu tidak

mebutuhkan substrat yang bermacam-macam untuk pertumbuhan, viabilitas yang tinggi selama pengolahan dan penyimpanan dan secara genetik bersifat stabil (Lestari & Siti, 2018).

Pengamatan terhadap ketahanan pH asam merupakan syarat probiotik, Sehingga BAL dapat dikatakan sebagai probiotik, harus mampu bertahan pada pH rendah, karena keasaman lambung berkisar antara pH 2,0-4,0 yang diakibatkan oleh produksi HCl (Bawole dkk., 2018). Kemampuan dalam mentoleransi empedu dengan konsentrasi 0,3%-0,5% merupakan karakteristik yang penting dimiliki oleh bakteri probiotik, karena merupakan prasyarat untuk dapat melewati saluran pencernaan dan sampai pada kolon (Emmawati dkk., 2015).

Bakteri asam laktat yang bersifat probiotik harus memiliki beberapa karakteristik, salah satunya adalah mampu bertahan terhadap garam empedu dan asam lambung, karena bakteri asam laktat untuk dapat bertahan dan tumbuh pada saluran pencernaan harus mampu melewati bagian atas saluran usus yang berisi garam empedu yang disekresikan kedalam usus (Sari dkk., 2018). Syarat penting probiotik yaitu tahan terhadap pH asam dan garam empedu (Feliatra, 2018).

Bakteri asam laktat yang diperoleh dan diduga sebagai kandidat Probiotik dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif pakan tambahan untuk ternak, untuk meningkatkan kesehatan dan daya imunitas ternak, serta menurunkan populasi bakteri patogen yang ada dalam saluran pencernaan ternak (Febrianti dkk., 2016) dapat dimanfaatkan sebagai minuman probiotik (Irmayanti *et al.*, 2020) bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik dapat berpotensi menurunkan kolesterol (Dewi dkk., 2012).

Manfaat probiotik bagi kesehatan dapat menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan, mencegah diare, dapat menurunkan kolesterol, tidak dapat menimbulkan iritasi pada usus, berpotensi sebagai antikanker, meningkatkan kekebalan tubuh, membantu menjaga berat tubuh serta produk susu fermentasi BAL dapat dijadikan sebagai alternatif untuk membantu bayi yang alergi dan intoleran terhadap susu (Priadi dkk., 2020).

Selama fermentasi, BAL menghasilkan asam laktat yang menurunkan pH dan membatasi pertumbuhan mikroorganisme patogen, melepaskan enzim

hidrolitik (lipase dan protease), serta mampu memecah makromolekul, seperti lipid dan protein, sehingga menghasilkan prekursor dari aroma tertentu. Hal ini membuktikan bahwa BAL memiliki potensi untuk dijadikan starter kultur dan juga beberapa manfaat lain untuk kesehatan (Antara, 2019).

Penelitian dari Wasis (2019), terkait bakteri asam laktat yang diisolasi dari asinan rebung bambu tabah dapat diperoleh 3 isolat dari 88 isolat bakteri yang telah di uji memiliki kemampuan untuk berkembang pada pH rendah dan garam empedu sehingga isolat tersebut dapat digunakan sebagai kandidat probiotik.

2.5.Tahu

Tahu adalah produk olahan berbahan dasar kedelai yang dikonsumsi sebagai lauk ataupun camilan. Produksi tahu di Indonesia menghasilkan produk akhir berupa limbah padat maupun limbah cair yang proses pembuatannya masih secara tradisional dimana dengan proses ini limbah cair tersebut dibuang secara sembarangan di perairan sungai karena masih belum adanya sistem yang mengatur terkait pembuangan *Whey* tahu (Bija, 2020)

Tahu berbahan dasar dari kedelai diproses melalui penggumpalan ekstrak protein kedelai. Nilai Gizi yang terkandung dalam tahu yaitu kadar air 88%, protein 6%, karbohidrat 1.9%, lemak 3.5% dan kadar abu 0.6% kriteria tahu yang layak konsumsi terlihat pada teksturnya yang halus, padat namun tidak keras dan empuk, tahu mengandung gel protein kedelai yang merupakan faktor penting dalam menentukan hasil dan kualitas tahu (Andarwulan dkk., 2018).

Tahu merupakan produk utama olahan kedelai di dunia, hasil olahan tahu menghasilkan produk sampingan berbentuk cair yang dikenal sebagai *whey* tahu atau dadih dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak, pupuk atau dibuang begitu saja. Limbah tahu memiliki kandungan air 80% cukup tinggi sehingga mudah rusak dan memiliki kandungan zat bergizi untuk bakteri cukup tinggi (Benedetti, 2015 dan Matemu *et al.*, 2009). Terdapat empat koagulan tahu yang sering digunakan, dapat dilihat di tabel 2.1.

Tabel 2.1 Koagulan tahu secara umum

Golongan	Jenis yang umum digunakan
Garam sulfat	CaSO ₄ dan MgSO ₄ .7H ₂ O
Garam klorida (<i>nigari</i>)	Nigari alami, MgCl ₂ .6H ₂ O, air laut, CaCl ₂ .2H ₂ O
Asam	Asam asetat, cuka (larutan asam asetat 4 %), Asam laktat, sari buah jeruk
Lakton	C ₆ H ₁₀ O ₆ (glukono- δ -lakton) GDL

Sumber : Syah,2018

2.6. *Whey* tahu

Whey berwarna bening yang dihasilkan dari proses pembuatan tahu, memiliki bau asam, pH <5 senyawa asam yang dominan dari *whey* tahu yaitu bakteri asam laktat (Kumalaningsih, 2014). pH asam pada *whey* tahu akan mengendapkan protein didalam sari kacang hijau. Manfaat dari *whey* tahu yaitu memanfaatkan limbah untuk kepentingan tertentu agar tidak dibuang secara sia-sia (Elygio, 2016). Seperti dijadikan sebagai nata de soya dan kecap, dalam air limbah tahu (*whey*) masih terdapat bahan organik seperti karbohidrat 2,23%, lemak 0,4%, protein 0,5% (Sutiyani, 2012 & Ismawati, 2015), vitamin dan mineral (Supriatna dan Hasrini, 2019). *Whey* tahu juga dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan bakteri (Yeni, 2016). Berikut tabel 2.2 terkait komposisi kimia *whey* tahu.

Tabel 2.2 Komposisi Kimia *Whey* Tahu

Komponen	Jumlah (%bb)	Jumlah (%bk)
Air	98,02	
Abu	0,11	5
Lemak kasar	0,11	5
Protein kasar	1,75	88,38
Serat kasar	0,003	0,1
Rasio C/N	0,3	
Karbohidrat	0,01	
Total gula	0,26	
pH	4,05	

Sumber : Yeni dkk., (2016)

Air dadih (*Whey*) merupakan limbah cair kental yang dihasilkan dari gumpalan tahu. Berdasarkan data Kementerian Pertanian, dimana kebutuhan kedelai untuk produksi tahu diseluruh Indonesia per tahun mencapai 450 ribu ton, sehingga diperoleh limbah cair tahu sebesar 19.575.000 ton per tahun atau 54.375 ton per hari (Arinto, 2013). Jumlah limbah cair tahu yang sangat tinggi akan berdampak pada pencemaran lingkungan, dan juga memiliki potensi sebagai sumber mikroba potensial. Mikroba indigenous dari *whey* tahu dapat dimanfaatkan sebagai alternatif biokonversi limbah menjadi hal yang bermanfaat (Asril, 2019) .

Allah berfirman yang termaktub pada Al- Quran Q.S: Yasin ayat 33.

وَأَيَّةٌ لَهُمُ الْأَرْضُ الْمَيِّتَةُ أَحْيَيْتُهَا وَأَخْرَجْنَا مِنْهَا حَبًّا فَمِنْهُ يَأْكُلُونَ ۝ ٣٣

Artinya: Dan suatu tanda (kekuasaan Allah yang besar) bagi mereka adalah bumi yang mati. Kami hidupkan bumi itu dan Kami keluarkan dari padanya biji-bijian, maka daripadanya mereka makan (Q.S: Yasin [36]: 33).

Abu ja'far berkata seraya menjelaskan, dan sebuah petunjuk untuk orang musyrik mengenai keutamaan Allah akan hal yang dikehendaki -Nya, dan menghidupkan makhluk -Nya yang telah mati serta mengembalikannya seperti sedia kala sesudah mati. Allah menghidupkan bumi yang mati tanpa adanya makhluk hidup tersebut dengan menurunkan dari langit suatu air hujan sampai tumbuh tumbuhan, adanya tumbuhan tersebut Allah mengeluarkan biji sehingga dijadikannya sebagai makanan pokok umat manusia dan dijadikan sebagai sumber makanan (At-Thabari, 2009).

Ayat tersebut menjelaskan *Dan*, di samping pelajaran yang dapat diambil dari pengalaman sejarah yang membuktikan keesaan dan kuasa Allah, *suatu tanda* besar lainnya *bagi mereka adalah bumi yang mati*, yakni kering kerontang, lalu *Kami menghidupkannya* dengan menurunkan air dari langit dan menumbuhkan tumbuhan sehingga dikeluarkannya biji-bijian maka dari biji-biji itu mereka makan. Penggunaan bentuk jamak pada kata (أَحْيَيْتُهَا) Kami menghidupkannya dan (أَخْرَجْنَا) Kami keluarkan mengisyaratkan adanya keterlibatan selain Allah dalam

hal menghidupkan bumi dan mengeluarkan tumbuh-tumbuhan keterlibatan manusia dalam hal ini adalah salah satu yang dimaksud (Shihab, 2002).

Allah ﷻ berfirman (وَأَيَّةٌ لَهُمْ) ”dan sesuatu tanda (kekuasaan Allah yang besar) bagi mereka.”yaitu, tanda bagi mereka tentang adanya maha pencipta, kekuasaan-Nya yang sempurna dan perbuatan-Nya menghidupkan yang mati. Dahulu bumi itu mati, gersang, tidak ada satupun tumbuhan. Lalu ketika Allah ﷻ menurunkan air dari langit, hiduplah bumi itu dan subur serta dapat menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang indah. Untuk itu Allah ta’ala berfirman (وَأَخْرَجْنَا مِنْهَا حَبًّا فَمِنْهُ يَأْكُلُونَ) “kami hidupkan bumi itu dan kami keluarkan dari padanya biji-bijian, maka daripadanya mereka makan. ‘yaitu, kami jadikan hal itu sebagai rizki bagi mereka dan binatang-binatang ternak mereka (Katsir, 2004).

Ayat diatas menjelaskan tanda kekuasaan Allah dijadikan bumi ini subur sehingga dapat tumbuh berbagai macam tumbuhan dan biji-bijian yang bisa dimanfaatkan seperti adanya biji kedelai yang diolah menjadi tahu yang merupakan makanan pokok, dalam prosesnya biji kedelai direndam, digiling, dimasak lalu diperas, di cetak sehingga menjadi produk akhir yaitu tahu. Dari proses tersebut menghasilkan dua limbah yaitu limbah padat yang disebut *okara*/ampas, limbah cair disebut juga *Whey* tahu. Limbah tersebut dimanfaatkan lagi untuk berbagai macam kepentingan dan olahan lainnya sehingga tidak ada satupun yang sia-sia.

Penelitian sebelumnya telah diisolasi terkait bakteri asam laktat *lactobacillus* pada *whey* tahu yang dilanjutkan sampai tingkan spesies yaitu berupa bakteri *lactobacillus amylolyticus* (Fei *et al.*, 2017). *Whey* asam yang merupakan hasil fermentasi dari *whey* tahu telah diisolasi dan identifikasi adanya bakteri asam *Lactobacillus acidophilus* yang merupakan genus *lactobacillus*. *Whey* tahu menghasilkan gula pereduksi berupa glukosa, fruktosa dan α -galaktosa (Qiao, *et al.*, 2010).

Limbah tahu mengalami sutau proses fermentasi secara spontan yang dilakukan oleh mikroba dengan melalui jalan menghidrolisis zat organik yang

terkandung dalam limbah tahu seperti protein, karbohidrat dan lemak. Proses fermentasi ini juga melibatkan beberapa jenis bakteri yaitu bakteri hidrolitik, bakteri asedogenik, bakteri asetogenik. Bakteri hidrolitik akan memecah molekul organik kompleks (protein, selulosa, lignin, lemak) menjadi molekul monomer yang terlarut seperti asam amino, glukosa, asam lemak, gliserol. Molekul monomer tersebut akan dimanfaatkan oleh bakteri asedogenik untuk pembentukan asam seperti clostridium yang akan merubah gula, asam amino, asam lemak, asam organik (asam asetat, propionat, asam laktat, butirir/suksinat) (Yudisthira, 2016)

2.7. Isolasi bakteri asam laktat (BAL)

MRS adalah media spesifik yang dipakai untuk menumbuhkan beberapa kelompok bakteri asam laktat (Widodo, 2019). BAL pada umumnya dapat tumbuh di media *de Mann Rogose and Sharpe* (MRS) (Safitri, 2016). Faktor-faktor yang harus diperhatikan dalam proses isolasi mikroorganisme, yaitu: sifat mikroorganisme, media pertumbuhan harus sesuai, cara menginokulasi mikroorganisme, cara pengujian mikroorganisme yang telah diisolasi disesuaikan dengan apa yang akan di ujikan dan cara memelihara mikroorganisme yang telah diisolasi agar menjadi kultur murni (Handayani dkk., 2016). Koloni yang membentuk zona bening diambil, zona bening tersebut dihasilkan dari produksi asam organik sehingga CaCO_3 terhidrolisis dari MRSA (Sun *et al.*, 2014 dan Pisol *et al.*, 2015).

Isolasi mikroba adalah upaya dalam menumbuhkan suatu mikroorganisme di luar lingkungan alaminya, untuk mendapatkan kultur bakteri murni. Hal yang penting dalam tahap ini yaitu satu jenis mikroba dipisahkan dengan mikroba lainnya yang berbeda. Mikroorganisme dengan mudah tersebar di lingkungan bebas seperti air, minuman, makanan, udara, tanah maupun tubuh manusia (Jufri, 2020). CaCO_3 berfungsi sebagai penyangga dan untuk menseleksi terkait bakteri yang mengandung asam laktat (Aritonang, 2017). Zona bening yang terbentuk pada isolat karena terbentuknya Ca-laktat, yang menandakan bahwa asam laktat yang dihasilkan oleh BAL pada media MRSA telah bereaksi dengan CaCO_3 . (Bawole dkk., 2018). Zona jernih ini merupakan hasil reaksi asam yang

diproduksi oleh koloni bakteri dengan CaCO_3 yang ada pada medium isolasi (Subagiyo dkk., 2017). Ditambahkan CaCO_3 untuk memproduksi asam laktat lebih banyak serta mengatur derajat keasaman (pH) medium (Pramudyanti dkk., 2004)

2.8.Karakterisasi bakteri asam laktat (BAL)

Identifikasi adalah suatu tahapan dari karakterisasi yang diawali dengan pengamatan bentuk morfologinya (Megasari, 2012). Identifikasi mikroba dilakukan untuk melihat karakter mikroba baik secara morfologi, biokimia dan molekuler dari bakteri yang dituju (Putri & Endang, 2018). Identifikasi bakteri baik secara makroskopis dan mikroskopis untuk menentukan ciri-ciri dan karakter morfologis. Hasil ciri-ciri awal akan dicocokkan terlebih dahulu menggunakan buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative of Bacteriology*. Pengamatan secara morfologi diamati terkait bentuk, tepi, warna, elevasi, permukaan koloni yang dapat dilihat secara makroskopis. Sedangkan secara mikroskopis pengamatan dengan cara pewarnaan Gram, untuk melihat warna dan bentuk sel untuk dapat digolongkan (Dewi, 2019).

Karakterisasi terkait bakteri telah dilakukan sejak tahun 1980 dengan cara identifikasi dengan metode fenotip pengamatan bentuk, ukuran dan susunan organisme reaksi pewarnaan Gram, motilitas dan penampilan koloni bakteri (Patantis & Yusro, 2009). Pengecatan Gram adalah proses terpenting agar dapat menentukan terkait isolat tersebut apakah merupakan jenis bakteri asam laktat atau bukan. Bakteri Gram negatif ketika ditetesi pewarnaan Gram akan berwarna merah sehingga tidak termasuk dalam syarat BAL. Jika membentuk warna ungu pada selnya dalam pewarnaan Gram maka dapat digolongkan sebagai bakteri Gram positif. Dilakukan pengujian katalase untuk membuktikan adanya enzim katalase pada suatu isolat terpilih (Amaliah dkk., 2018).

- a. Pewarnaan Gram dilakukan agar bisa mengetahui bakteri tersebut bakteri Gram positif atau bakteri Gram negatif. Prinsip pengecatan Gram apabila isolat bakteri ditetesi kristal violet, jika bakteri tersebut Gram positif maka dengan mudah menyerap zat warna tersebut hingga menghasilkan warna ungu. Apabila

bakteri tersebut termasuk Gram negatif ketika dicuci dengan alkohol akan mudah melepas zat warna kristal violet yang ditetesi sehingga akan menyerap warna terakhir yaitu safranin (Putri & Endang, 2018).

- b. Katalase merupakan pemecahan dari $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (Aritonang.,2017). Uji katalase dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen (Fevria & Indra 2019) bakteri asam laktat termasuk bakteri katalase negatif karena dapat memecah hydrogen peroksida, BAL dapat tumbuh dengan baik dilingkungan yang memiliki ataupun tidak memiliki O_2 (tidak sensitif terhadap O_2), sehingga termasuk aerob toleran. BAL juga menghasilkan hydrogen peroksida (H_2O_2) karena adanya oksigen sehingga terjadi reaksi flavoprotein oksidasi atau nicotinamida adenine hidroxy dinucleotide (NADH) peroksida. H_2O_2 berasal dari oxidation sulfhydryl yang disebabkan karena denaturasi dari sejumlah enzim yang berasal dari peroksidase membran lipid sehingga meningkatkan permeabilitas membran. H_2O_2 berfungsi sebagai peroksidator untuk memproduksi bakteri radikal bebas antara O_2 dan OH yang merusak DNA (Juodeikiene, 2015)
- c. Endospora pada sampel ketika ditetesi pewarna *malachite green* menghasilkan warna hijau, pada sel vegetatifnya berwarna merah (Amaliah dkk., 2018). Non endospora merupakan salah satu karakteristik umum yang lain dari BAL. Bakteri asam laktat tidak membentuk endospora sehingga ketika pengamatan hasil pewarnaan endospora, maka sel vegetatif hanya tampak berwarna merah muda tanpa warna hijau yang mengindikasikan terbentuknya endospora (Laily dkk., 2013). Fungsi spora pada bakteri tidak untuk sebagai alat reproduksi. Spora bakteri merupakan bentuk bakteri yang sedang dalam usaha mengamankan diri terhadap pengaruh buruk dari luar. Endospora mengandung sedikit sitoplasma materi genetik dan ribosom. Dinding endospora yang tebal tersusun atas protein dan menyebabkan endospora tahan terhadap kekeringan, radiasi cahaya, suhu tinggi dan zat kimia (Putri 2021).
- d. Fermentasi asam laktat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu bakteri asam laktat homofermentatif dan heterofermentatif. Proses fermentasi bersifat

homofermentatif karena hanya menghasilkan satu jenis komponen saja, misalnya asam laktat, sedangkan fermentasi bersifat heterofermentatif menghasilkan campuran berbagai senyawa atau komponen lainnya, misalnya asetat, etanol, karbodioksida, dan asam laktat (Yanti & Faiza., 2013) (Purwohadisantoso dkk., 2009) Pada uji fermentasi, BAL yang bersifat heterofermentatif akan terbentuk gelembung gas pada tabung Durham.

2.9. Media selektif MRSA dan MRSB

Media MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) dan MRSB (*De Mann Rogosa Sharpe Broth*) memiliki fungsi berbeda. MRSA berfungsi menumbuhkan dan mengisolasi isolat BAL yang tumbuh berkoloni adapun fungsi media MRSB menghasilkan serta memudahkan BAL untuk melepaskan senyawa bakteriosin, yang merupakan media cair (Ningsih dkk., 2018). Bakteri yang tumbuh di media MRSA merupakan jenis bakteri asam laktat, karena media tersebut telah di rancang untuk dapat mendukung dalam pertumbuhan BAL terutama *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* dan *Streptococcus* (Sari., 2016)

Media MRS memiliki kandungan bahan polysorbat, mangan, magnesium dan asetat diduga dapat mempengaruhi dalam faktor pertumbuhan bagi *Lactobacillus* dan kemungkinan juga akan tumbuh jenis bakteri lain yaitu *Pediococcus* dan *Leuconostoc*. Adapun komposisi dalam media MRSA yaitu Pepton protein 10.000, HM Peptone B 10.000, Ekstrak ragi 5.000, Dekstrosa (Glukosa) 20.000, Tween 80 (Polysorbate 80) 1.000, Amonium sitrat 2.000, Natrium asetat 5.000, Magnesium sulfat 0,100, Mangan sulfat 0,050, Dipotassium hidrogen fosfat 2.000, Agar 12.000, pH akhir (pada 25 ° C) $6,5 \pm 0,2$. Media MRSB mirip dengan MRSA namun berbeda bentuk MRSB berbentuk cair/*broth* (Himedia, 2020).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif kualitatif, dengan pengamatan secara makroskopis, mikroskopis, uji biokimia pada isolat bakteri asam laktat yang telah terpilih dan berhasil di isolasi dari *Whey* tahu dan pengujian terhadap isolat yang berpotensi probiotik.

3.2. Waktu dan tempat

Tempat pengambilan sampel di pabrik tahu sukun Malang, yang dilaksanakan pada bulan September – November 2021 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3. Alat dan bahan penelitian

3.3.1. Alat

Adapun alat yang digunakan penelitian ini adalah, pembakar Bunsen, *beaker glass*, jarum ose, Erlenmeyer, timbangan analitik, cawan petri, *hot plate*, gelas ukur, *autoklaf*, *incubator*, *obyek glas* dan *cover glass*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikroskop, *Laminar Air Flow* (LAF), lemari pendingin, mikropipet, blue tip, yellow tip, sentrifugasi, *magnetic stirrer*, pH meter, Tabung eppendorf, Spektrofotometri, kamera untuk dokumentasi, alat tulis.

3.3.2. Bahan

Bahan yang dibutuhkan sebagai berikut *Whey* tahu yang diperoleh dari pabrik tahu, Media MRSA (*De Mann Rogosa Sharpe Agar*) dan MRSB (*De Mann Rogosa Sharpe Broth*), oxgall 0,3% (b/v), NaCl 0,85%, CaCO₃ 0,2 gr, pewarna Gram kristal violet, pewarna endospore *malachite green*, iodine, aquades, hidrogen peroksida H₂O₂ 3%, alkohol 70 %, alkohol 96%, HCL pekat, safranin, aluminium foil, plastik *wrap*, kapas, plastik, karet, tissue, kasa, kertas label, minyak imersi.

3.4. Prosedur kerja

3.4.1. Sterilisasi alat

Semua alat gelas dicuci bersih menggunakan sabun lalu dikeringkan. Cawan petri dibungkus menggunakan kertas putih dan alat yang lain dapat dibungkus menggunakan aluminium foil. Semua alat yang akan disterilisasikan dimasukkan kedalam kantong plastik yang berbeda-beda kemudian diikat menggunakan karet gelang. Sterilisasi ini menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm, suhu 121 °C selama 15 menit. Beberapa alat dapat disterilkan dengan alkohol 70% bagi yang tidak tahan dengan panas tinggi (Istini, 2020).

3.4.2. Pengambilan sampel

Sampel *Whey* Tahu didapatkan dari pabrik tahu dan di bawa ke laboratorium secara aseptis untuk dilakukan isolasi dan karakterisasi lebih lanjut terkait bakteri asam laktat dan uji potensi probiotik.

3.4.3. Pembuatan media

A. Media MRSA

Media MRS agar dibuat sebanyak 100 ml, dengan menambahkan 100ml aquades dan MRS agar sebanyak 6,82 gr lalu dipanaskan hingga mendidih dan sesekali diaduk agar larut. Lalu media dituangkan ke dalam Erlenmeyer yang sudah disterilkan, ditutup dengan kapas. Setelah itu dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C 1 atm (Mansur dkk., 2019)

B. Media MRSB

Media MRS broth dibuat sebanyak 100 ml, dengan menambahkan 100 ml aquades ditambah dengan MRS broth sebanyak 5,51. Dipanaskan hingga mendidih sesekali diaduk agar larut. Lalu dituangkan media yang sudah jadi ke dalam Erlenmeyer steril lalu ditutup menggunakan kapas. Setelah itu dilakukan sterilisasi di autoklaf selama 15 menit suhu 121°C (Mansur dkk., 2019)

3.4.4. Isolasi bakteri asam laktat

Diambil 1ml sampel ditambahkan 9 ml NaCl dan dihomogenkan. Kemudian, dilakukan pengenceran bertingkat sampai pengenceran 10^{-1} - 10^{-6} . Diambil 1 ml dari tiga seri pengenceran terakhir dan dimasukkan pada ± 15 ml MRS Agar yang telah ditambahkan dengan 0,2 gr CaCO_3 menggunakan metode pour plate. Diinkubasi selama 2x24 jam pada inkubator suhu 37°C . bakteri yang membentuk zona bening dimurnikan dengan metode goresan kuadran yang diinokulasi ke dalam MRS Agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam disimpan pada suhu -20°C (Qonita dkk., 2018).

3.4.5. Karakterisasi bakteri asam laktat

Bakteri asam laktat (BAL) dari *whey* tahu dilakukan karakterisasi secara makroskopis meliputi morfologi (warna dan bentuk diamati ketika berada di dalam media MRS), sedangkan pengamatan secara mikroskopis meliputi cat Gram dan pewarnaan endospora dan uji biokimia yaitu uji katalase, uji produksi gas. Data hasil pengujian karakteristik ini dapat dilakukan penelusuran yang mengacu pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

A. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk melihat bakteri yang diperoleh termasuk bakteri Gram positif ataukah Gram negatif dengan cara meneteskan dua tetes aquades pada gelas obyek dan diambil sampel bakteri lalu diratakan secara aseptis menggunakan jarum ose yang diletakkan di atas aquades, lalu dikeringkan dengan melewati gelas obyek di atas api Bunsen ditunggu sampai kering. Masuk ke tahap pewarnaan, gelas obyek yang telah kering di tetesi dengan pewarna kristal violet 2-3 tetes diamkan selama 1 menit, dibilas dengan aquades. Preparat ditetesi dengan iodine 1-2 tetes diamkan selama 1 menit, bilas dengan aquades. Lalu teteskan alkohol 96% selama 30 detik, dicuci menggunakan aquades, tahap akhir di teteskan pewarna safranin pada gelas obyek 2-3 tetes, diamkan selama 1 menit, cuci menggunakan aquades. Preparat dikeringkan untuk dapat diamati dibawah mikroskop, dengan diteteskkan minyak emersi. Berwarna

ungu apabila termasuk Gram positif sebaliknya jika berwarna merah termasuk Gram negatif (Amaliah dkk., 2018).

B. Pewarnaan Endospora

Gelas obyek ditetaskan aquades sebanyak 2 tetes, diambil bakteri dengan jarum ose secara aseptis, diletakkan diatas aquades disebar secara merata. fiksasi diatas api bunsen, Preparat yang sudah jadi diletakkan diatas air mendidih ditutup menggunakan kertas saring/tissu. Ditetaskan Malakit hijau hingga basah lalu diamkan selama 5 menit. lalu dibilas dengan air mengalir dan lepaskan kertas saring yang digunakan sebagai penutup. Ditetaskan kembali dengan pewarnaan safranin ditunggu selama 60 detik. Preparat dibilas, ditunggu kering lalu diamati dibawah mikroskop dengan meneteskan minyak emersi. Berwarna hijau apabila positif endospora dan berwarna merah ketika negatif endospora (Amaliah dkk., 2018)

C. Uji katalase

Pengujian ini dilakukan menggunakan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%. Diambil Isolat bakteri diletakkan pada kaca objek. Ditetaskan H_2O_2 3% 2-3 tetes, diamati apabila terlihat gelembung maka dikatakan bakteri positif katalase, apabila tidak ada gelembung bakteri negatif katalase (Amaliah dkk., 2018).

D. Uji produksi gas

Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham dan MRSB. Inkubasi selama 2 hari pada suhu $37^\circ C$. Pengamatan dilakukan dengan melihat terbentuknya gelembung udara pada tabung durham (Ramadhan dkk. 2012).

3.4.6. Uji potensi probiotik

Bakteri asam laktat yang telah dikarakterisasi dilakukan uji lanjutan terhadap ketahanan pH asam dan ketahanan terhadap garam empedu.

1. Uji ketahanan terhadap pH asam

Diambil isolat yang telah tumbuh di media MRSB lalu diambil 100 µl dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang telah berisi 5 ml media MRS broth dengan pH 2, 3, 4 dan 6,2 sebagai kontrol. Setelah itu diinkubasi selama 3 jam pada suhu 37°C. di ukur dengan menggunakan spektrofotometer pada jam ke 0 dan jam ke 3 setelah inkubasi. Nilai pertumbuhan BAL dinyatakan dengan nilai kekeruhan OD dengan panjang gelombang 660nm. Nilai pertumbuhan populasi mencapai diatas 45% dinyatakan tahan terhadap pH rendah. Ketahanan BAL yang tahan terhadap asam dihitung menggunakan rumus (Wasis dkk., 2019):

$$\text{presentase viabilitas BAL \%} = \frac{\text{nilai OD akhir inkubasi} - \text{nilai OD awal inkubasi}}{\text{nilai OD kontrol akhir inkubasi} - \text{nilai OD kontrol awal inkubasi}} \times 100\%$$

2. Uji Ketahanan Terhadap Garam Empedu

Diambil sebanyak 100 µl suspensi diinokulasikan ke dalam tabung eppendorf yang berisi 5 ml MRSB yang ditambahkan oxgall 0,3% dan tabung eppendorf tanpa ditambahkan oxgall sebagai kontrol. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Perhitungan pertumbuhan BAL dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 660nm yang diukur pada jam setelah inkubasi (Wasis dkk., 2019).

3.5. Teknik Analisis Data

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan metode deskriptif. Data hasil penelitian disusun dalam tabel-tabel, diklasifikasikan sehingga menjadi suatu susunan urutan data, untuk kemudian dijelaskan sesuai dengan hasil pengamatan yang ada.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Karakterisasi Genus BAL Dari Whey Tahu

Isolasi yang dilakukan berhasil didapatkan 10 isolat dengan indikasi mampu tubuh pada media MRSA. Selanjutnya dikarakterisasi secara morfologi meliputi pengamatan makroskopis yaitu bentuk koloni, warna, tepian, elevasi. Menurut Suryani (2020) Setelah dilakukan pemurnian dilakukan identifikasi dengan melihat terkait bentuk koloni apakah cembung, datar atau cekung, warna koloni juga diperhatikan apakah putih, bening, kekuningan, merah dan sebagainya. Diamati juga tepi dan elevasi serta bentuk selnya apakah berbentuk batang (basil) atau berbentuk bulat (coccus).

4.1.1. Pengamatan Makroskopis

Tabel 4.1. Karakter morfologi koloni bakteri dari whey tahu

No	Kode Isolat	Tepian	Elevasi	Bentuk	Warna	Ukuran
1	WT 1	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,10mm
2	WT 2	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,02mm
3	WT 3	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,20mm
4	WT 4	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,22mm
5	WT 5	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,31mm
6	WT 6	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,60mm
7	WT 7	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,00mm
8	WT 8	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,40mm
9	WT 9	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,59mm
10	WT 10	Licin	Cembung	Bulat	Putih susu	2,05mm

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi secara makroskopis dapat dilihat pada tabel 4.1 dimana semua koloni memiliki bentuk, warna, tepian, elevasi yang sama yaitu tepian licin, elevasi cembung, bentuk bulat, warna putih susu, sehingga diduga semua isolat memiliki ciri-ciri morfologi sebagaimana ciri-ciri pada bakteri asam laktat. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Kurnia dkk., 2020) Koloni yang diduga bakteri asam laktat memiliki warna putih hingga putih kekuningan, bentuk bulat dan tepian berwarna bening.

Sepuluh isolat tersebut selanjutnya dilakukan karakterisasi secara mikroskopis meliputi uji pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, uji katalase dan uji produksi gas. Menurut Sousa dkk, (2013) Pengamatan terkait karakteristik dilakukan untuk mengidentifikasi spesies bakteri karena memiliki pola pertumbuhan yang berbeda dan spesifik. Perbedaan morfologi koloni digunakan sebagai indikator proses identifikasi karena morfologi koloni dianggap sebagai bentuk ekspresi adaptasi bakteri terhadap lingkungannya. Perbedaan morfologi tiap koloni menjadikannya sebagai ciri khas untuk dapat membedakan mikroorganisme pada tingkat takson, diantaranya perbedaan strain dari suatu spesies.

Struktur sel bakteri asam laktat termaktub dalam firman Allah ﷻ Al-Quran Q.S: Ali Imran [3]: 190-191 yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ (١٩٠) .
الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ (١٩١)

Artinya : Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka (Q.S. Ali- Imran[3]: 190-191)

Berdasarkan tafsir Syaikh Imam Al-Qurthubi (2008) pada ayat 190 Allah SWT memerintahkan manusia untuk mengambil kesimpulan, merenung dan melihat, tanda-tanda kekuasaan Allah. Karena tanda-tanda tersebut tidak mungkin ada kecuali diciptakan oleh Yang Maha Hidup, Yang Maha Suci, Maha Menyelamatkan, Maha Kaya dan tidak membutuhkan apapun yang ada di alam semesta. Dengan meyakini hal tersebut maka keimanan mereka bersandarkan atas keyakinan yang benar dan bukan hanya sekedar ikut-ikutan. Pada lafadz “ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ” “ Terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal”. Inilah salah satu fungsi akal yang diberikan kepada seluruh manusia, yaitu agar mereka dapat

menggunakan akal tersebut untuk merenungi tanda-tanda yang telah diberikan oleh Allah SWT.

Ayat 191 Allah menyebutkan terdapat tiga keadaan yang sering dilakukan oleh manusia pada tiap-tiap waktunya. Dikatakan Rasulullah selalu berdzikir kepada Allah dalam setiap keadaannya. Dzikir dalam arti umum dapat dilakukan dalam berbagai keadaan, walaupun ketika berada di kamar mandi atau tempat-tempat kurang baik, karena pahalanya akan tetap ditulis oleh malaikat tanpa melihat lokasi tempat berdzikir. Pendapat ini dihukumi oleh para ulama dengan makruh beralasan, karena berdzikir kepada Allah pada tempat-tempat seperti itu mengurangi kesantunan terhadap Allah, misalnya dengan membaca Al-Qur'an di kamar mandi, bukankah akhlak kita mencegah perbuatan seperti itu. Para ulama berpendapat dzikir dalam konteks ini diartikan dengan shalat bahwa kewajiban shalat dilakukan dengan berdiri, namun apabila tidak sanggup dengan duduk, dan berbaring jika tidak kuasa untuk duduk.

Berdasarkan tafsir Al-Misbah pada Ayat 190 ini mengajak manusia untuk berpikir, karena sesungguhnya dalam penciptaan, yakni benda-benda angkasa seperti matahari, bulan, dan jutaan gugusan bintang yang terdapat di langit atau dalam pengaturan sistem kerja langit yang sangat teliti serta kejadian dan perputaran bumi pada porosnya, yang melahirkan silih bergantinya malam dan siang perbedaannya, baik dalam masa maupun dalam panjang dan pendeknya terdapat tanda-tanda kemahakuasaan Allah bagi ulul-albab, yakni orang-orang yang memiliki akal yang murni.

Ayat 191 tersebut menjelaskan sebagian dari ciri-ciri siapa yang dinamai Ulul-albab. Mereka adalah orang, baik laki-laki atau perempuan yang terus menerus mengingat Allah, dengan ucapan atau hati dalam seluruh situasi dan kondisi apapun. Obyek dzikir adalah Allah, sedangkan obyek akal pikiran adalah seluruh makhluk ciptaan-Nya. Akal diberi kebebasan seluas-luasnya untuk memikirkan fenomena alam, dan terdapat keterbatasan dalam memikirkan dzat Allah.

Al-Quran surah Ali-Imran ayat 190-191 tersebut menjelaskan bahwa adanya muka bumi ini dengan segala ciptaannya terdapat suatu tanda-tanda dari

Allah untuk manusia yang berfikir dengan menggunakan akalanya bahwa semua ciptaan Allah tidaklah ada satupun yang sia-sia. Seperti adanya pabrik tahu yang selalu memproduksi tahu setiap harinya, menghasilkan limbah cair yang masih belum diketahui manfaatnya, sebagai manusia yang diberi akal oleh Allah untuk berfikir, agar limbah tahu tersebut dapat bermanfaat, contohnya adalah di uji adanya bakteri asam laktat dari limbah tahu tersebut dengan itu bakteri asam laktat dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan penelitian selanjutnya dan tidak ada satupun ciptaan Allah yang sia-sia.

4.1.2. Pengamatan Mikroskopis

Metode taksonomi untuk identifikasi bakteri asam laktat yang dilakukan berdasarkan sifat morfologi yaitu bentuk sel, pewarnaan Gram, uji katalase secara umum hanya mampu mengelompokkan sampai tingkat genus dan tidak dapat mengidentifikasi sampai tingkat spesies (Surono, 2004).

A. Pewarnaan Gram

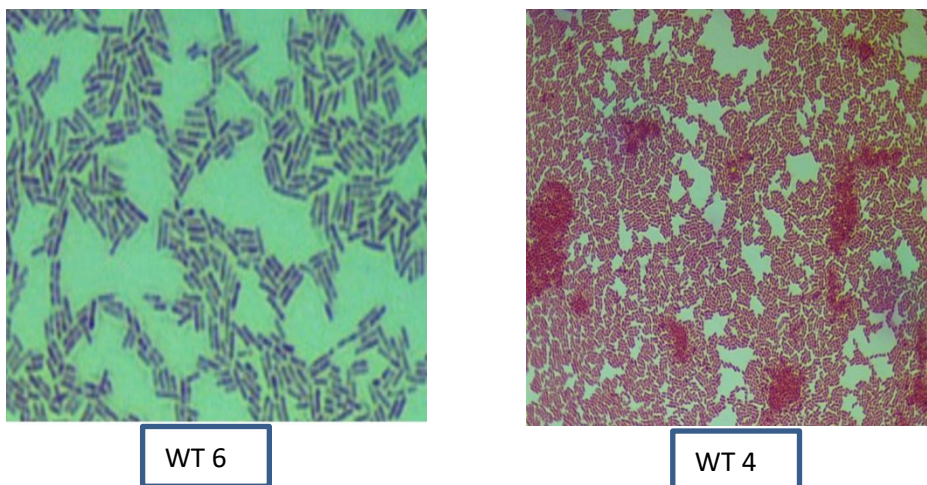
Pewarnaan Gram digunakan untuk menentukan apakah bakteri yang didapat termasuk bakteri Gram positif ataukah bakteri Gram negatif. Sepuluh isolat yang didapat terdapat 4 isolat yang termasuk Gram negatif dan 6 lainnya termasuk Gram positif yang merupakan ciri dari bakteri asam laktat. Pada gambar 4.1 terlihat bentuk koloni batang. Menurut Mustaqim dkk. (2014) Bakteri akan mengalami dehidrasi ketika diberikan alkohol 96% sehingga mengakibatkan pori-porinya akan mengkerut dan warna utama (Kristal violet) tidak bisa keluar, dikarenakan bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan membran sel selapis.

Bakteri Gram positif memiliki warna ungu disebabkan karena memiliki dinding peptidoglikan lebih tebal dari bakteri Gram negatif. Dinding peptidoglikan tersusun dari ikatan silang polisakarida oleh peptid. Ikatan ini yang dapat mempertahankan warna dari kristal violet. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari makromolekul kompleks yaitu yang terdiri dari peptidoglikan mengelilingi membran sitoplasma, yang terdiri dari glikopolimer lain yaitu asam

teikoat atau polisakarida dan protein. Lapisan peptidoglikan yang tebal berfungsi sebagai resistensi bakteri terhadap lisozim yang dapat menyebabkan dinding sel bakteri lisis (Chartier *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil pengamatan melalui mikroskop terlihat bentuk koloni yakni batang (basil) berwarna ungu yang diduga sebagai kandidiat dari genus *Lactobacillus*. Menurut Kurnia dkk. (2020) Kandungan lipid yang lebih rendah, mengakibatkan dinding sel bakteri akan lebih mudah terdehidrasi. Pemberian alkohol menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi lebih kecil dan daya permeliabilitasnya berkurang sehingga zat warna utama tidak dapat keluar dari sel. BAL dari genus *Lactobacillus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang, dengan ciri warna koloni putih susu atau krem, koloni bundar, berukuran 0,5-1,2 x 0,5-1,5 μm (Putri dkk., 2018).

Waluyo (2008) menyatakan bakteri Gram positif memiliki dinding sel berupa peptidoglikan yang tebal. Saat peluruhan dengan alkohol, pori-pori dinding sel menyempit karena terjadi dekolorisasi sehingga dinding sel tetap menahan kristal violet. Bakteri Gram negatif memiliki 3 lapisan dinding sel, sehingga lipid akan tercuci oleh alkohol dan pewarnaan kristal violet akan ikut tercuci. Bakteri Gram negatif saat diwarnai dengan safranin akan bewarna merah. Menurut Qonita dkk. (2018) Genus BAL yang berbentuk batang adalah golongan *Lactobacillus*.



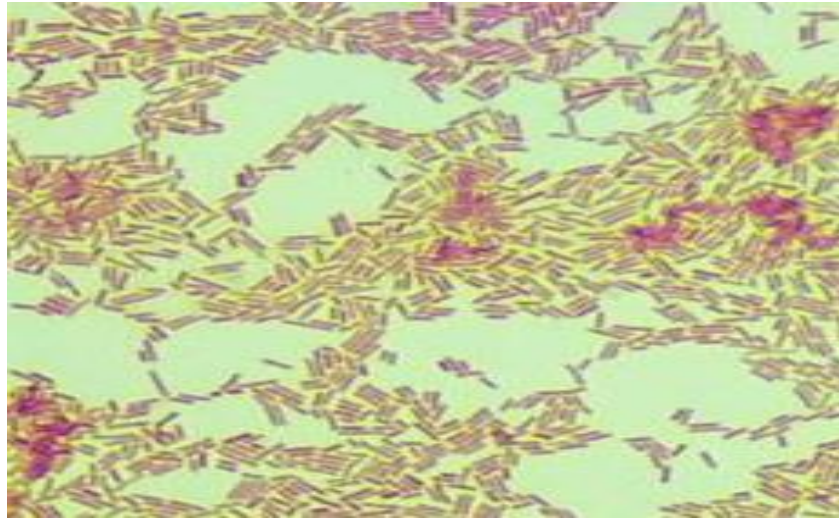
Gambar 4.1. Pewarnaan Gram, Keterangan : Bakteri Bentuk Batang, WT6 Gram Positif, WT 4 Gram negatif

B. Pewarnaan Endospora

Berdasarkan pewarnaan endospora yang sudah dilakukan dapat diketahui bahwa ciri-ciri tersebut termasuk ciri-ciri dari bakteri asam laktat, yaitu dengan ditandai endospora negatif yang terlihat dengan tidak terbentuknya spora pada bakteri yang di uji dengan *malachite green* sehingga tidak berwarna hijau melainkan warna merah yang terbentuk. Sehingga termasuk bakteri asam laktat Holzappel & Wood., (2014). Menurut Wulandari & Desi (2019) Spora adalah bentuk dari bakteri untuk mempertahankan diri dari kondisi yang kurang mendukung untuk kehidupan dari bakteri tersebut.

Bakteri asam laktat memiliki ciri-ciri katalase negatif, Gram positif, tidak menghasilkan spora. Pratita & Surya (2012). Warna spora hijau dikarenakan sel spora mengikat kuat senyawa pewarna yaitu *malachite green* dan ketika diberikan pewarna safranin, sel spora tidak dapat berikatan dengan pewarna lain. Bakteri yang tidak memiliki spora cenderung tidak tahan terhadap pengecatan karena hanya memiliki sel vegetatif. Saat diwarnai dengan malachite, sel vegetatif akan mampu berikatan dengan pewarna tersebut tetapi dapat dilunturkan setelah dilakukan pencucian karena tidak berikatan kuat dengan pewarna *malachite green*.

Bakteri asam laktat tidak memiliki spora sehingga pada saat pewarnaan endospora yang terlihat hanya sel vegetatif ditandai dengan warna merah pada sel. Menurut Khalid (2011) Bakteri asam laktat tidak menghasilkan endospore karena spora dapat berbahaya bagi tubuh manusia. Menurut Wohlgemuth & Kampfer (2014) Bakteri yang memiliki spora dapat bersifat patogen bagi tubuh manusia, spora yang dihasilkan bersifat resistensi terhadap cekaman-cekaman yang diberikan oleh tubuh, spora bakteri yang mengkontaminasi makanan juga dapat menyebabkan keracunan makanan bagi manusia



WT 2

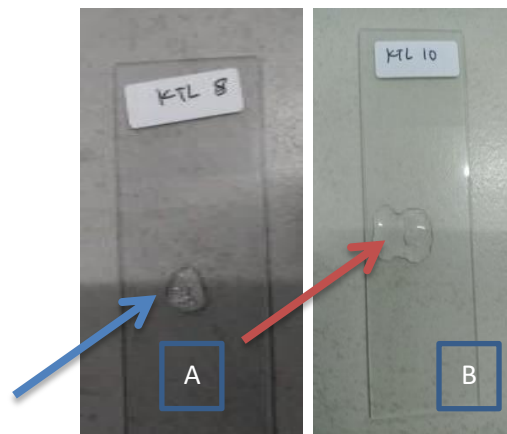
Gambar 4.2. Pewarnaan Endospora, Keterangan : Warna Merah

C. Uji Katalase

Pengujian selanjutnya yaitu uji biokimia yaitu uji katalase dengan menggunakan hidrogen peroksida (H_2O_2), dengan diamati terbentuknya gelembung. Apabila muncul gelembung ketika di tetesi dengan hidrogen peroksida (H_2O_2) maka dikatakan bakteri positif katalase sebaliknya apabila tidak terlihat munculnya gelembung maka dikatakan negatif katalase. Untuk ciri bakteri asam laktat yang seharusnya diperoleh dari uji katalase yaitu katalase negatif. Untuk kode isolat WT 8 katalase positif sehingga tidak dilanjutkan ke tahap uji selanjutnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Delvia dkk. (2015) uji biokimia pada uji katalase di tandai dengan aktivitas bakteri dalam menghasilkan enzim katalase sehingga muncul gelembung pada reaksi positif. Bakteri asam laktat tidak memproduksi enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen dan berkaitan dengan kemampuan bakteri asam laktat yang hanya membutuhkan sedikit oksigen untuk dapat hidup.

Reaksi positif uji katalase ditunjukkan dengan membentuk gelembung-gelembung yang berarti ada pembentukan gas oksigen (O_2) sebagai hasil pemecah H_2O_2 oleh enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri tersebut. Hasil uji katalase

positif disebabkan karena adanya pemecahan H_2O_2 menjadi O_2 sedangkan hasil uji katalase negatif disebabkan karena tidak adanya pemecahan H_2O_2 menjadi O_2 . Menurut Hamidah dkk., (2019) Katalase merupakan enzim yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Uji katalase bertujuan untuk memastikan apakah isolat BAL yang dihasilkan katalase atau tidak. BAL pada umumnya tidak dapat memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sehingga termasuk sebagai bakteri dengan katalase negatif. Menurut Suhaeni dan Akhmad (2016) bakteri asam laktat merupakan bakteri katalase negatif karena tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida.



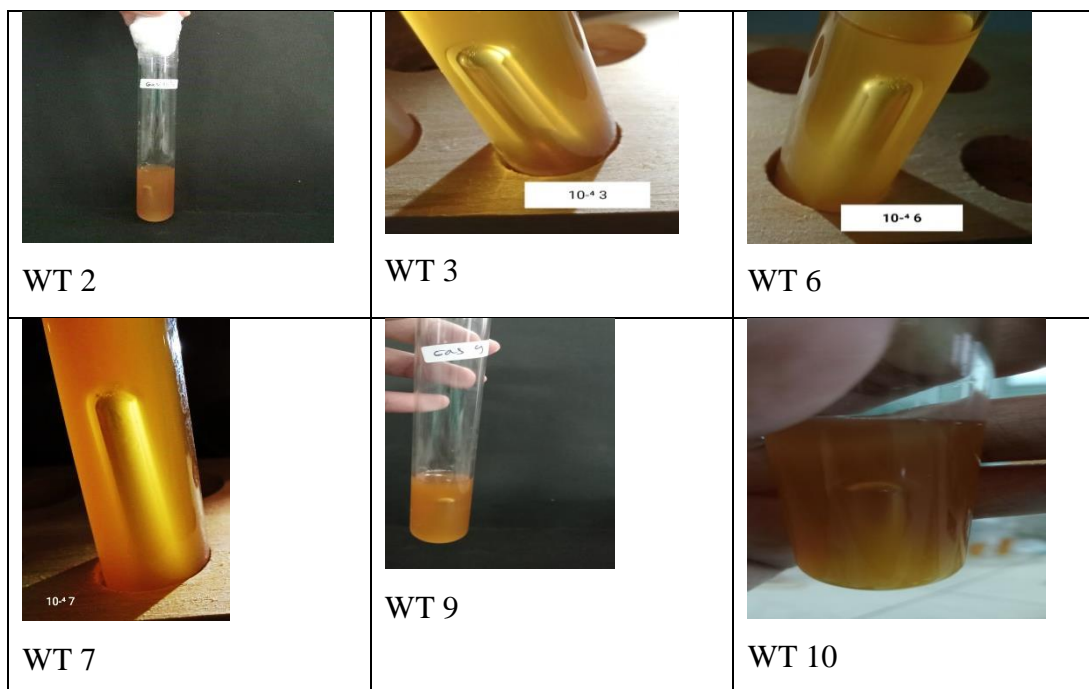
Gambar 4.3. Uji Katalase, Keterangan : A) Katalase Positif, B) Katalase Negatif

D. Uji produksi gas

Bakteri asam laktat yang diperoleh digolongkan menjadi dua kelompok yaitu homofermentatif dan kelompok heterofermentatif. Pengamatan dilihat dengan terbentuknya gelembung udara pada tabung durham. Berdasarkan pernyataan Yanti & Faizah (2013) Fermentasi asam laktat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu bakteri asam laktat homofermentatif dan heterofermentatif. Proses fermentasi homofermentatif menghasilkan satu jenis komponen saja, yaitu asam laktat, sedangkan fermentasi heterofermentatif menghasilkan berbagai senyawa atau komponen lainnya, misalnya etanol, asetat, asam laktat dan karbodioksida.

Berdasarkan uji produksi gas pada keenam isolat terdapat 3 bakteri bersifat homofermentatif yaitu bakteri yang hanya mampu untuk memproduksi

asam laktat dan fermentasi gula dan 3 bakteri bersifat heterofermentatif dengan ditandai adanya gelembung gas di dalam tabung durham dan hanya mampu memproduksi asam laktat, etanol ,asam asetat dan CO₂. Menurut Surono, (2004) Bakteri homofermentatif tidak mampu menghasilkan gas CO₂, karena tidak memiliki enzim piruvat oksidase yang mampu mengkonversi piruvat menjadi CO₂ dan asetil fosfat dengan diikuti pembentukan H₂O₂.



Gambar 4.4. Uji Produksi Gas, Keterangan : Homofermentatif Wt10, Wt2, Wt9, Heterofermentatif Wt3, Wt7, Wt6

Berdasarkan karakterisasi yang dilakukan diduga terdapat genus *Lactobacillus* dengan ciri- ciri Gram positif, endospora negatif, katalase negatif, produksi gas heterofermentatif/ homofermentatif berbentuk batang. Ciri ciri ini sesuai dengan buku *Bergey's* (1994) yang memiliki ciri-ciri kemiripan sebagai berikut. Sel berbentuk batang, berukuran 0,5-1,2 x 1,0-10,0 μm. Berbentuk batang panjang tetapi ada yang mirip coccoid/kokus, umumnya rantai pendek. Gram-positif, sel nonspora non-motil flagela peritrik. Anaerob fakultatif, terkadang mikroaerofilik, beberapa termasuk anaerob. Koloni pada media agar biasanya 2-5 mm, cembung, utuh, buram, dan tanpa pigmen. produk akhir adalah laktat. Suhu pertumbuhan optimal adalah 30-40 °C. *Lactobacilli* tersebar luas di

lingkungan, terutama pada produk makanan hewani dan nabati pada pencernaan burung, vagina mamalia, mamalia, serta tidak bersifat patogen.

4.2. Uji kandidat probiotik

Keenam isolat yang telah dikarakterisasi berdasarkan makroskopis dan mikroskopisnya memiliki ciri-ciri yang dimiliki bakteri asam laktat dan diduga sebagai genus *Lactobacillus*. Selanjutnya dilakukan uji potensi sebagai probiotik meliputi uji ketahanan terhadap pH rendah dan ketahanan terhadap garam empedu. Dilakukan kedua uji tersebut karena merupakan syarat utama strain dapat digunakan sebagai agensia probiotik (Sunaryanto dkk., 2014). Bakteri asam laktat dapat dikategorikan sebagai kandidat probiotik harus memiliki beberapa karakteristik, salah satunya yaitu tahan terhadap garam empedu dan asam lambung. Bakteri asam laktat untuk dapat bertahan dan tumbuh pada saluran pencernaan harus mampu melewati bagian atas saluran usus yang berisi garam empedu yang disekresikan ke dalam usus (Sari dkk., 2018).

4.2.1. Hasil Uji Ketahanan Terhadap pH Asam

Berdasarkan data pada tabel 4.2 pengujian terhadap ketahanan pH rendah dengan 3 perlakuan yang berbeda yaitu pH 2, 3 dan 4. Memberikan hasil bahwa dari ke enam isolat yang mampu bertahan pada pH rendah yaitu isolat WT9 pada pH 4, dengan hasil yang sudah dimasukkan rumus dan dinyatakan sebagai persen. Menurut Retnowati (2014) bakteri dikatakan sebagai kandidat probiotik setidaknya mampu melewati asam lambung yang memiliki kisaran pH 3-5. Dikuatkan juga dengan pernyataan Oozer *et al.* (2006) bahwa bakteri pada kisaran pH 2-4 setelah diinkubasi selama 3 jam mampu tumbuh baik karena waktu 3 jam merupakan waktu yang dibutuhkan makanan untuk melewati lambung. Menurut Wasis dkk. (2019) bahwa bakteri yang tahan terhadap asam secara dinamis akan mengubah pH intraseluler seiring dengan penurunan pH ekstraseluler sehingga tidak menimbulkan gradient proton yang besar. Menurut Agestiawan dkk. (2014) waktu 3 jam sesuai dengan waktu yang dibutuhkan makanan untuk dapat melewati lambung.

Digunakannya beberapa parameter konsentrasi pH rendah karena menyesuaikan dengan keadaan pH normal pada lambung, sehingga diperoleh berdasarkan hasil pada tabel 4.2. sel bakteri mampu bertahan pada kondisi pH 4 yang juga termasuk kondisi pH pada lambung. Menurut Winarno (2021) agar tubuh mampu mencerna makanan dan membunuh berbagai jenis makhluk yang dapat mengancam kesehatan seperti bakteri serta virus yang tertelur bersama makanan, maka kondisi dalam lambung harusnya dalam keadaan asam. Dimana nilai derajat keasaman dalam lambung berkisar pH 4.0.

4.2. Tabel Ketahanan Terhadap pH Rendah

No	Media MRSB			
	Kode isolate	pH 2	pH 3	pH 4
1	WT 2	3,250 %	3,250 %	22,75 %
2	WT 3	3,773 %	33,01 %	4,245 %
3	WT 6	3,39 %	4,129 %	18,58 %
4	WT 7	9,406 %	2,658 %	22,29 %
5	WT 9	1,136 %	29,16 %	90,15 %
6	WT 10	0,869 %	1,386 %	21,56 %

Keterangan : apabila nilai diatas 45% maka tahan terhadap pH rendah

Kriteria yang penting untuk menseleksi apakah bakteri tersebut termasuk kandidat probiotik yaitu harus mampu tahan terhadap kondisi pada saluran pencernaan. Lambung merupakan saluran pencernaan yang memiliki tingkat keasaman yang tinggi, sedangkan pada saluran usus halus terdapat cairan dengan konsentrasi garam yang tinggi, dengan kondisi tersebut dapat mempengaruhi viabilitas sel bakteri. Keasaman yang terlalu tinggi akan merusak membran sel dan juga komponen intraseluler sehingga dengan kondisi ini dapat menyebabkan kematian pada bakteri yang tidak mampu bertahan pada asam (Hartini *et al.*, 2019).

Mikroba dikatakan sebagai probiotik harus mampu toleran terhadap pH 3 Sanhueza *et al.* (2015) atau setidaknya pH 4. Yang mana pH tersebut merupakan pH lapisan lendir lambung (Garcia *et al.*, 2017) dan harus tahan pada kondisi garam empedu minimal 0,3% (Shivram & Vishwanath, 2012) pH kisaran 3-4

merupakan pH umum asam yang diproduksi pada lambung secara normal dan enzim yang bekerja untuk mencerna makanan dalam lambung hanya yang memiliki pH 3-4 dengan penjelasan bahwa apabila pH lebih besar atau lebih kecil dari daerah pH tersebut maka mengakibatkan enzim tidak dapat bekerja dengan baik dan dapat mengakibatkan gangguan pada lambung (Jusup, 2010)

Perbedaan ketahanan membran sel bakteri terhadap kerusakan akibat terjadinya penurunan pH ekstraseluler menyebabkan keragaman ketahanan sel pada pH rendah. Tingkat keasaman berkaitan dengan aktivitas enzim. Enzim dibutuhkan oleh bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Medium dan lingkungan yang tidak optimal akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Sari dkk., 2018).

Nilai pH rendah (pH 2) bersifat merusak terhadap semua kultur yang di uji. Penghambatan asam terhadap pertumbuhan sel bakteri terjadi melalui efek denaturasi enzim-enzim yang ada dipermukaan sel, kerusakan lipopolisakarida dan membran luar serta penurunan pH sitoplasma melalui peningkatan permeabilitas membran (Puspawati dkk., 2010).

4.2.2. Hasil uji ketahanan terhadap garam empedu

Uji lanjutan yang dilakukan adalah uji ketahanan bakteri asam laktat terhadap garam empedu menggunakan oxgall 0,3 %. Kode isolat WT 9 yang memiliki nilai diatas 45 % akan di uji ketahanannya terhadap garam empedu. Hasil pengujian ketahanan BAL isolat WT9 terhadap oxgall 0,3% dapat dilihat pada tabel 4.3

4.3. Tabel ketahanan terhadap garam empedu

No	Kode isolate	Kontrol	Oxgall 0,3%
1	WT 9	4,000	0,193

Keterangan : nilai absorbansi $\leq 0,1$ = tidak tahan terhadap oxgall, nilai absorbansi $\geq 0,1$ = tahan terhadap oxgall

Bakteri asam laktat isolat WT9 berpotensi untuk dikembangkan menjadi calon kandidat probiotik karena dapat menunjukkan sifat yang toleransi terhadap

pH rendah (pH 4) dan konsentrasi garam empedu yang tinggi (0,3%) yang ditunjukkan dengan nilai diatas $\geq 0,1$. Hal ini sesuai pernyataan bahwa Semakin tinggi konsentrasi garam empedu, maka jumlah sel *Lactobacillus* yang mati juga akan meningkat sehingga konsentrasi garam empedu 0,3% merupakan konsentrasi yang kritikal dan merupakan nilai yang cukup tinggi untuk melakukan seleksi isolat yang resisten terhadap garam empedu (Gilliland *et al.*, 1984). Menurut Dewi dkk. (2012) Konsentrasi garam empedu 0,3% terdapat pada bagian atas usus halus (jejenum) karena jejenum dekat dengan kantung empedu. Dengan demikian isolat WT 9 berpotensi sebagai probiotik.

Beberapa genus *Lactobacillus* memiliki enzim garam empedu hidrolase (BSH) dapat menghidrolisis garam empedu. Enzim ini mampu mengubah fisik dan kemampuan kimia yang dimiliki oleh empedu garam, sehingga tidak beracun bagi BAL. Ini memungkinkan untuk menyebabkan beberapa isolat resisten terhadap garam empedu. Namun, semakin tinggi konsentrasi garam empedu, maka jumlah sel mikroba yang mati juga akan meningkat. Seperti umumnya suatu bakteri dikatakan sebagai bakteri probiotik harus memiliki viabilitas tinggi sehingga tetap hidup, tumbuh, dan aktif di saluran pencernaan (Sanjaya *et al.*, 2019)

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

1. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari *whey* tahu diperoleh 6 isolat murni yang selanjutnya dilakukan karakterisasi baik secara makroskopis dan mikroskopis sehingga dengan ciri-ciri yang didapat diduga sebagai genus *Lactobacillus*.
2. Bakteri asam laktat dari 6 isolat setelah dilakukan uji potensi probiotik yang meliputi uji ketahanan terhadap pH rendah dan uji ketahanan terhadap garam empedu diperoleh isolat yakni WT 9 yang mampu bertahan dan dijadikan sebagai kandidat probiotik

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan beberapa hal sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut untuk mengetahui tingkat spesies secara molekuler dari ke 6 isolat tersebut.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai beberapa syarat probiotik lainnya yaitu mampu menghambat bakteri patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. 2018. Isolasi dan karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari limbah cair rendaman kacang kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253-257.
- Andarwulan, N., Nuraida, L., Adawiyah, D. R., Triana, R. N., Agustin, D., & Gitapratwi, D. 2018. Pengaruh perbedaan jenis kedelai terhadap kualitas mutu tahu. *Jurnal Mutu Pangan: Indonesian Journal of Food Quality*, 5(2), 66-72.
- Arinto, D. J., Paramastri, H. P., & Soetrisnanto, D. 2013. Potensi Air Dadih (*Whey*) Tahu sebagai Nutrien dalam Kultivasi *Chlorella* sp. untuk Bahan Baku Pembuatan Biodisel. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 2(4), 233-242.
- Aritonang, S. N., Roza, E., Rossi, E., Purwati, E., & Husmaini, H. 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Okara and evaluation of their potential as candidate probiotics. *Pakistan J. Nutri*, 16, 618-628.
- Asril, M., Oktaviani, I., & Leksikowati, S. 2019. Isolasi Bakteri Indigineous dari Limbah Cair Tahu dalam Mendegradasi Protein dan Melarutkan Fosfat. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 20(1), 67-72.
- Abdul, A., Kumaji, S., & Duengo, F. 2018. Pengaruh Penambahan Susu Sapi Terhadap Kadar Asam Laktat Pada Pembuatan Yoghurt Jagung Manis Oleh *Streptococcus Thermophilus* Dan *Lactobacillus Bulgaricus*. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 3(2), 1-9.
- Arini, L. D. D. 2017. Pemanfaatan Bakteri Baik dalam Pembuatan Makanan Fermentasi yang Bermanfaat untuk Kesehatan. *Biomedika*, 10(1), 1-11.
- Azizah, N., Al-Barrii, A. N., & Mulyani, S. 2012. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3).
- At-thabari abu ja'far muhammad bin jarirath-thabari. 2009. *Tafsir ath-thabari*. Jakarta: pustaka azzam. jilid 29 hal 644
- Al-jazairi, syaikh abu bakar jabir. 2009. *Al- aisar*. Jakarta : darus sunah. Jilid 7 Hal 608.
- Abdullah bin Muhammad bin Abdurrahman bin Ishaq Al-Sheikh, Lubaabut Tafsir Min Ibnu Katsir (Tafsir Ibnu Katsir) Juz 4, Penj. Tim Abdul Ghoffar. 2003. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i
- Agestiawan, I. G. A. M., Swastini, D. A., & Ramona, Y. 2014. Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Kimchi Terhadap pH Rendah. *Jurnal Farmasi Udayana*, 3(2), 279858.
- Antara, N.S., Ida, B.W.G., Pande, K.D.K., I Made, S.U. 2019. The Role of Lactic Acid Bacteria on Safety and Quality of Fermented Foods. *AIP Conference Proceedings*.
- Benedetti, S., Prudêncio, E. S., Nunes, G. L., Guizoni, K., Fogaça, L. A., & Petrus, J. C. C. 2015. Antioxidant properties of tofu whey concentrate by

- freeze concentration and nanofiltration processes. *Journal of Food Engineering*, 160, 49-55.
- Bija, S., Yulma, Y., Imra, I., Aldian, A., Maulana, A., & Rozi, A. 2020. Sintesis Biokoagulan Berbasis Kitosan Limbah Sisik Ikan Bandeng dan Aplikasinya Terhadap Nilai BOD dan COD Limbah Tahu di Kota Tarakan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 86-92.
- Bawole, K. V., Umboh, S. D., & Tallei, T. E. (2018). Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kubis Merah (*Brassica oleracea* L.) Pada pH 3. *Jurnal MIPA*, 7(2), 20-23.
- Badan Pusat Statistik. 2016. *Survei Sosial Ekonomi Nasional (Susenas) Tahun 2016*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Cho, Y. H., Hong, S. M., & Kim, C. H. 2013. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from kimchi, Korean traditional fermented food to apply into fermented dairy products. *Food Science of Animal Resources*, 33(1), 75-82.
- Chartier dkk 2014, Safe management of wastes from health-care activities Second edition (2nd editio), Geneva, WHO Press.
- Chua, J. Y., & Liu, S. Q. 2019. Soy whey: More than just wastewater from tofu and soy protein isolate industry. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 24-32.
- Cotter, P. D., & Hill, C. 2003. Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiology and molecular biology reviews*, 67(3), 429-453.
- Dewi, L. F., Sartini, S., & Rahmiati, R. 2019. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Sapi (*Bos taurus*) serta Kemampuannya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli* dan *Shigella* sp. *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 1(1), 21-27.
- Dewi, S. S., & Anggraini, H. 2012. Viabilitas Bakteri Asam Laktat Asal ASI terhadap pH Asam Lambung dan Garam Empedu. In *prosiding seminar nasional & internasional* (Vol. 1, No. 1).
- Delvia, F., Fridayanti, A., & Ibrahim, A. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 1, pp. 114-120).
- Elygio, Y. D., legowo, A. M., & Al-baarri, A. N. 2016. Karakteristik Curd Berbahan Dasar Ekstrak Kacang Hijau (*Vigna radiata*) dengan Whey Tahu Kedelai (*Glycine max*) sebagai Bahan Penggumpal. *Jurnal teknologi hasil pertanian*. Vol IX(2)
- Emmawati, A., Laksmi, B. S., Nuraida, L., & Syah, D. 2015. Karakterisasi isolate bakteri asam laktat dari mandai yang berpotensi sebagai probiotik. *Agritech*, 35(2), 146-155.
- Ernawati, E. 2011. Pengembangan Produk Tahu Menjadi Tofu Chips (Kajian Jenis Bahan Baku, Suhu Penggorengan Dan Biaya Produksi). *Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 1(1).

- Fei, Y., Liu, L., Liu, D., Chen, L., Tan, B., Fu, L., & Li, L. 2017. Investigasi terhadap keamanan *Lactobacillus amylolyticus* L6 dan sifat fermentasi whey tahu. *LWT*, 84, 314-322.
- Fei, Y., Li, L., Chen, L., Zheng, Y., & Yu, B. 2018. High-throughput sequencing and culture-based approaches to analyze microbial diversity associated with chemical changes in naturally fermented tofu whey, a traditional Chinese tofu-coagulant. *Food microbiology*, 76, 69-77.
- Fauzi, M. 2012. Produksi Ragi Kopi Kultur Tunggal: *Leuconostoc mesenteroides* dan *L. paramesenteroides* dari Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Kopi Luwak. *Jurnal Agroteknologi*, 6(01), 59-69.
- Feliatra. 2018. *Probiotik: Suatu Tinjauan Keilmuan Baru bagi Pakan Budi Daya Perikanan Edisi Pertama*. Jakarta: Prenada Media.
- Febrianti, A. N., Suardana, I. W., & Suarsana, I. N. 2016. Ketahanan Bakteri Asam Laktat (BAL) Isolat 9A Hasil Isolasi dari Kolon Sapi Bali terhadap pH Rendah dan Natrium Deoksikolat (NaDC). *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(5), 415-421.
- Gilliland, S. E., T. E. Stanley, and L. J. Bush. 1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *J. Dairy Sci.* 67:3045– 3051.
- Garcia –Ruiz, Gonzales De Liano, Esteban. 2014. Assessment Of Probiotic Properties In Lactic Acid Bacteria Isolated From Wine. *Food Microbial.* 44:220-225
- Handayani, N. I., Moenir, M., Setianingsih, N. I., & Malik, R. A. 2016. Isolasi bakteri heterotrofik anaerobik pada pengolahan air limbah industri tekstil. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri*, 7(1), 39-46.
- Hossain, M. N., Humayun, S., Shabnam, J., Rahman, M. M., & Begum, S. Monzur Morshed Ahmed. 2018. Probiotic properties of *Bifidobacterium* species isolated from mother's milk and infant feces. *Asian Australas. J. Biosci. Biotechnol.* 3 (2), 122-135
- Hidayat, Nur, Irene Meitiniarti, Siswa Setyahadi, Usman Pato, Evi Susanti, Madiana C. Padaga, Agustin Krisna Wardani, Umi Purwandari 2018. *Mikrobiologi industri pertanian*. Malang : UB Press
- Himedia laboratoris. 2020. Technical data of deMan Rogosa and Sharpe Agar (MRSa)
- Hutkins, Z.H. 2006. *Microbiology and technology of fermented foods*. Blackwell publishing Asia. Australia.
- Halim, C. N., & Zubaidah, E. 2013. Studi kemampuan probiotik isolat bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida tinggi asal sawi asin (*Brassica juncea*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 1(1), 129-137.
- Holt, J.G., Noel R. Krieg, Peter H.A. Sneath, James T. Staley, Stanley T. Williams. 1991. *Bergey's manual of determinative bacteriology 9th*. Baltimore : Lippincott William and Wilkins USA
- Hartini P, Purwanto H, Juliyarsi IY, Purwati E. 2019. Probiotic Potential Of Lactic Acid Bacteria *Lactobacillus Fermentum* Isolation From Tempoyak In Padang Pariaman District, West Sumatera Indonesia To Acid

- Condition, Bile Salt And Antimicrobial Activity. *Int Res J Pharm* 10: 70-73
- Holzappel, Wilhelm H dan Wood, Brian J.B. 2014. Lactic acid bacteria biodiversity and taxonomy. USA
- Ibrahim, A., Aditya, T., Fila, D., 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera Indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Vol 1. No (2):159-163.
- Ismawati, N., Aminin, A. L., & Suyati, L. 2015. Whey Tahu sebagai Penghasil Bioelektrisitas pada Sistem Microbial Fuel Cell dengan *Lactobacillus Plantarum*. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 23(2), 43-49.
- Istini, I.2020. Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(3), 6.
- Ibnu katsir. 2004. Penerjemah M. Abdul ghoffar. *Tafsir ibnu katsir*. Bogor: pustaka imam asyasyafi'i. Jilid 8 hal 644
- Irmayanti, I., Hakim, L., Makmur, T., & Rizki, P. 2020. The Effect of *Lactobacillus Casei* and Sucrose Concentrations on the Microbiology and Chemical Characteristics of Tofu Waste-Based Probiotic Drinks. *International Conference on Multidisciplinary Research*. Volume 03, No.1
- Ingratubun, J. A., Ijong, F. G., & Onibala, H. 2013. Isolation and identification of lactic acid bacteria in Bakasang as fermented microbe starter. *Aquatic Science & Management*, 48-56.
- Jufri, R. F. 2020. Microbial Isolation. *Journal La Lifesci*, 1(1), 18-23.
- Jusup, Lenny. 2010. *Fit for Life: Masakan Sehat dan Lezat untuk Penderita Gastritis (Tukak Lambung/Maag)*. Jakarta: PT.Gramedia Pustaka Utama.
- Jaya, J. D., Ariyani, L., & Hadijah, H. 2018. Designing Clean Production of Tofu Processing Industry In UD. Sumber Urip Pelahari. *Jurnal Agroindustri*, 8(2), 105-112.
- Kumalaningsih, sri. 2014. *Pohon industri potensial*. Malang: UB Press
- Kementerian perindustrian (kemenperin). 2016. Perkembangan jumlah unit usaha industri besar dan sedang Indonesia.
- Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. 2020. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Makanan Tradisional Suku Rejang Di Provinsi Bengkulu: "Lemea" (Doctoral Dissertation, Universitas Bengkulu). *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 4(1): 25-32
- Khalid,K. 2011. An overview of lactic acid bacteria. *International journal of biosciences (IJB)*, 1(30, 1-13
- Li, C., Rui, X., Zhang, Y., Cai, F., Chen, X., & Jiang, M. 2017. Production of tofu by lactic acid bacteria isolated from naturally fermented soy whey and evaluation of its quality. *LWT-Food Science and Technology*, 82, 227-234.
- Lestari, Lily Arsanti dan Siti Helmyanti. 2018. *Peran probiotik di bidang gizi dan kesehatan*. Yogyakarta: Gajah mada university press.
- Lembaga ilmu pengetahuan Indonesia (LIPI). 2017. Penelitian untuk pemanfaatan limbah tahu.

- Laily IN, Utami R dan Widowati E, 2013. Isolasi dan karakteristik Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2(4): 179-184
- Murni W, Ika, Eka reftiana Z Harti, Aldila Puji., Agnes Sri Harti., Estuningsih., Kusumawati, H. N. 2013. Pemanfaatan bakteri asam laktat dalam proses pembuatan tahu dan tempe untuk peningkatan kadar isoflavon, asam linoleat dan asam linolenat. *Jurnal KesMaDaSka*.
- Manalu, R. T., Bahri, S., Melisa, M., & Sarah, S. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat asal Feses Manusia sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Sainstech Farma*, 13(1), 55-59.
- Matemu, A. O., Kayahara, H., Murasawa, H., & Nakamura, S. 2009. Importance of size and charge of carbohydrate chains in the preparation of functional glycoproteins with excellent emulsifying properties from tofu whey. *Food chemistry*, 114(4), 1328-1334.
- Megasari, R., Biyatmoko, D., Ilham, W., & Hadie, J. 2012. Identifikasi keragaman jenis bakteri pada proses pengolahan limbah cair industry minuman dengan lumpur aktif limbah tahu. *EnviroScienteeae*, 8(2), 89-101.
- Mansur, D. S., & Hidayat, M. N. 2019. Ketahanan Bakteri Asam Laktat Asal Saluran Pencernaan Broiler Terhadap pH dan Garam Empedu. *Jurnal Ilmu dan Industri Peternakan*, 5(1), 27-37.
- Mora-Villalobos, J. A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., ... & Lopez-Gomez, J. P. 2020. Multi product lactic acid bacteria fermentations: A review. *Fermentation*, 6(1), 23.
- Murwani,Sri. 2017. *Penyakit Bakterial Pada Ternak Hewan Besar dan Unggas*. Malang: UB Press.
- Meryandini, A., Karyawati, A. T., Nuraida, L., & Lestari, Y. 2020. Lactic Acid Bacteria from Apis dorsata Hive Possessed Probiotic and Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Activity. *Makara Journal of Science*, 24(1), 7.
- Mustaqim, M., & Roza, R. M. (2014). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Pada Saluran Pencernaan Ikan Lais (*Kryptopterus Spp.*) *JOM FMIPA* Volume 1 No.2
- Nurhikmayani, R., daryono, B. S., & retnaningrum, E. 2019. The Isolation and molecular identification of antimicrobial-producing Lactic Acid Bacteria from *chao*, South Sulawesi (Indonesia) fermented fish product. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(4), 1063-1068.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Mipa*, 2(2), 128-132.
- Ningsih, A. S., Ekowati, C. N., Sumard, S., & Farisi, S. 2018. Uji Daya Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Kefir dengan inoculum ragi tape terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal tadriss pendidikan biologi*. 9 (2), 28-42
- Oozer R, Leplingard A, Mater DDG, Mogenet A, Michelin R, Seksek I, Marteau P, Dore J, Bresson JL, Corthier G. 2006. Survival of *Lactobacillus casei* in

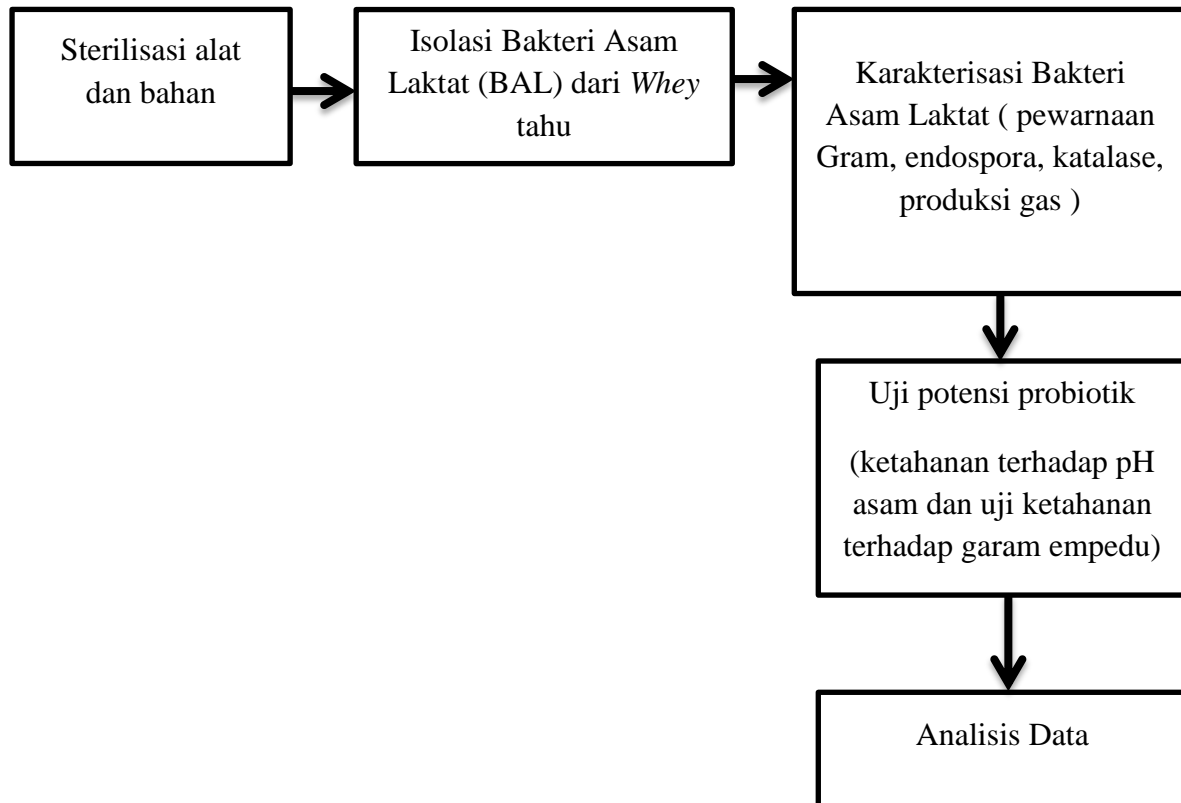
- the Human Digestive Tract After Consumption of Fermented Milk. *Appl and Enviro Microbiol* 5615-5617.
- Pisol B, Noriham A, Khalillah AK, dan Lilis N. 2015. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Different Stages of Traditional Malaysian Tempeh production. *Mal. J. Microbiol.* Vol 11(4), pp. 358- 364.
- Putri, A. L., & Kusdiyantini, E. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Purwohadisantoso K, Zubaidah E, Saparianti T. 2009. Isolation of lactic acid bacteria from cabbage and their potensial inhibition to pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Salmonella thypimurium*). *Jurnal Teknologi Pertanian* 10(1): 19-27
- Patantis, gantung dan yusro nuri fawzya. 2009. Teknik identifikasi mikroorganisme secara molekuler. *Squalen. Vol 4 no 2.*
- Priadi, Gunawan, Fitri Setiyoningrum, Fifi Afiati, Rohmatussolihat Irzaldi Dan Puspita Lisdiyanti, Studi In Vitro Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Dari Makanan Fermentasi Indonesia. *J. Teknologi Dan Industry Pangan.* Vol 3(1):21-28.
- Purwohadisantoso K, Zubaidah E, Saparianti T. 2009. Isolation of lactic acid bacteria from cabbage and their potensial inhibition to pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Salmonella thypimurium*). *Jurnal Teknologi Pertanian* 10(1): 19-27
- Puspawati, N. N., Nuraida, L., & Adawiyah, D. R. 2010. Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung Untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yang Di Isolasi Dari Air Susu Ibu Pada Proses Pengeringan Beku . *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 21(1), 59 59.
- Pratita, Maria Yuli Endah dan Surya Rosa Putra. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Panas Di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits.* Vol. 1, No. 1, 1-5
- Pramudyanti, I. R., Purwoko, T. J. A. H. J. A. D. I., & Pangastuti, A. R. T. I. N. I. 2004. Pengaruh pengaturan pH dengan caco3 terhadap produksi asam laktat dari glukosa oleh *Rhizopus oryzae*. *Bioteknologi*, 1(1), 19-24.
- Putri, Megananda Hiranya. 2021. *Mikrobiologi Keperawatan Gigi*. Pekalongan: PT. Nasya Expanding Management.
- Pagoray, H., Sulistyawati, S., & Fitriyani, F. 2021. Limbah Cair Industri Tahu dan Dampaknya Terhadap Kualitas Air dan Biota Perairan. *Jurnal Pertanian Terpadu*, 9(1), 53-65.
- Pangestika, W., & Saksono, N. 2020. The Analysis of Pollutant Parameters in Tofu Wastewater after being Treated by Contact Glow Discharge Electrolysis. *Jurnal Integrasi Proses*, 9(1), 01-07.
- Qiao, Z., Chen, X. D., Cheng, Y., Liu, H., Liu, Y., & Li, L. 2010. Microbiological and chemical changes during the production of acidic whey, a traditional chinese tofu coagulant. *International Journal of Food Properties*, 13(1), 90-104.

- Qonita, Syahidah Bannan., Vonny Setiaries Johan., Rahmayuni. 2018. Identifikasi Genus Bakteri Asam Laktat Dari Nira Aren Terfermentasi Spontan. *Jom Faperta* Vol.5 No.1
- Romadhon, R., Subagiyo, S., & 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), 59-64.
- Roni, K. A., & Herawati, N. 2012. Uji Kandungan Asam Laktat Di Dalam Limbah Kubis Dengan Menggunakan Nacl Dan Cacl₂. *Berkala Teknik*, 2(4), 320-333.
- Rahayu, Endang S dan Tyas utami. 2019. *Probiotik dan gut mikrobiota: serta manfaatnya pada kesehatan*. Yogyakarta: PT Kanisius
- Retnowati, Pratiwi Anggun. 2014. Pembuatan minuman probiotik sari buah kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan isolat *lactobacillus casei* dan *lactobacillus plantarum*. *Jurnal pangan dan agroindustri*. Vol 2. No 2 : 70-81
- Sun, Yalian, Xiuyu Lou, Xuan Zhu, Han Jiang, Qing Gu. 2014. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria Producing Bacteriocin from Newborn Infants Feces. . *J Bacteriol Mycol*. Vol 1(2): 7.
- Sasmita,dkk. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Liur Basa (Limbah Sayur Bayam Dan Sawi). *As-Syifaa*. Vol 10 (02) : Hal. 141 151
- Suhaeni dan A. Syakur. 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dangke Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Biogenesis*, 4(2): 79-83.
- Sinaga, D. H., Suyati, L., & Aminin, A. L. 2014. Studi Pendahuluan Pemanfaatan Whey Tahu sebagai Substrat dan Efek Luas Permukaan Elektroda dalam Sistem Microbial Fuel Cell. *Jurnal Sains dan Matematika*, 22(2), 30-35.
- Sutiyani, S., Wignyanto, W., & Sukardi, S. 2012. Pemanfaatan Limbah Cair (Whey) Industri Tahu Menjadi Nata de Soya dan Kecap Berdasarkan Perbandingan Nilai Ekonomi Produksi. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 4(2).
- Sulmiyati. Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R., & Maruddin, F. 2018. The characteristics of lactic acid bacteria isolated from Indonesian commercial kefir grain. *Malays. J. Microbiol.*, 14(7), 632-639.
- Safitri, Nurlaela., Sunarti, T. C., & Meryandini, A. 2016. Formula media pertumbuhan bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* menggunakan substrat whey Tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(2).
- Sari, R., Deslianri, L., & Apridamayanti, P. 2016. Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari MinumanCe Hun Tiau. *Pharmaceutical Sciences & Research*, 3(2), 4.
- Subagiyo, S., Triyanto, T., Margino, S., Setiawan, F., Setyati, W. A., & Pramesti, R. 2017. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Intestinal Udang Penaeid Tipe Liar Terhadap Bakteri *Vibrio*. *Jurnal Kelautan Tropis*, 20(1), 7-15.
- Setyawardani, triana. 2017. *Mudah & cepat membuat buat keju, yoghurt dan kefir dari susu kambing*. Yogyakarta : Penebar swadaya

- Supriatna, D., & Hasrini, R.F. 2019. Teknologi pengolahan tahu dan olahan kedelai lainnya. Bogor: IPB Press.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al Mishbah: pesan, kesan dan keserasian Al Quran*. Jakarta : PT Lentera Hati. Hlm 147-148, 370-373
- Sutrisna, R., Ekowati, C. N., & Sinaga, E. S. 2015. Pengaruh pH terhadap produksi antibakteri oleh bakteri asam laktat dari usus itik. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 15(3).
- Shivram PL, Vishwanath PP. 2012. Assessment Of Probiotic Potential Of Lactobacillus Sp, Isolated From Chese And Preparation Of Probiotic Ice Cream. *Int J Res Ayurvesa Pharm* 3: 532-536
- Sanhueza E, Paredes-Osses E, Gonzalez CL, Garcia A. 2015. Effect Of Ph In The Survival Of Lactobacillus Salivarius Strain Wild Type And The Ph Acid Acclimated Variant. *Electron J Biothechnologi* 18:343-346
- Sari, febria Martina, rossi, evy & raswen effendi. 2018. Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Kulit Ari Kacang Kedelai Terhadap Garam Empedu (oxgall) dan asam klorida (HCl). *Jom Ur*. Volume 5 Edisi 2
- Sanjaya, I. M. R., Suardana, I. W., & Suarsana, I. N. 2019. Probiotic Potential Test for Lactic Acid Bacterial Isolate from Labi Cattle Gastric Again Low Acidity and Sodium Deoxycholate. *Journal of Veterinary and Animal Sciences* pISSN, 2(24), 30.
- Syaikh Imam al-Qurthubi, *Tafsir Al-Qurthubi*, terj. Al-Jami' Li Ahkaam Al Qur'an, Dudi Rosyadi dkk, (Jakarta: Pustaka Azzam, 2008) hlm. 768,781, 771-773
- Syah, Dahrul. 2018. *Pengantar Teknologi Pangan*. Bandung : PT Penerbit IPB Press.
- Sousa, A.M., Machado, I., Nicolau, A. & Pereira, M.O. 2013. Improvements On Colony Morphology Identification Towards Bacterial Profiling. *Journal Of Microbiological Methods*, 95, 327-335.
- Suryani. 2020. *Virgin Coconut Oil Bakteri Asam Laktat dan Bakteriosin*. Surabaya: Unitomo PRESS
- Sunaryanto, R., Martius, E., & Marwoto, B. 2014. Uji kemampuan *Lactobacillus casei* sebagai agensia probiotik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 1(1), 9-14.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta.: Tri Cipta Karya.
- Siswoyo, E., & Hermana, J. 2017. Pengaruh Air Limbah Industri Tahu terhadap Laju Pertumbuhan Tanaman Bayam Cabut (*Amaranthus tricolor*). *Jurnal Sains & Teknologi Lingkungan*, 9(2), 105-113.
- Tambunan, A.R. 2016. Karakteristik Probiotik Berbagai Jenis Bakteri Asam Laktat pada Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas. Skripsi. Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Usmania, dkk. 2018. Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Plantarum* Dan *Lactobacillus Casei* Terhadap Mutu Mikrobiologi Dan Kimia Mayones Probiotik. *Jurnal Ilmu Ternak*, vol 18(2):79-85

- Utama, C. S., Zuprizal, Z., Hanim, C., & Wihandoyo, W. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi. *Jurnal aplikasi teknologi pangan*, 7(1).
- Wikandari PR, Suparmo, Yustinus M, Endang SR. 2012. Karakterisasi bakteri asam laktat proteolitik pada bekasam. *Jurnal Natur Indonesia* 14(2): 120-125
- Widowati, T. W., Hamzah, B., Wijaya, A., & Pambayun, R. 2014. Sifat Antagonistik *Lactobacillus* sp B441 dan II442 Asal Tempoyak terhadap *Staphylococcus aureus*. *Agritech*, 34(4), 430-438..
- Widodo. 2019. *Bakteri asam laktat strain lokal*. Yogyakarta : UGM press
- Wulandari, D., & Purwaningsih, D. 2019. Identifikasi dan karakterisasi bakteri amilolitik pada umbi *Colocasia esculenta* L. secara morfologi, biokimia, dan molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2), 247-258.
- Wahyuningsih, S. 2016. Konsumsi dan neraca penyediaan-penggunaan kedelai. *Bulletin konsumsi pangan*. 7 (1) hal. 31-42.
- Wasis, N. O., Antara, N. S., & Gunam, I. B. W. 2019. Studi Viabilitas Isolat Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Asinan Rebung Bambu Tabah Terhadap pH Rendah Dan Garam Empedu. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. Vol. 7, No.1, 1-10.
- Winarno, F.G. 2021. *Pangan Pelancar Aliran Darah Dan Diet Alkali*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama
- Wohlgemuth, S & Kampf, P. 2014. Bacteria: Bacterial Endospores. *Encyclopedia of food microbiology: second edition*, 1. 160-168
- Waluyo, L. 2008. Teknik Metode Dasar Dalam Mikrobiologi. UMM Press, pp. 222-258.
- Yeni, A. M., & Sunarti, T. C. 2016. Penggunaan Substrat Whey Tahu Untuk Produksi Biomassa Oleh *Pediococcus pentosaceus* E. 1222. *Journal of Agroindustrial Technology*, 26(3).
- Yudianti, N. F., Yanti, R., Cahyanto, M. N., Rahayu, E. S., & Utami, T. 2020. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Legume Soaking Water of Tempeh Productions. *Digital Press Life Sciences*, 2.
- Yudisthira, B. Martina Andriani & Rohula Utami. 2016. Karakterisasi: limbah cair industri tahu dengan koagulan yang berbeda (asam asetat dan kalsium sulfat). *Journal of sustainable agriculture*. 31(2):137-145
- Yanti, Dwi Indah Widya dan Dali, F. A. 2013. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi Selama Fermentasi Bakasang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(2).
- Zukiewicz-Sobczak, W., Wroblewska, P., Adamczuk, P., & Silny, W. 2014. Probiotic lactic acid bacteria and their potential in the prevention and treatment of allergic diseases. *Central-European journal of immunology*, 39(1), 104.

Lampiran 1. Diagram alir penelitian



Lampiran 2. Data uji ketahanan terhadap pH rendah

Kode isolate	pH 2 sebelum	pH 2 sesudah	pH 3 sebelum	pH 3 sesudah	pH 4 sebelum	pH 4 sesudah	pH6,2* sebelum	pH6,2* sesudah
WT 2 U1	0,044	0,055	0,076	0,100	0,038	0,148	0,030	0,399
U2	0,025	0,069	0,138	0,116	0,040	0,155	0,033	0,528
U3	0,073	0,057	0,129	0,167	0,073	0,122	0,028	0,365
Rata-rata	0,047	0,060	0,114	0,127	0,050	0,141	0,030	0,430
WT 3 U1	0,104	0,073	0,120	0,200	0,014	0,034	0,068	0,279
U2	0,057	0,0131	0,131	0,202	0,029	0,064	0,026	0,265
U3	0,042	0,022	0,140	0,199	0,041	0,015	0,001	0,187
Rata-rata	0,067	0,075	0,130	0,200	0,028	0,037	0,031	0,243
WT 6 U1	0,081	0,125	0,152	0,166	0,067	0,194	0,077	0,843
U2	0,089	0,104	0,215	0,239	0,073	0,213	0,072	0,725
U3	0,084	0,062	0,201	0,247	0,118	0,231	0,111	0,725
Rata-rata	0,074	0,097	0,189	0,217	0,086	0,212	0,086	0,764
WT 7 U1	0,217	0,254	0,037	0,101	0,064	0,249	0,064	0,564
U2	0,171	0,248	0,112	0,082	0,058	0,180	0,055	0,513
U3	0,185	0,209	0,066	0,070	0,089	0,109	0,064	0,574
Rata-rata	0,191	0,237	0,071	0,084	0,070	0,179	0,061	0,550
WT 9 U1	0,086	0,142	0,185	0,258	0,076	0,299	0,150	0,407
U2	0,139	0,141	0,143	0,242	0,104	0,309	0,134	0,407
U3	0,093	0,044	0,143	0,202	0,101	0,387	0,182	0,444
Rata-rata	0,106	0,109	0,157	0,234	0,093	0,331	0,155	0,419
WT 10 U1	0,197	0,218	0,143	0,147	0,269	0,353	0,196	0,761

U2	0,269	0,260	0,114	0,098	0,155	0,285	0,089	0,684
U3	0,130	0,133	0,069	0,100	0,169	0,438	0,076	0,642
Rata-rata	0,198	0,203	0,108	0,115	0,198	0,358	0,120	0,695

Keterangan :

Tanda (*) kontrol, U1, U2, U3= Ulangan

No	Media MRSB			
	Kode isolate	pH 2	pH 3	pH 4
1	WT 2	3,250 %	3,250 %	22,75 %
2	WT 3	3,773 %	33,01 %	4,245 %
3	WT 6	3,39 %	4,129 %	18,58 %
4	WT 7	9,406 %	2,658 %	22,29 %
5	WT 9	1,136 %	29,16 %	90,15 %
6	WT 10	0,869 %	1,386 %	21,56 %

Rumus perhitungan persentase viabilitas BAL:

$$\text{presentase viabilitas BAL \%} = \frac{\text{nilai OD akhir inkubasi} - \text{nilai OD awal inkubasi}}{\text{nilai OD kontrol akhir inkubasi} - \text{nilai OD kontrol awal inkubasi}} \times 100\%$$

Contoh perhitungan:

$$\text{presentase viabilitas BAL \%} = \frac{0,331 - 0,093}{0,419 - 0,155} \times 100\%$$

$$= \frac{0,238}{0,264} \times 100$$

$$= 90,151$$

Lampiran 3. Data uji ketahanan terhadap garam empedu

Kode isolat	Kontrol	Oxgall 0,3%
WT 9 U1	4,000	0,180
U2	4,000	0,205
U3	4,000	0,194
Rata-rata	4,000	0,193

Keterangan : nilai absorbansi $\leq 0,1$ = tidak tahan terhadap oxgall, nilai absorbansi $\geq 0,1$ = tahan terhadap oxgall

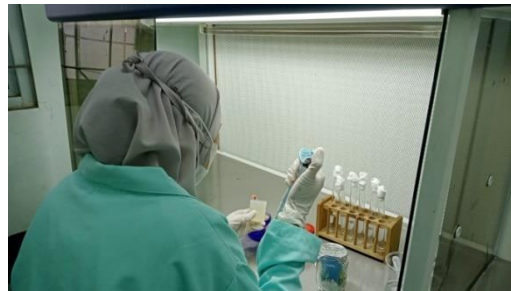
Lampiran 4. Gambar penelitian

Limbah *whey* tahu dari salah satu pabrik di sukun



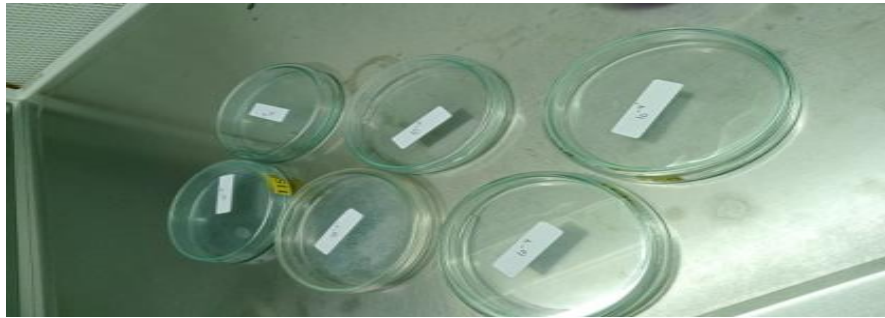
Pengenceran 10^{-1} Sampai 10^{-2} , tabung reaksi di isi dengan 9ml NaCl 0,85% dan 1 ml sampel





Diambil Sampel Dari 3 Pengenceran Terakhir Sebanyak 1ml, Dilakukan Secara Duplo, dimasukkan ke capet yang kosong lalu dicampur dengan media MRSA dan dihomogenkan dengan membentuk angka 8

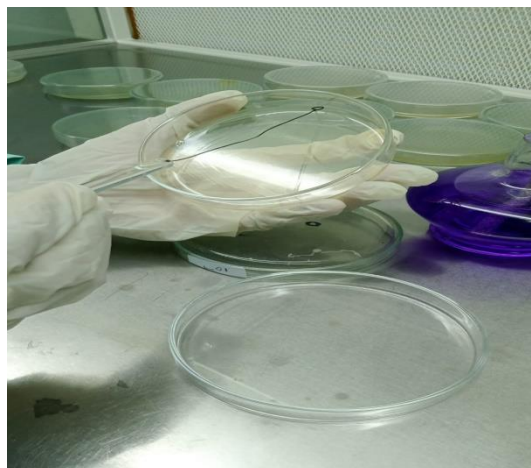




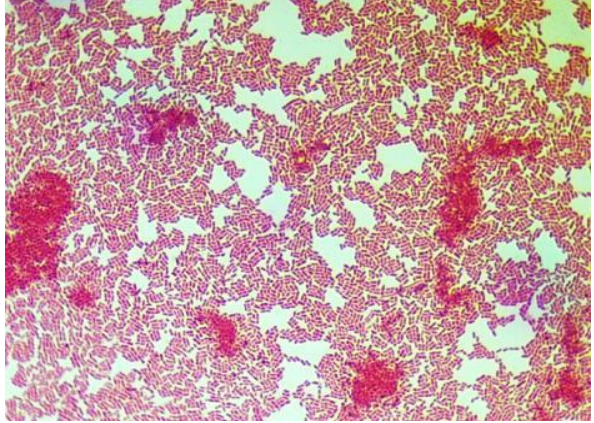
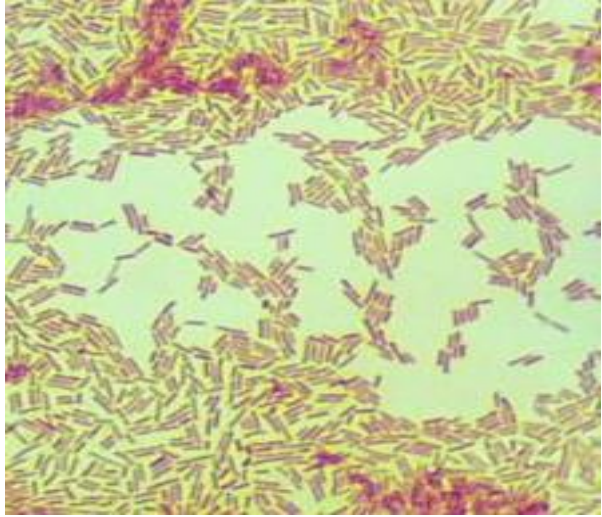

MEDIA MRSA + CaCO₃ 0,2 gr


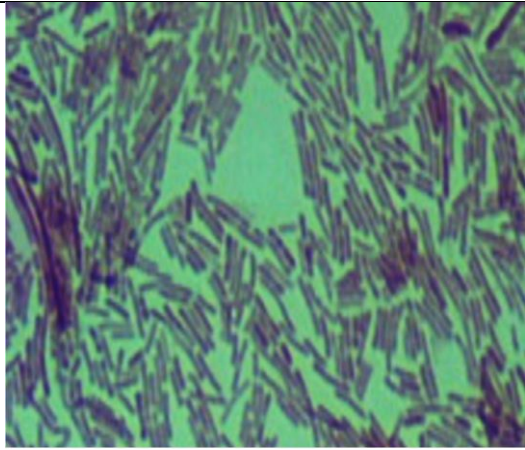
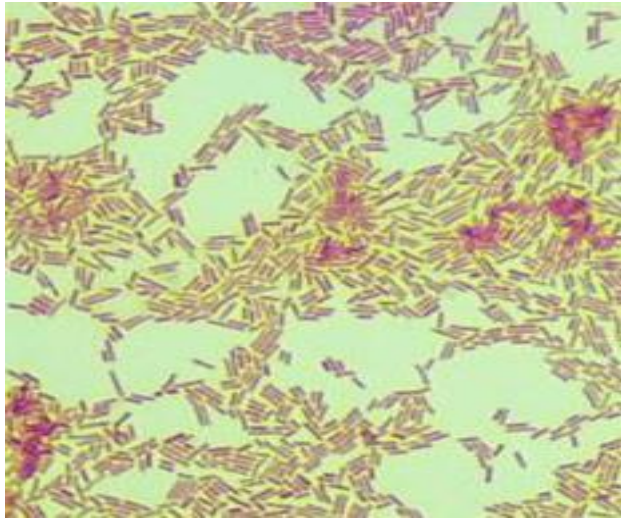


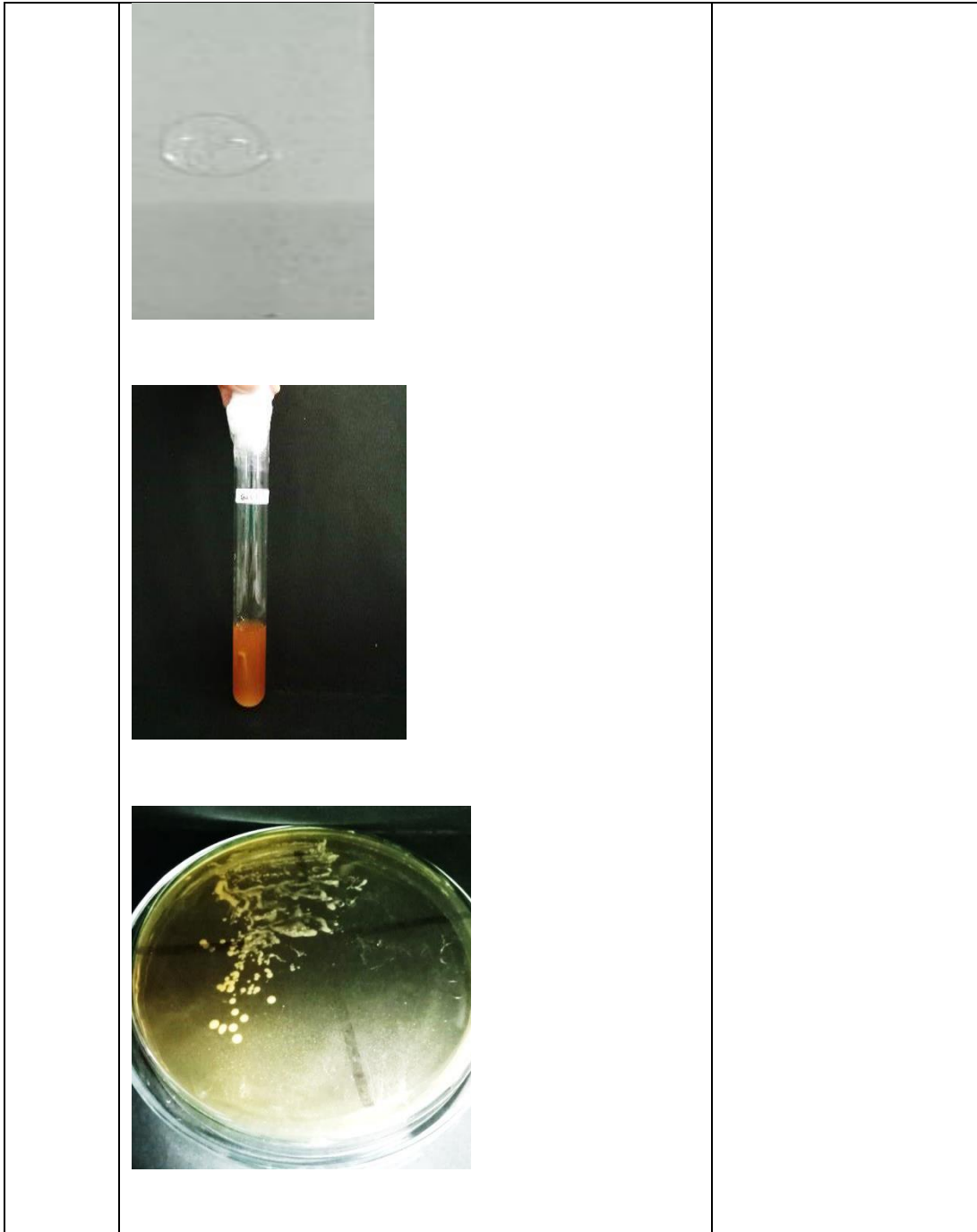
MEDIA MRSB



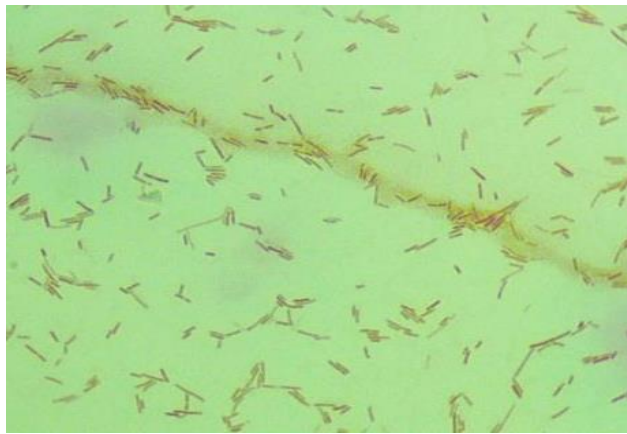
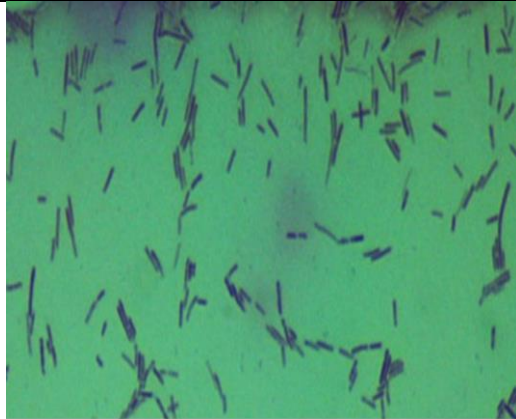
HASIL KARAKTERISTIK BAKTERI ASAM LAKTAT WHEY TAHU

Kode sampel	Foto	Keterangan
WT 1	  	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pewarnaan gram = Merah 2. Endospore = Merah 3. Katalase = Negatif <p>PERBESARAN 1000X</p>

		
WT 2	 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pewarnaan gram = Ungu 2. Endospore = Merah 3. Katalase = Negatif PERBESARAN 1000X 4. Tidak Produksi gas 5. Bentuk koloni batang <p>Keterangan : Homofermentatif (tidak ada gas) Heterofermentatif (ada gas)</p>



WT 3



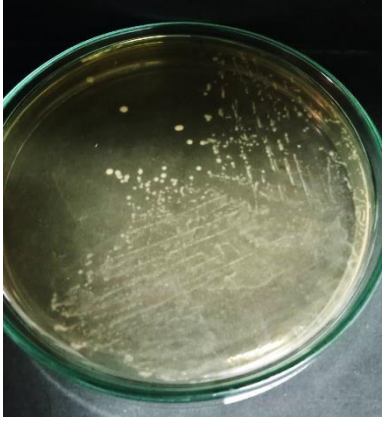
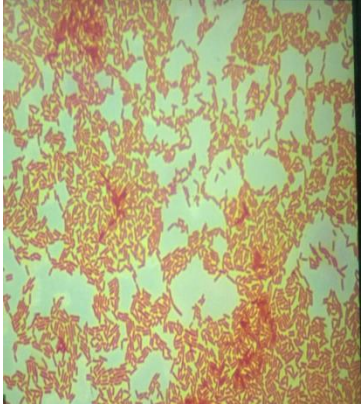
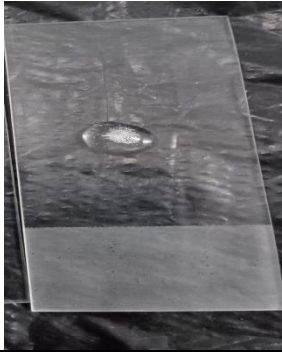
1. Pewarnaan gram = Ungu
2. Endospore = Merah
3. Katalase = Negatif
4. Produksi gas
5. Bentuk koloni batang

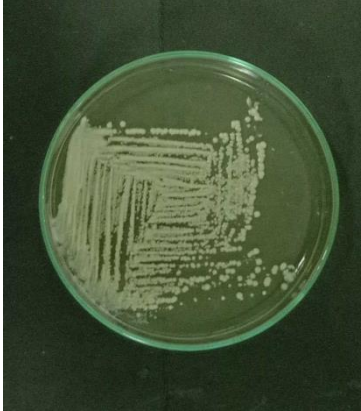
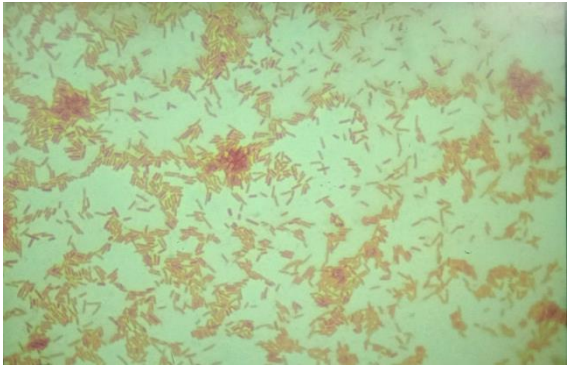

Keterangan :


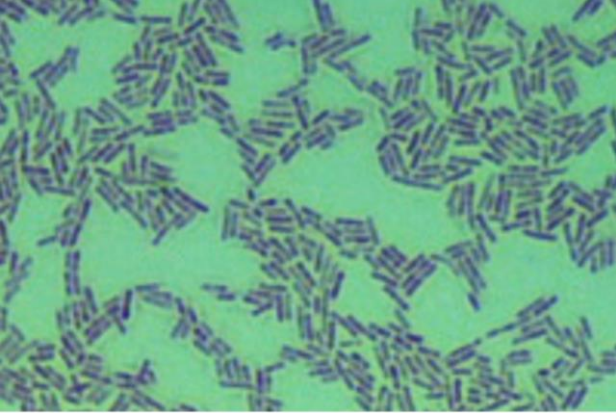
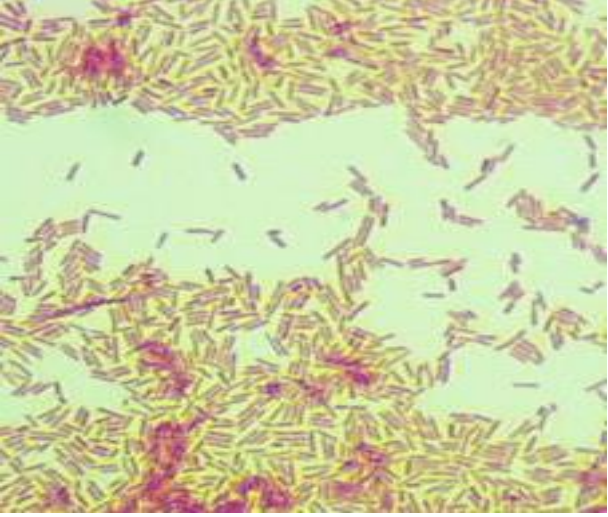
Homofermentatif



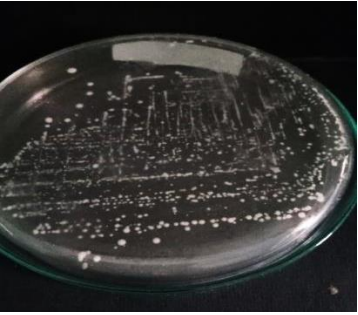
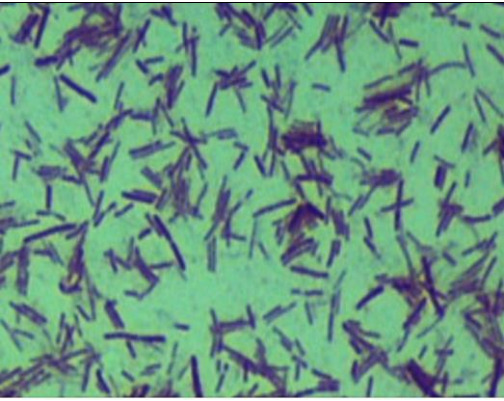
(tidak ada gas)

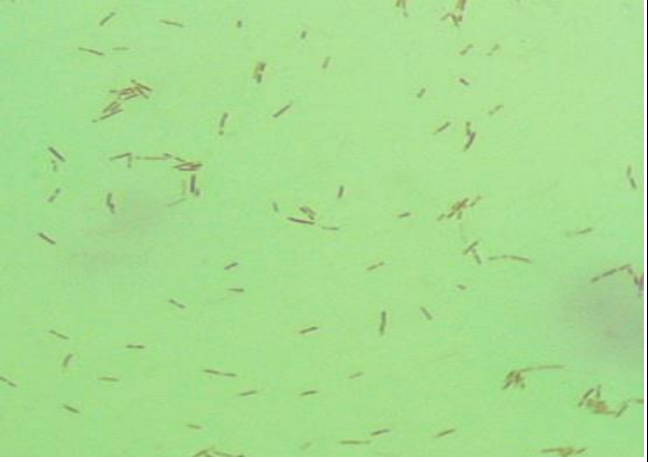


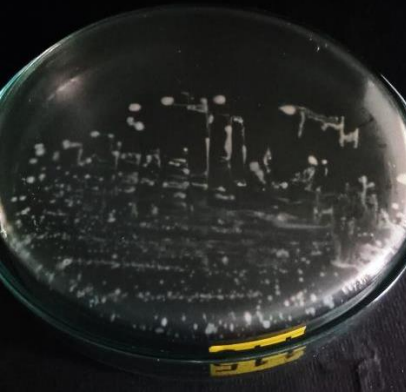
Heterofermentatif (ada gas)

		
WT4	 	<ol style="list-style-type: none">1. Pewarnaan Gram = Merah2. Katalase = Positif <p>PERBESARAN 1000X</p> <ol style="list-style-type: none">3. Bentuk koloni batang

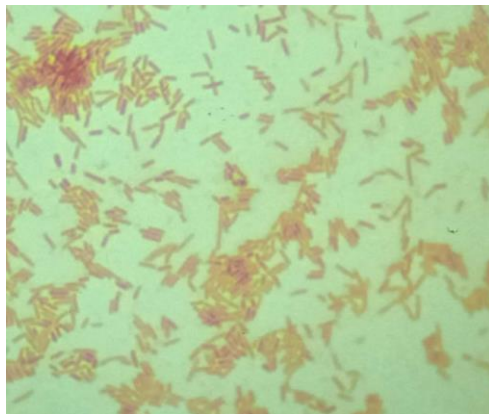
		
WT5	 	<ol style="list-style-type: none">1. Pewarnaan Gram = Merah2. Katalase = Positif <p>PERBESARAN 1000X</p> <ol style="list-style-type: none">3. Bentuk koloni batang

		
WT 6	 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pewarnaan gram = Ungu 2. Endospore = Merah 3. Katalase = Negatif <p>PERBESARAN 1000X</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. Produksi gas 5. Bentuk koloni batang <p>Keterangan : Homofermentatif (tidak ada gas) Heterofermentatif (ada gas)</p>

	  	
WT 7		<ol style="list-style-type: none"> 1. Pewarnaan gram = Ungu 2. Endospore = Merah 3. Katalase = Negatif PERBESARAN 1000X 4. Produksi gas 5. Bentuk

	   	<p>koloni batang</p> <p>Keterangan : Homofermentatif (tidak ada gas) Heterofermentatif (ada gas)</p>
--	---	---

WT 8



1. Pewarnaan

Gram =

Merah

2. Katalase =

Positif

PERBESARAN

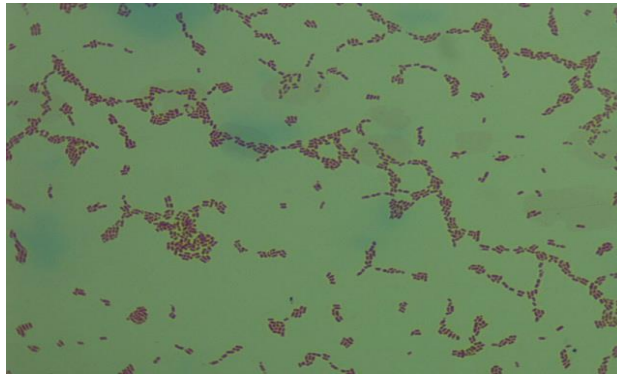
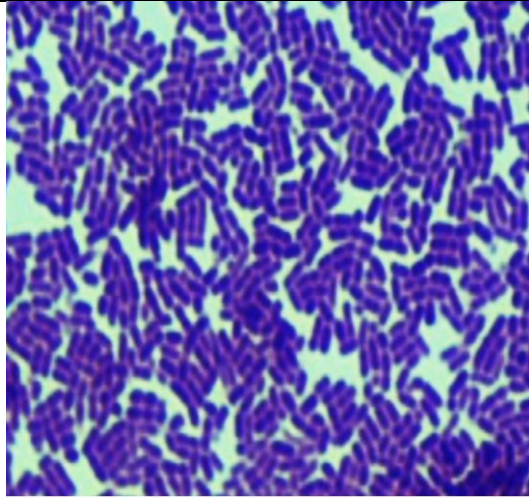
1000X

3. Bentuk

koloni

batang

WT 9

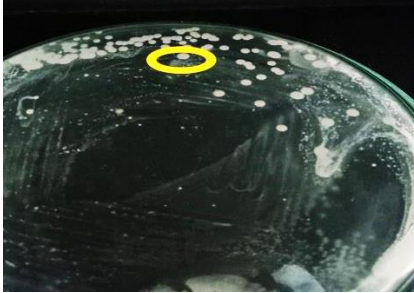
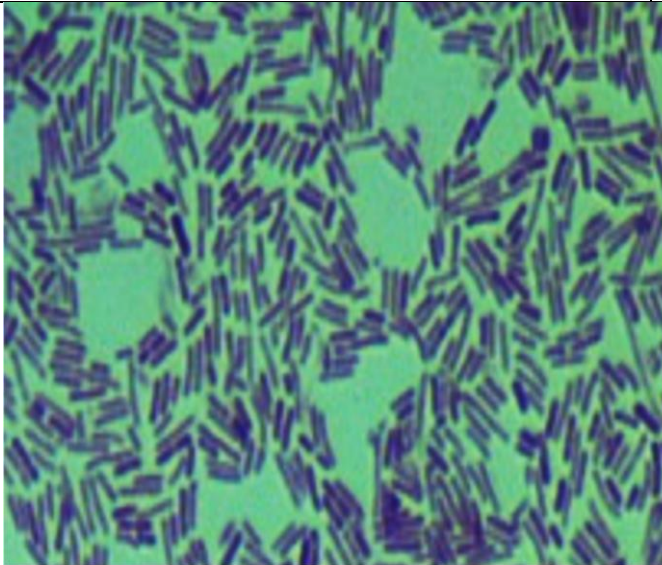



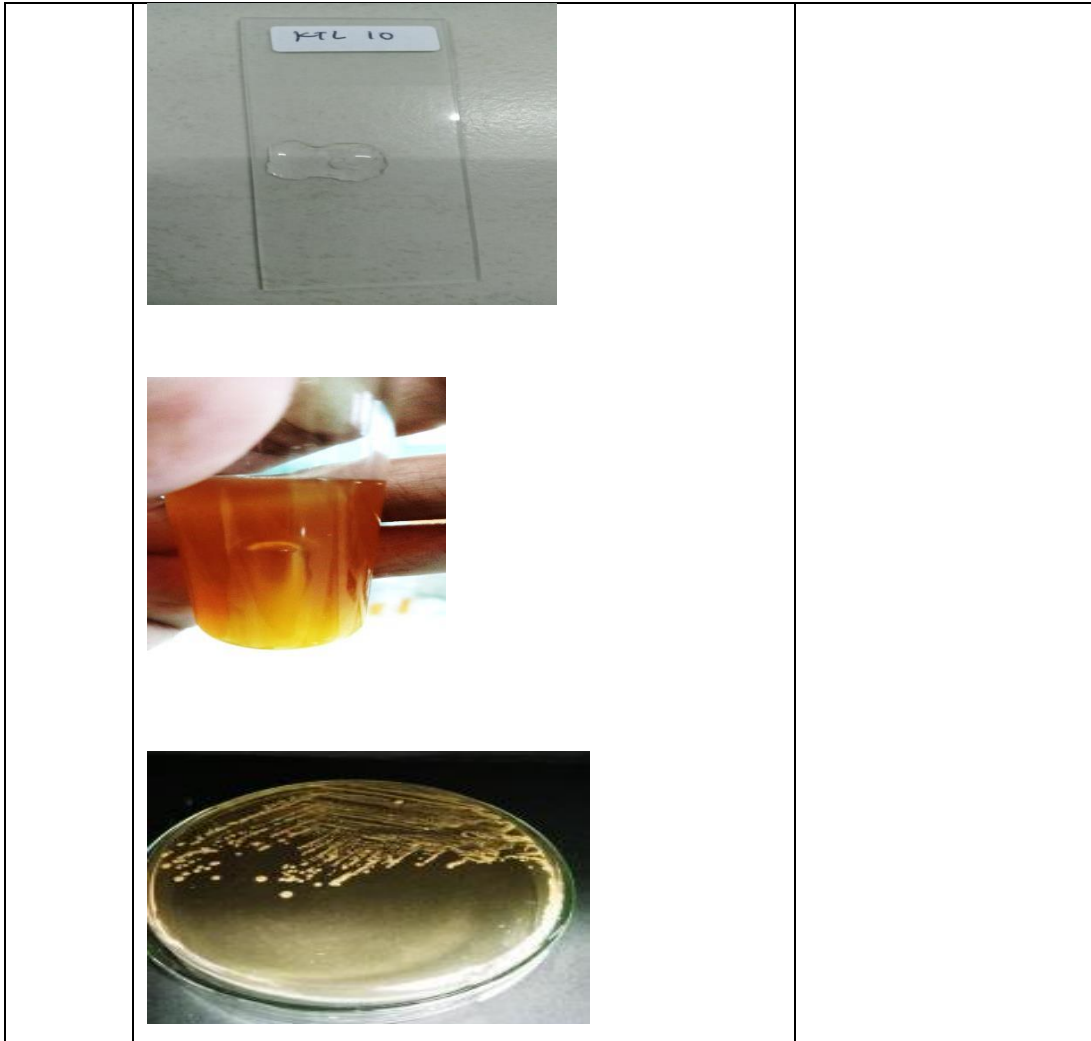
1. Pewarnaan gram = Ungu
2. Endospore = Merah
3. Katalase = Negatif
PERBESARAN 1000X
4. Tidak Produksi gas
5. Bentuk koloni batang

Keterangan :

Homofermentatif
(tidak ada gas)

Heterofermentatif (ada gas)

		
WT 10	 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pewarnaan gram = Ungu 2. Endospore = Merah 3. Katalase = Negatif <p>PERBESARAN 1000X</p> <ol style="list-style-type: none"> 4. Tidak Produksi gas 5. Bentuk koloni batang <p>Keterangan : Homofermentatif (tidak ada gas) Heterofermentatif (ada gas)</p>





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Alawiyatul Himmah M
NIM : 17620113
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA 2020/2021
Pembimbing : Ir.Lilieek Harianie AR, M.P
Judul Skripsi : Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Whey Tahu Serta Uji Potensi Probiotik

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD Pembimbing
1.	08 /03/2021	Konsultasi mengenai judul penelitian BAB I,II,III	<i>HL</i>
2.	15/03/ 2021	Konsultasi dan revisi BAB I,II,III	<i>HL HL</i>
3.	12/04/2021	Konsultasi dan revisi BAB I,II,III	<i>HL HL</i>
4.	03/05/2021	Konsultasi dan revisi BAB I,II,III	<i>HL HL</i>
5.	25/05/2021	Konsultasi dan revisi BAB I,II,III	<i>HL HL</i>
6.	31/05/2021	Konsultasi dan ACC BAB I,II,III	<i>HL HL</i>
7.	22/11/2021	Konsultasi BAB I,II,III,IV,V	<i>HL HL</i>
8.	30/11/2021	Revisi BAB I,II,III,IV,V	<i>HL HL</i>
9.	6/12/2021	Konsultasi BAB I,II,III,IV,V	<i>HL HL</i>
10.	6/12/2021	ACC	<i>HL HL</i>
11.	21/12/2021	Konsultasi dan revisi pasca sidang	<i>HL HL</i>
12	24/12/2021	ACC naskah skripsi	<i>HL HL</i>

Pembimbing Skripsi,

Ir.Lilieek Harianie AR, M.P
NIP: 19620901 199803 2 001

Malang, 24 Desember 2021
Ketua Program Studi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Alawiyatul Himmah M
NIM : 17620113
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA 2020/2021
Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M.PdI
Judul Skripsi : Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Whey Tahu Serta Uji Potensi Probiotik

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	TTD Pembimbing
1.	08 /04/2021	Konsultasi integrasi Al-Quran proposal skripsi BAB I & II	
2.	13/04/ 2021	ACC Integrasi Al-Quran proposal skripsi	
3.	22/11/2021	Konsultasi integrasi Al-Quran proposal skripsi BAB I, II dan IV	
4.	29/11/2021	ACC Integrasi Al-Quran proposal skripsi	
5.	20/12/2021	Konsultasi dan ACC naskah skripsi	

Pembimbing Skripsi,

Oky Bagas Prasetyo, M.PdI
NIDT: 19890113 20180201 1244

Malang, 23 Desember 2021
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.19741018 200312 2 002




KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi Seminar Proposal

Nama : Alawiyatul Himmah M
NIM : 17620113
Judul Skripsi : Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Whey Tahu Serta Uji Potensi Probiotik

No	Tim Cek Plagiasi	Tgl Cek	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc			
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc			
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si			
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc	8-12-2021	24 %	

Mengetahui,
Ketua Program Studi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
 NIP. 19741018 200312 2 002