

**IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA KEFIR
SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA DI KECAMATAN
DAU KABUPATEN MALANG**

SKRIPSI

Oleh :

AHMAD NUR HABIB RAHMATULLAH

NIM. 19910011



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG**

2023

**IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA KEFIR
SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA DI KECAMATAN
DAU KABUPATEN MALANG**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :

**Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)**

Oleh :

AHMAD NUR HABIB RAHMATULLAH

NIM. 19910011

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG**

2023

**IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA KEFIR
SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA DI KECAMATAN
DAU KABUPATEN MALANG**

SKRIPSI

Oleh :

AHMAD NUR HABIB RAHMATULLAH
NIM. 19910011

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji

Tanggal : 8 Juni 2023

Pembimbing I



dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed
NIP. 198105182011012000

Pembimbing II



Larasati Sekar Kinasih, M.Gz
NIP. 19921124201911202267

Mengetahui
Kepala Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed
NIP. 198105182011012000

**IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA KEFIR
SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA DI KECAMATAN
DAU KABUPATEN MALANG**

SKRIPSI

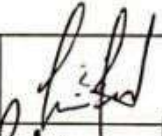
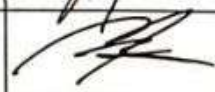
Oleh :

AHMAD NUR HABIB RAHMATULLAH

NIM. 19910011

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)

Tanggal : 16 Juni 2023

Penguji Utama	<u>dr. Alvi Milliana, M.Biomed</u> NIP. 198204042011012011	
Penguji Integrasi Islam	<u>Dr. dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed</u> NIP. 198209242008012010	
Ketua Penguji	<u>Larasati Sekar Kinasih, M.Gz</u> NIP. 19921124201911202267	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed</u> NIP. 198105182011012000	

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed
NIP. 198105182011012000

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Kedua orang tua saya, Bapak Mohammad Sholeh dan Ibu Lilik Fauziyah
2. Saudara saya, Fadhil Alief Mohammad, Muhammad Hasyim Mahfudz, dan Ziyana Nurushofa
3. Guru-guru saya sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi
4. Almamater Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama ; Ahmad Nur Habib Rahmatullah
NIM : 19910011
Program Studi : Pendidikan Dokter
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan sata, 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 jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 16 Juni 2023

Yang membuat pernyataan,



Ahmad Nur Habib Rahmatullah
NIM. 19910011

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirabbil alamin,

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya, shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Rasulullah SAW yang mengantarkan manusia dari zaman kegelapan hingga zaman yang terang benderang ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik sebagai langkah awal untuk dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak dapat terselasikan tanpa dukungan dari berbagai pihak baik moril maupun materil. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis juga ingin mengucapkan banyak terimakasih seiring doa dan harapan, *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, terutama kepada :

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W, M.Kes, Sp.Rad (K) selaku Dekan FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed, selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Yossi Indra Kusuma, S.Ked., M.Med., Ed, selaku Sekretaris Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. dr. Alvi Milliana, M.Biomed, selaku penguji utama skripsi yang telah memberikan masukan dan ilmunya yang sangat berarti bagi penulis

6. dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed, selaku pembimbing skripsi utama yang telah mencurahkan banyak waktu dan ilmunya
7. Larasati Sekar Kinasih, M.Gz, selaku pembimbing skripsi kedua dan dosen pembimbing akademik atas segala waktu, ilmu, dan bimbingannya.
8. Segenap sivitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter terutama seluruh dosen atas segala ilmunya.
9. Ayah, Ibu, Mas Fadhil, Hasyim, dan Ziyana yang senantiasa memberikan doa, restu, serta dukungan secara moril dan materiil yang tiada hentinya dalam menuntut ilmu dan menyelesaikan skripsi ini.
10. Teman-teman Genomous 2019 yang selalu menyemangai dan menjadi tempat berbagi di FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
11. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan yang memerlukan kritik dan saran dari pembaca. Penulis berharap semoga karya ini dapat bermanfaat bagi berbagai pihak khususnya bagi penulis.

Semoga ilmu yang terdapat dalam skripsi ini menjadi ilmu yang barokah.

Amin Yaa Rabbal Alamin.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Malang, 16 Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
ABSTRAK	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kefir.....	6
2.1.1 Jenis Jenis Kefir	7
2.1.2 Manfaat Kefir dalam Kesehatan.....	9
2.2 Susu Kambing	11
2.2.1 Komposisi Susu Kambing.....	13
2.2.2 Manfaat Susu Kambing untuk Kesehatan.....	14
2.3 Bakteri Asam Laktat.....	15
2.3.1 Klasifikasi	15
2.4 Faktor Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat	33
2.5 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat.....	34
2.6 Kerangka Teori.....	37
BAB III KERANGKA KONSEP	
3.1 Kerangka Konsep	38
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	39

4.2	Tempat dan Waktu	39
4.3	Alat dan Bahan	39
4.3.1	Alat.....	39
4.3.2	Bahan	39
4.4	Prosedur Penelitian.....	40
4.4.1	Sterilisasi Alat dan Bahan.....	40
4.4.2	Pembuatan Media	40
4.4.3	Pembuatan Sampel.....	40
4.4.4	Isolasi Bakteri Asam Laktat.....	40
4.4.5	Pemurnian Isolat Bakteri Asam Laktat.....	41
4.4.6	Karakterisasi Morfologi Makros dan Mikros Bakteri Asam Laktat.....	41
4.5	Analisis Data	44
4.6	Diagram Alur Penelitian.....	44
 BAB V HASIL PENELITIAN		
5.1	Identifikasi Bakteri Asam Laktat Pada Kefir Susu Kambing.....	45
5.1.1	Identifikasi Bakteri Secara Makroskopis	45
5.1.2	Identifikasi Bakteri Secara Mikroskopis.....	46
5.1.3	Identifikasi Bakteri dengan Uji Biokimia	48
 BAB VI PEMBAHASAN		
6.1	Karakteristik Bakteri Asam Laktat Pada Kefir Susu Kambing	52
6.1.1	Pewarnaan Gram	53
6.1.2	Pewarnaan Endospora	54
6.1.3	Uji Katalase	55
6.1.4	Uji Tipe Fermentasi.....	56
6.1.5	Uji MR	57
6.2	Karakterisasi Genus Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Buku <i>Lactic Acid Bacteria Biodiversity and Taxonomy (2014)</i>	58
6.3	Integrasi Islam	59
 BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN		
7.1	Kesimpulan.....	62
7.2	Saran	62
DAFTAR PUSTAKA		63

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbandingan Komposisi Kimia Susu Kambing dan Susu Sapi	14
Tabel 2.2 Karakteristik Genus <i>Lactobacillus</i>	17
Tabel 2.3 Karakteristik Genus <i>Pediococcus</i>	18
Tabel 2.4 Karakteristik Genus <i>Streptococcus</i>	20
Tabel 2.5 Karakteristik Genus <i>Lactovum</i>	20
Tabel 2.6 Karakteristik Genus <i>Leuconostoc</i>	22
Tabel 2.7 Karakteristik Genus <i>Fructobacillus</i>	23
Tabel 2.8 Karakteristik Genus <i>Oenococcus</i>	24
Tabel 2.9 Karakteristik Genus <i>Weissella</i>	25
Tabel 2.10 Karakteristik Genus <i>Abiotrophia</i>	26
Tabel 2.11 Karakteristik Genus <i>Aerococcus</i>	27
Tabel 2.12 Karakteristik Genus <i>Carnobacterium</i>	28
Tabel 2.13 Karakteristik Genus <i>Marinilactobacillus</i>	28
Tabel 2.14 Karakteristik Genus <i>Trichococcus</i>	29
Tabel 2.15 Karakteristik Genus <i>Enterococcus</i>	31
Tabel 2.16 Karakteristik Genus <i>Tetragenococcus</i>	32
Tabel 2.17 Karakteristik Genus <i>Vagococcus</i>	32
Tabel 6.1 Karakteristik Morfologi Koloni BAL dari Kefir Susu Kambing	52
Tabel 6.2 Hasil Pewarnaan Gram Isolat BAL dari Kefir Susu Kambing	54
Tabel 6.3 Hasil Pewarnaan Endospora Isolat BAL dari Kefir Susu Kambing	55
Tabel 6.4 Hasil Uji Katalase Isolat BAL dari Kefir Susu Kambing	56
Tabel 6.5 Hasil Uji Tipe Fermentasi Isolat BAL dari Kefir Susu Kambing	57
Tabel 6.6 Hasil Uji MR Isolat BAL dari Kefir Susu Kambing	57
Tabel 6.7 Rangkuman Karakteristik BAL pada Kefir Susu Kambing	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 5.1 Isolat Bakteri	46
Gambar 5.2 Hasil Pengamatan Mikroskop Pewarnaan Gram.....	47
Gambar 5.3 Hasil Pengamatan Mikroskop Pewarnaan Endospora.....	48
Gambar 5.4 Hasil Uji Katalase	49
Gambar 5.5 Hasil Uji Tipe Fermentasi	50
Gambar 5.6 Hasil Uji MR	51

DAFTAR SINGKATAN

BAL	:	Bakteri Asam Laktat
MRSA	:	de Man Rogosa Sharpe Agar
MRSB	:	de Man Rogosa Sharpe Broth
MR-VP	:	Methyl Red-Voges Proskauer
CaCO ₃	:	Kalsium Karbonat
H ₂ O ₂	:	Hidrogen Peroksida
NaCl	:	Natrium Klorida
pH	:	Power of Hydrogen

IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA KEFIR SUSU KAMBING PERANAKAN ETAWA DI KECAMATAN DAU KABUPATEN MALANG

Ahmad Nur Habib, Tias Pramesti Griana, Larasati Sekar Kinasih

Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Kefir susu kambing merupakan salah satu produk makanan hasil fermentasi yang dibuat dengan bahan dasar biji kefir dan susu kambing peranakan etawa. Susu kambing menjadi pilihan karena memiliki kadar laktosa yang rendah sehingga cocok untuk pengidap gangguan intoleransi laktosa. Biji kefir mengandung bakteri asam laktat dan khamir. Bakteri asam laktat atau BAL memiliki manfaat yaitu menghasilkan antimikroba yang dapat digunakan sebagai minuman probiotik. Minuman probiotik mengandung mikroorganisme hidup yang bermanfaat menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui genus bakteri asam laktat pada kefir susu kambing peranakan etawa di Kecamatan Dau, Kabupaten Malang. Penelitian diawali dengan pembuatan sampel kefir susu kambing yang dipasteurisasi dengan suhu 60°C selama 30 menit dan dilakukan fermentasi selama 48 jam. Kemudian, BAL diisolasi dengan menggunakan media MRS agar yang disuplemen dengan CaCO₃ 1% dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Adapun pengujian yang dilakukan yaitu pewarnaan gram, pewarnaan endospora, uji katalase, uji tipe fermentasi dan uji MR (Methyl Red). Penelitian ini berhasil memperoleh 3 isolat yang sesuai dengan karakteristik umum BAL, yaitu Gram positif berbentuk batang, tidak membentuk spora, dan bersifat katalase negatif. Semua isolat bersifat non motil dan homofermentatif. Hasil karakterisasi menunjukkan ketiga isolat termasuk dalam genus *Lactobacillus*

Kata Kunci : *Bakteri asam laktat, kefir susu kambing peranakan etawa, karakterisasi, Lactobacillus*

IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA IN ETAWA CROSS-BREED GOAT'S MILK KEFIR IN DAU DISTRICT, MALANG REGENCY

Ahmad Nur Habib, Tias Pramesti Grian, Larasati Sekar Kinasih

Medicine Program, Faculty Health and Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic
University, Malang

ABSTRAK

Goat milk kefir is a fermented food product made with the basic ingredients of kefir seeds and Etawa crossbreed goat milk. Goat milk is the choice because it has low lactose levels making it suitable for people with lactose intolerance. Kefir grains contain lactic acid bacteria and yeast. Lactic acid bacteria or LAB have the benefit of producing antimicrobials that can be used as probiotic drinks. Probiotic drinks contain live microorganisms that are beneficial for balancing the microflora in the digestive tract. The purpose of this study was to determine the genus of lactic acid bacteria in the milk kefir of Etawa breeders in Dau District, Malang Regency. The research was started by preparing samples of goat's milk kefir which was pasteurized at 60°C for 30 minutes and fermented for 48 hours. Then, LAB was isolated using MRS agar media supplemented with 1% CaCO₃ and incubated for 48 hours at 37°C. The tests carried out were gram staining, endospore staining, catalase test, fermentation type test and MR (Methyl Red) test. This study succeeded in obtaining 3 isolates that matched the general characteristics of LAB, namely Gram-positive rods, did not form spores, and were catalase negative. All isolates are non-motile and homofermentative. The characterization results showed that the three isolates belonged to the genus *Lactobacillus*

Keywords: *Lactic acid bacteria, Etawa cross-breed goat milk kefir, characterization, Lactobacillus*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Prevalensi penyakit degeneratif dari waktu ke waktu yang semakin bertambah menjadi permasalahan kesehatan di Indonesia. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riset Kesehatan Dasar) tahun 2018 menyatakan penduduk Indonesia yang menderita hipertensi sebesar 34,1%, obesitas sebesar 21,8%, stroke sebesar 10,8%, penyakit sendi 7,3%, penyakit ginjal kronis sebesar 3,8%, diabetes sebesar 2%, kanker sebesar 1,8%, penyakit jantung sebesar 1,5% (Kemenkes, 2018). Meningkatnya prevalensi penyakit degeneratif sejalan dengan meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan, menyebabkan terjadi perubahan pola hidup dalam segi konsumsi pangan, dalam hal ini masyarakat mulai banyak mengkonsumsi pangan fungsional, yaitu bahan pangan yang mengandung komponen tertentu yang memberikan manfaat bagi kesehatan tubuh. Komponen tersebut misalnya serat pangan, inulin, antioksidan, prebiotik, probiotik, frukto-oligosakarida, dan asam lemak tak jenuh (Suter, 2013). Pangan fungsional ini dapat memberikan peranan penting dalam kesehatan. Pangan fungsional memiliki fungsi fisiologis dan manfaat terhadap imunitas tubuh dan kesehatan individu (Yuniastuti, 2014)

Kefir merupakan salah satu contoh pangan fungsional. Kefir merupakan minuman susu yang telah difermentasi menggunakan biji kefir yang mengandung bakteri asam laktat dan khamir. Produk hasil olahan dari susu ini dapat memberikan pengaruh yang baik terhadap kesehatan tubuh karena mengandung mikroba yang

dapat menghambat bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Kinteki, Rizqianti dan Hintono, 2018). Bahan baku minuman kefir dapat menggunakan susu sapi dan kambing yang telah difermentasi selama 24 jam pada suhu sekitar 30 derajat celcius dengan menggunakan biji kefir (Aryanta, 2021).

Susu kambing dipercaya memiliki nilai kandungan gizi yang tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Buckle (1984) Secara universal susu kambing memiliki komposisi 3,40% protein, 3,90% lemak, 4,80% laktosa, 0,72% abu, serta 7,10% air. Susu kambing memiliki karakteristik yang unik yaitu dengan adanya aroma bau prengus yang berasal dari asam lemak rantai pendek (asam asetat, propionat, biturat). Asam lemak rantai pendek tersebut dapat memperbaiki kondisi lingkungan saluran pencernaan (Iacob dan Luminos, 2019), sehingga membuat susu kambing cocok untuk digunakan sebagai bahan baku kefir (Cais-Sokolińska dkk., 2015).

Pemanfaatan susu kambing untuk dijadikan kefir merupakan interpretasi dari lafadz Allah pada Al Quran Surat An Nahl ayat 66 yaitu

وَأَنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً ۚ نُسْقِيكُمْ مِمَّا فِي بُطُونِهِ مِنْ بَيْنِ فَرْثٍ وَدَمٍ لَبَنًا خَالِصًا سَائِغًا يَلْشَرِبِينَ

”Dan sungguh, pada hewan ternak itu benar-benar terdapat pelajaran bagi kamu. Kami memberimu minum dari apa yang ada dalam perutnya (berupa) susu murni antara kotoran dan darah, yang mudah ditelan bagi orang yang meminumnya” (Q.S An Nahl: 66).

Pada ayat tersebut dijelaskan bahwa Allah telah memberikan nikmat berupa susu dari hewan ternak yang bisa dimanfaatkan oleh manusia untuk dikonsumsi. Selain itu susu kambing tidak hanya langsung dikonsumsi akan tetapi bisa dijadikan berbagai produk salah satunya yaitu kefir.

Biji kefir mengandung campuran mikroba yang terdiri dari bakteri asam laktat (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter*, dan *Streptococcus spp.*) dan khamir (*Kluyveromyces*, *Torula*, *Candida* dan *Saccharomyces spp.*) yang hidup

saling bergantung antara satu dengan lainnya. Mikroba ini kemudian mensekresikan suatu polisakarida yaitu eksopolisakarida yang mengandung D-glukosa dan D-glukogalaktan yang larut air. Eksopolisakarida memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai antitumor, penurun kolesterol, dan imunomodulator. (Mundiri, Megantara and Anggaeni, 2020; Griana, 2018)

Kefir yang menggunakan bahan dasar susu kambing tidak hanya mengandung zat gizi makro akan tetapi dapat juga menurunkan kadar laktosa. Hal ini sesuai dengan penelitian Chen dkk (2005) kefir dapat menurunkan laktosa susu secara signifikan dari 3,29% menjadi 2,45%. Laktosa pada susu dapat diubah oleh bakteri asam laktat yang terkandung dalam biji kefir (Putri, 2019). Penurunan laktosa tersebut dapat memberikan manfaat pada pasien dengan intoleransi laktosa susu. Selain itu kefir juga mempermudah sistem pencernaan dengan sifatnya yang lebih mudah dicerna dibandingkan dengan susu biasa karena selama proses fermentasi sebagian protein mengalami proses hidrolisis menjadi peptida dan asam amino (Fanani dan Thohari, 2018; Susilawati dkk. 2018).

Laktosa merupakan bentuk disakarida dari karbohidrat yang dapat dipecah menjadi galaktosa dan glukosa. Laktosa terdapat dalam susu dan menyumbang 2-8 % bobot keseluruhan. Untuk mencerna susu digunakan enzim laktase. Perubahan laktosa menjadi asam laktat karena adanya aktivitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat serta senyawa yang terkandung dalam susu seperti, albumin, kasein, sitrat dan fosfat (Ernawati, 2010). Menurut Prangdimurti (2001) perubahan laktosa menjadi asam laktat dibantu oleh peran bakteri asam laktat.

Manfaat bakteri asam laktat yaitu menghasilkan antimikroba yang dapat digunakan sebagai probiotik. Produk makanan atau minuman probiotik yang telah

lama dikenal yaitu produk susu fermentasi oleh bakteri asam laktat salah satunya yaitu kefir. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi memberikan efek baik pada tubuh dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam saluran pencernaan. Manfaat kesehatan tersebut dapat diperoleh karena bakteri asam laktat hidup di saluran pencernaan sehingga dapat memperbaiki komposisi mikroflora di usus (Prangdimurti, 2001).

Kemudahan untuk memperoleh bakteri asam laktat (BAL) dan didukung dengan penggunaan teknologi yang sederhana untuk proses fermentasi. Hal ini dapat mendorong industri rumahan lebih maju yang dapat meningkatkan kesejahteraan masyarakat luas (Migsiyarta dan Widowati, 2002). Sementara ini penelitian tentang identifikasi bakteri asam laktat (BAL) pada kefir susu kambing pernah dilakukan pada jenis kambing saanen dengan menghasilkan genus *Enterococcus* (Rumaisha dkk, 2021). Oleh karena itu penelitian tentang “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Kefir Susu Kambing Peranakan Etawa Di Kecamatan Dau Kabupaten Malang” dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan starter BAL yang unggul.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apa genus bakteri asam laktat yang terdapat pada kefir susu kambing peranakan etawa di Kecamatan Dau Kabupaten Malang?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui genus bakteri asam laktat yang terdapat pada kefir susu kambing peranakan etawa di Kecamatan Dau, Kabupaten Malang.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang mikrobiologi dengan tambahan informasi mengenai genus bakteri asam laktat yang terdapat pada kefir susu kambing peranakan etawa.
2. Memberikan informasi kepada produsen dan konsumen mengenai manfaat dan kandungan bakteri asam laktat pada kefir susu kambing peranakan etawa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kefir

Kefir merupakan produk susu fermentasi dengan rasa sedikit asam, dan memiliki aroma alami. Susu fermentasi jenis ini mengandung campuran khusus mikroflora simbiotik dalam matriks karbohidrat-polisakarida. Kata kefir berasal dari bahasa Turki yang berarti “kesejahteraan” karena mengandung campuran asam laktat dan mikroflora penghasil etanol (Jianzhong dkk., 2009). Produk ini dikenal di berbagai daerah dengan sebutan kefir, kefir, kiaphur, kefer, kepi, knapon, dan kippi. Perbedaan utama antara kefir dan susu fermentasi tradisional lainnya adalah terdapat pada mikroflora (Malbasa dkk., 2009). Mikroflora ini juga dapat diisolasi, diperbanyak dan digunakan untuk fermentasi lebih lanjut. (Marshall dan Cole, 1985). Butir kefir dapat dicirikan sebagai kembang kol kecil dengan panjang 10-30 mm, bentuknya tidak beraturan, berwarna putih atau kekuningan, bersisik, bertekstur keras, dan berlendir (Plessas dkk., 2007). Biji-bijian ini merupakan sumber bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan sel ragi yang tertanam dalam campuran kasein, gula kompleks, dan polisakarida. Mikroorganisme dalam biji kefir memiliki kemampuan untuk menghasilkan asam organik lemah, antibiotik dan berbagai zat bakterisidal; Zat ini memiliki efek mematikan pada mikroorganisme patogen (Angulo dkk., 1993). Bakteri dan yeast yang telah dikenali dalam butiran kefir adalah *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefir*,

Kluyveromyces lactis, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces lipolytica*, *Kazachstania aerobia*, dan *Pichia fermentans* (Magalhaes dkk., 2010)

Kefir termasuk komponen eksopolisakarida yang memiliki manfaat dalam nutrisi dan kesehatan manusia. Kefir telah dikenal di sebagian besar wilayah di dunia seperti Asia Tengah, Asia Barat, Timur Tengah, Amerika Utara, Eropa Utara dan Timur (Piermaria dkk., 2009). Kefir dapat digunakan sebagai profilaksis untuk mengurangi ancaman penyakit kronis, dan sering disarankan untuk penyembuhan penyakit gastrointestinal, penyakit arteri koroner, alergi, dan hipertensi (Farnworth dan Mainville, 2003). Berdasarkan klaim kesehatan dan nutrisi, kefir dapat diklasifikasikan sebagai sumber probiotik utama (Yang dkk., 2010).

Kefir mengandung semua nutrisi penting. Kadar air adalah komponen utama (86,3%) diikuti oleh gula, protein, abu, lemak (Liut Kevicius dan Sarkinas, 2004), dengan sedikit alkohol dan asam laktat (Webb dkk., 1987). Kandungan karbondioksida dalam produk kefir yang difermentasi tergantung pada butiran kefir dan meningkat seiring dengan peningkatan kadar butiran kefir dalam produk. Konsentrasi karbondioksida yang diinginkan dapat mencapai 1,98 g/L. Produk lain yang terbentuk selama fermentasi adalah asam laktat, asam asetat, asam piruvat, asam hipurat, asam propionat, diasetil asam butirat dan *acetaldehyde* yang juga menambah rasa dan aroma pada produk (Beshkova dkk., 2002).

2.1.1 Jenis Jenis Kefir

Kefir memiliki berbagai jenis yaitu kefir prima, kefir optima, kefir whey, kefir medika, kefir soya dan kefir kolsotrum (Komunistas Kefir Indonesia, 2016)

2.1.1.1 Kefir Optima

Kefir optima adalah kefir yang tidak memiliki proses pemisahan antara lapisan *whey* atau bening dengan lapisan *curd* atau padatan. Kefir optima didapatkan dengan fermentasi melalui kefir prima atau menggunakan bibit praktis yaitu penggunaan ulang kefir optima sebagai starter. Bibit praktis tidak boleh digunakan lebih dari tiga kali untuk menghindari penurunan kualitas kefir. Untuk menghasilkan kualitas yang baik maka pada saat proses penyaringan pertama menggunakan saringan yang memiliki diameter 2 mm. Kemudian pada saringan kedua bisa menggunakan saringan yang memiliki diameter lebih kecil untuk menghasilkan tekstur kefir yang halus (Muizuddin dan Zubaidah, 2015)

2.1.1.2 Kefir Prima

Kefir Prima adalah kefir yang dihasilkan dalam proses pemisahan bagian bening pada kefir whey. Kefir ini juga bisa digunakan sebagai bibit praktis yang kemudian bisa digunakan untuk menghasilkan kefir optima. Kefir prima memiliki kandungan yang komplit dan memiliki karakter yang cukup kental dan beraroma. Kefir ini lebih mudah diterima oleh masyarakat. Fermentasi pada kefir prima dilakukan selama 2 x 24 jam (Heidi dkk., 2011).

2.1.1.3 Kefir Whey

Kefir whey dapat dihasilkan ketika proses pembuatan kefir yang membentuk whey. Kefir whey memiliki kandungan isotonik yang sesuai dengan cairan tubuh manusia sehingga kefir ini dapat mengatasi dehidrasi dan dapat digunakan sebagai bahan pengganti oralit (Freddy, 2010). Menurut Deat-Laine dkk (2012) kefir whey bisa digunakan sebagai asupan insulin oleh penderita diabetes. Selain itu kefir whey juga bisa digunakan sebagai bahan pengganti cuka dapur yang bermanfaat mengurangi iritasi pada lambung.

2.1.1.4 Kefir Medika

Kefir medika memiliki gambaran yang sama seperti kefir prima akan tetapi kefir medika memiliki karakter lebih cair dan rasa yang lebih asam. Pada proses pembuatan kefir medika tidak memisahkan antara lapisan padatan (curd) dan lapisan whey sehingga memiliki rasa asam yang lebih tajam. Kefir medika dilakukan fermentasi selama 48-72 jam

2.1.1.5 Kefir Soya

Kefir soya adalah kefir yang diproduksi dari bahan dasar utama susu kedelai sekitar 70% dan susu sapi sekitar 30%. Kefir soya memiliki kadar laktat yaitu 0,8-1,1%. Kefir soya ini menunjukkan bahwa susu kedelai memiliki potensi sebagai pengganti susu sapi dan susu kambing sebagai bahan utama pembuatan kefir. Kefir soya memiliki kandungan yaitu lecithin yang bermanfaat untuk pasien penyakit jantung koroner (Arini dkk., 2003)

2.1.1.6 Kefir Kolostrum

Kefir kolostrum dapat dihasilkan dari fermentasi biji kefir dengan kolostrum sapi atau susu pertama yang dihasilkan sapi. Kolostrum sapi memiliki tekstur sangat kental dan berlendir. Kolostrum yang mengandung 30mg/g atau 3% IgG yang dapat digunakan untuk pembuatan kefir (Santoso, 1998)

2.1.2 Manfaat Kefir dalam Kesehatan

Secara umum kefir sangat bermanfaat bagi kesehatan, terdapat banyak zat gizi pada minuman fermentasi ini terutama protein dengan asam amino esensial, serta bermacam macam vitamin dan mineral yang dibutuhkan tubuh untuk meningkatkan imunitas dan kesehatan fisik. Selain itu kefir juga mengandung banyak senyawa bioaktif yang bersifat antiinflamasi, antialergi, antiobesitas,

antimikroba dan antikanker yang bermanfaat untuk mengatasi berbagai penyakit (Leech, 2018).

2.1.2.1 Manfaat pada Kolesterol Darah

Penyakit kardiovaskular adalah salah satu penyebab utama kematian di dunia, dengan kadar kolesterol serum yang tinggi menjadi faktor risiko utama penyakit ini. Diet dapat memainkan peran utama dalam pengelolaan kadar kolesterol serum (WHO, 1982). Telah terbukti bahwa susu, khususnya susu fermentasi mampu menurunkan kadar kolesterol serum, baik pada hewan coba maupun manusia. (St-Onge, Farnworth and Jones, 2000). Nutraceutical dalam kefir atau zat yang memiliki manfaat fisiologis, salah satunya eksopolisakarida yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat membantu menurunkan kolesterol total, trigliserida, dan kolesterol lipoprotein densitas rendah. Mekanisme penurunan kolesterol tersebut melalui beberapa cara, melalui pengikatan dan penyerapan kedalam sel sebelum dapat diserap kedalam tubuh, melalui produksi asam empedu bebas dan dekonjugasi asam empedu, dan melalui penghambatan enzim HMG-CoA reduktase

Menurut penelitian oleh Leite (2013) dua zat yaitu asam orotik dan hidroksimetilglutarat dianggap mampu menghambat enzim HMG-CoA reduktase dalam sintesis kolesterol. Mekanisme dekonjugasi asam empedu dilakukan dengan meningkatkan pembentukan asam empedu baru yang diperlukan untuk menggantikan asam empedu yang lolos dari sirkulasi enterohepatik, sehingga dapat terjadi penurunan kadar kolesterol (Jhon dkk, 2015)

2.1.2.2 Manfaat pada Saluran Pencernaan

Bakteri dalam kefir berkoloni di usus dan menghasilkan faktor yang menguntungkan (probiotik). Spesies *Lactobacillus* yang diisolasi dari kefir memiliki

kemampuan untuk melawan bakteri patogen yang dapat menimbulkan penyakit yang mampu menempel pada sel seperti enterosit (Otle dkk, 2003). Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang memberikan efek manfaat pada *host*. FAO atau *The Food and Agriculture Organization* mendefinisikan probiotik sebagai mikroorganisme hidup yang bila diberikan dalam jumlah yang memadai memberikan manfaat kesehatan pada *host*. Bakteri *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* adalah probiotik yang paling umum digunakan tidak hanya untuk konsumsi manusia tetapi juga dalam sediaan farmasi atau biomedis (Ciszek, 2011). Salah satu kriteria utama pemilihan probiotik oral adalah kemampuannya untuk melekat pada mukosa usus sehingga memungkinkan kolonisasi sementara pada saluran pencernaan. Probiotik menjaga keseimbangan dalam ekosistem kompleks seperti usus manusia dengan banyak cara, penghambatan proliferasi patogen dengan kompetisi antara bakteri dan patogen untuk adhesi atau melekat pada sel usus, penekanan produksi faktor virulen oleh patogen yang mensekresi bakteriosin dan modulasi sistem kekebalan *host* melalui interaksi antara bakteri probiotik dan sel epitel usus (Arslan, 2015).

Bekar dkk (2011) melalui penelitiannya menemukan bahwa kefir menurunkan jumlah pasien yang terinfeksi *Helicobacter pylori* yang diobati dengan terapi tiga kali selama 14 hari. Produk ini juga dapat meningkatkan respon imun spesifik mukosa usus terhadap holotoksin kolera. Peningkatan sekresi imunoglobulin berhubungan dengan jumlah sel yang mensekresi antibodi yang lebih tinggi di jaringan limfoid pada usus.

2.2 Susu Kambing

Kambing hanya menghasilkan sekitar 2% dari total pasokan susu tahunan dunia. Akan tetapi, kontribusi global mereka terhadap gizi dan kesejahteraan ekonomi umat manusia sangat besar. Di seluruh dunia, lebih banyak orang minum susu kambing daripada susu spesies tunggal lainnya. Susu kambing memiliki keunggulan dibandingkan susu sapi atau manusia dalam memiliki daya cerna protein dan lemak yang lebih tinggi, alkalinitas, kapasitas buffer, dan nilai terapeutik tertentu dalam pengobatan dan nutrisi. Karena kurangnya ketersediaan susu sapi, susu kambing dapat menjadi sumber makanan sehari-hari yang penting dari protein, fosfat, dan kalsium di negara-negara berkembang. Dalam komposisi dasar, susu kambing dan susu sapi memiliki kandungan protein dan abu yang jauh lebih tinggi, tetapi laktosanya lebih rendah, daripada air susu ibu. Konstituen spesifik dan sifat fisikokimia berbeda antara susu kambing dan sapi (Park, 2004)

Susu kambing mirip dengan susu sapi dalam komposisi dasarnya. Susu kambing rata-rata mengandung 12,2% total padatan, terdiri dari 3,8% lemak, 3,5% protein, 4,1% laktosa, dan 0,8% abu. Ini memiliki lebih banyak lemak, protein, dan abu dan lebih sedikit laktosa daripada susu sapi. Susu kambing mengandung kasein total yang sedikit lebih sedikit, tetapi nitrogen nonprotein lebih tinggi daripada susu sapi. Susu kambing dan susu sapi memiliki kadar protein dan abu 3 sampai 4 kali lebih banyak daripada susu manusia. Total padatan dan nilai kalori susu kambing, sapi, dan manusia serupa (Park, 2004)

Kandungan lemak susu kambing berkisar antara 2,45-7,76%. Diameter rata-rata globul lemak untuk susu kambing, sapi, kerbau, dan domba dilaporkan masing-masing sebagai 3,49, 4,55, 5,92, dan 3,30 μ m. Gumpalan lemak yang lebih kecil membuat dispersi yang lebih baik dan campuran lemak yang lebih homogen dalam

susu kambing, membuat area permukaan lemak yang lebih besar untuk meningkatkan proses pencernaan oleh lipase (Park, 2004).

Ada lima protein utama dalam susu kambing: α_2 -kasein (α_2 -CN), β -kasein (β -CN), κ -kasein (κ -CN), β -laktoglobulin (β -Lg), dan α -laktalbumin (α -La). β -kasein adalah fraksi kasein utama dalam susu kambing, sedangkan α_1 -kasein adalah yang utama dalam susu sapi. Perbedaan komposisi asam amino antara fraksi kasein susu kambing jauh lebih besar daripada jenis susu lainnya. α -Kasein mengandung aspartat, lisin, dan tirosin lebih besar daripada β -kasein, sedangkan yang terakhir memiliki leusin, prolin, dan valin (Park, 2004).

2.2.1 Komposisi Susu Kambing

Park (2004) dalam jurnalnya melaporkan tentang perbandingan komposisi kimia antara susu kambing dan susu sapi sebagai berikut :

Tabel 2.1 Perbandingan komposisi kimia antara susu kambing dan susu sapi

Komposisi kimia	Susu Kambing	Susu Sapi
Protein (g)	3,5	3,3
Lemak (g)	3,8	3,6
Karbohidrat (g)	4,7	4,5
Laktosa (%)	4,1	4,6
Abu (g)	0,8	0,7
Kalori (g)	70	69
Kalsium (mg)	134	122
Fosfor (mg)	141	119
Magnesium (mg)	16	12
Kalium (mg)	181	152
Natrium (mg)	41	58
Besi (mg)	0,07	0,08
Mangan (mg)	0,032	0,02
Zinc (mg)	0,56	0,53
Iodin (mg)	0,022	0,021
Vitamin A (IU)	185	126
Vitamin D (IU)	2,3	2,0
Thiamin (mg)	0,068	0,045
Riboflavin (mg)	0,21	0,16
Niacin (mg)	0,27	0,08
Vitamin B6 (mg)	0,046	0,042
Asam Folat (μ g)	1,0	5,0
Vitamin B12 (μ g)	0,065	0,357
Vitamin C (mg)	1,29	0,94

Tabel 2.1 menunjukkan bahwa komposisi susu kambing memiliki berbagai komponen yang hampir sama dengan susu sapi. Susu kambing memiliki kandungan laktosa yang hanya 4,1% (Park, 2004). Susu kambing juga memiliki protein sekitar 3,8 % unggul dari susu sapi yang memiliki protein 3,3%. Selain itu vitamin C dan D pada susu kambing juga lebih tinggi dibanding susu sapi. Jika dilihat dari warna susu kambing memiliki warna lebih putih dibanding susu sapi. Susu kambing sehat bisa dilihat secara fisik melalui warna yaitu berwarna putih bersih, kekuningan dan buram (Sarwono, 2007)

2.2.2 Manfaat Susu Kambing untuk Kesehatan

Susu kambing memiliki kandungan *monounsaturated fatty acid* (MUFA), *polyunsaturated fatty acid* (PUFA), dan *medium chain trigliserida* (MCT) lebih tinggi dari sapi. Kandungan tersebut diketahui bermanfaat bagi kesehatan manusia, terutama untuk kondisi kardiovaskular. Keunggulan biomedis ini belum banyak diketahui dalam pemasaran susu kambing, yoghurt kambing, dan keju kambing, tetapi memiliki potensi besar yang termasuk keunikan susu kambing dalam kesehatan manusia dan obat-obatan (Babayan, 1981; Haenlein, 1992) untuk mengobati berbagai gangguan pencernaan. gangguan dan penyakit usus, selain khasiatnya dalam meredakan alergi susu sapi (Haenlein, 2004)

Susu kambing memiliki kandungan fluoride sekitar 10-100 kali lebih tinggi dari susu sapi. Fluoride membuat susu kambing memiliki manfaat berup antispetik alami yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri dalam tubuh. Susu kambing dikenal memiliki protein lunak yang memberikan manfaat pada tubub manusia sebahai pencahar ringan yang menyebabkan ketika dikonsumsi tidak menimbulkan diare. Susu kambing memiliki ukuran granula lemak 3,49 μm lebih rendah dari susu

sapi yang membuat lemak pada susu kambing lebih mudah dicerna karena memiliki tekstur yang halus dan lembut (Moeljanto dan Bernardinus, 2002)

2.3 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif yang memiliki karakteristik morfologis, metabolik, dan fisiologis. Gambaran umum bakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah gram positif, nonspora, kokus atau batang non-aerob, yang menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utama selama fermentasi karbohidrat. Istilah bakteri asam laktat (BAL) terkait erat dengan bakteri yang terlibat dalam fermentasi makanan, termasuk BAL juga terdapat pada permukaan mukosa (sehat) manusia dan hewan. Batas-batas kelompok ini telah menimbulkan beberapa kontroversi, tetapi secara historis genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Streptococcus* membentuk inti dari kelompok tersebut. Revisi taksonomi terbaru menunjukkan BAL terdiri dari sekitar 20 genus. Akan tetapi, dari sudut pandang teknologi makanan praktis, genus berikut ini dianggap sebagai BAL utama: *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella* (Axelsson, 2004)

2.3.1 Klasifikasi

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) termasuk dalam kelas Bacilli dari filum Firmicutes dan ordo Lactobacillales. Menurut Axelsson (2004) revisi taksonomi terbaru pada BAL terdiri dari sekitar 20 genus. Akan tetapi terdapat genus BAL yang dianggap genus utama yaitu, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*,

Oenococcus, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella*.

2.3.1.1 Lactobacillaceae

Lactobacillaceae adalah bakteri Gram positif. Pertumbuhan yang optimum berada pada kisaran pH 4-8 dan suhu 2°C sampai 53°C (Cai dkk., 2012). Lactobacillaceae terdiri dari dua genus dan yang umum dijumpai yaitu *Lactobacillus* dan *Pediococcus*. Lactobacillaceae adalah bakteri Gram positif, anaerob fakultatif, katalase negatif dan umumnya homofermentatif atau heterofermentatif. Bakteri dalam famili Lactobacillaceae mampu untuk memfermentasi karbohidrat menjadi laktat dan produk sampingan lainnya, seperti asetat, etanol, CO₂, format dan suksinat. Anggota famili ini termasuk bakteri yang sulit tumbuh di laboratorium karena memiliki kebutuhan nutrisi dan lingkungan yang terbatas. (Hammes and Hertel, 2015)

2.3.1.1.1 *Lactobacillus*

Anggota genus *Lactobacillus* tidak membentuk spora, sebagian besar tidak bergerak (non motil) dan umumnya berbentuk batang. Suhu pertumbuhan optimal sebagian besar antara 30° hingga 40°C. Meskipun suhu pertumbuhan keseluruhan dapat berkisar antara 2 hingga 53°C; kisaran pH untuk pertumbuhan adalah antara 3 dan 8. Anggota genus *Lactobacillus* termasuk bakteri anaerob fakultatif dan umumnya homofermentatif atau heterofermentatif. Mereka menghasilkan asam laktat sebagai produk fermentasi utama dari gula (Hammes and Hertel, 2015).

Lactobacillus homofermentatif menghasilkan asam laktat melalui jalur EMP (Embden-Meyerhof-Parnas) atau melalui glikolisis. Sedangkan *Lactobacillus* heterofermentatif memiliki hasil akhir asam laktat yang difermentasi melalui jalur

EMP dan mendegradasi pentosa dan glukonat melalui fosfoketolase yang dapat diinduksi dengan produksi asam asetat, etanol dan asam format. *Lactobacillus* banyak ditemukan di habitat yang kaya substrat dimana mengandung karbohidrat seperti produk makanan (susu, biji bijian, daging, ikan, buah buahan, acar, sayuran, asinan kubis), air, tanah dan limbah. Bakteri ini juga termasuk mikrobiota normal di mulut, saluran pencernaan serta genital manusia dan hewan (Hammes and Hertel, 2015)

Tabel 2.2 Karakteristik Genus *Lactobacillus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk basil, non motil	(Hammes dan Hertel, 2015)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe Fermentasi	Heterofermentatif	

2.3.1.1.2 *Pediococcus*

Genus *Pediococcus* merupakan bakteri Gram positif, memiliki sifat katalase negatif, oksidase negatif dan homofermentatif. *Pediococcus* termasuk bakteri aerob fakultatif. Beberapa spesies dari genus *Pediococcus* menunjukkan pseudokatalase ketika ditumbuhkan dalam media dengan kandungan karbohidrat rendah (Katepogu dkk., 2022). Sel selnya berbentuk bulat, dan mereka berbeda dari semua jenis bakteri asam laktat lainnya, *Pediococcus* mengalami pembelahan dalam dua arah tegak lurus menghasilkan bentuk tetrad. Oleh karena itu mereka berbeda dengan sel berbentuk kokus lainnya seperti *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Streptococcus* yang membentuk rantai sebagai hasil pembelahan (Holzapfel dkk, 2015)

Beberapa media tidak sepenuhnya selektif untuk mengisolasi genus *Pediococcus* seperti, media SL selektif dan agar asetat. Simpson dkk., 2006 mengembangkan *Pediococcus Selective Medium* (PSM) atau media selektif

Pediococcus untuk mengisolasi bakteri *Pediococcus*. Selain itu Haakensen dkk., 2009 menggunakan kombinasi etanol dan bunga hop dalam media berbasis MRS (*de Man Rogosa and Sharpe*) untuk secara selektif mengisolasi bakteri pembusuk bir termasuk *Pediococcus*. Selain bunga hop agen selektif yang biasa ditambahkan ke media dapat mencakup sikloheksimida, aktidion, atau asam sorbat. *European Brewery Convention* telah merekomendasikan tiga media untuk mengisolasi bakteri *Pediococcus* dalam bir yaitu, MRS agar ditambahkan sikloheksimida, Raka-Ray agar, dan media NBB.

Tabel 2.3 Karakteristik Genus *Pediococcus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk bulat, non motil	(Katepogu dkk., 2022)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe Fermentasi	Homofermentatif	

2.3.1.2 Streptococcaceae

Streptococcaceae termasuk dalam bakteri Gram positif, bersifat katalase negatif, dan tidak membentuk spora. Memiliki bentuk bulat dan dinding selnya mengandung asam diamino lisin, bakteri ini tidak membentuk endospora dan memiliki kandungan G+C yang rendah dalam DNA. Bakteri yang termasuk dalam famili ini merupakan bakteri anaerobik fakultatif dan kemoorganotrofik (Whiley dan Hardie, 2009). Streptococcaceae terdiri dari tiga genus yaitu *Streptococcus*, *Lactococcus* dan *Lactovum*.

2.3.1.2.1 *Streptococcus*

Bakteri *Streptococcus* merupakan Gram positif, berbentuk kokus dengan diameter kurang dari 2 μm , memiliki sifat katalase negatif. Mereka menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dari fermentasi glukosa melalui jalur EMP

(Embden Meyerhof Parnas). Bakteri ini bersifat homofermentatif dan karenanya tidak menghasilkan CO₂ dari glukosa. *Streptococcus* tidak bergerak dan tidak membentuk endospora, ketika ditumbuhkan dalam media cair akan membentuk sel yang berpasangan dan berantai. Genus *Streptococcus* sangat sulit dibedakan dari genus *Enterococcus* dan *Lactococcus*, sehingga identifikasi genus harus dilengkapi dengan metode identifikasi molekuler (Toit dkk., 2014)

Anggota genus *streptococcus* dibagi menjadi tiga genera berdasarkan teknik klasifikasi modern dan uji serologis, yaitu *Streptococcus*, *Lactococcus*, dan *Enterococcus*. Spesies patogen dan *Streptococcus viridans* termasuk kedalam genus *Streptococcus*, sementara anggota *Streptococcus faecal* dan *Streptococcus* grup D masuk kedalam genus *Enterococcus*, dan spesies non patogen termasuk genus *Lactococcus* (Toit dkk., 2014)

Streptococcus termasuk bakteri anerobik fakultatif dan kebutuhan nutrisinya meliputi asam amino, peptida dan protein, sumber karbohidrat, asam lemak, vitamin, purin dan pirimidin. Sebagai akibat dari kebutuhan nutrisi ini, diperlukan media kompleks yang sering mengandung ekstrak daging (Hardie and Whiley, 2006). Untuk budidaya rutin, *Streptococcus* dapat ditumbuhkan di media yang mengandung 5% darah domba atau kuda. Dalam semua kasus, media kultur membutuhkan sumber katalase (misalnya darah) untuk menetralkan jumlah hidrogen peroksida yang dihasilkan. Media kompleks seperti kaldu Todd–Hewitt atau kaldu *Brain Heart Infusion* dapat digunakan untuk kultur *Streptococcus. Pneumonia* (Hardie dan Whiley, 2006) *Streptococcus thermophilus* adalah *Streptococcus food grade* yang digunakan secara luas sebagai kultur *starter* untuk produksi yoghurt. *Streptococcus thermophilus* tumbuh dengan baik pada media

M17 yang mengandung laktosa sebagai satu-satunya sumber karbon (Toit dkk., 2014).

Tabel 2.4 Karakteristik Genus *Streptococcus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk bulat, non motil	(Toit dkk., 2014)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe Fermentasi	Homofermentatif	

2.3.1.2.2 *Lactovum*

Lactovum merupakan bakteri Gram positif, non motil dan berbentuk bulat telur sedikit memanjang dan ada yang berpasangan. Jenis spesies, *Lactovum miscens*, dicirikan oleh metabolisme fermentasi campuran yang menghasilkan berbagai jumlah laktat, etanol, format dan asetat tergantung pada substrat yang digunakan. *Lactovum miscens* adalah *psychrotolerant*, anaerob aerotoleran yang diisolasi dari tanah hutan asam dan merupakan satu-satunya spesies *Lactovum* yang diisolasi hingga saat ini (Drake, 2014).

Tabel 2.5 Karakteristik Genus *Lactovum*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk bulat sedikit memanjang	(Drake, 2014)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe Fermentasi	Homofermentatif dan heterofermentatif	

Lactovum merupakan bakteri Gram positif, tidak memiliki spora, dan non motil. Selnya memiliki panjang sekitar 1 cm, lebar 0,7 cm. Bakteri ini mengandung dinding sel berlapis dan membran intrasitoplasmik yang kemungkinan berasal dari invaginasi membran sitoplasma. Genus ini memiliki kedekatan secara filogenetik dengan *Lactococcus* dan *Streptococcus*. Gula seperti glukosa dimetabolisme terutama menjadi laktat melalui fermentasi homolaktat, sedangkan gula seperti

galaktosa mampu dimetabolisme menjadi etanol, format dan asam asetat. Pertumbuhan *Lactovum miscens* dapat terjadi pada suhu 0° hingga 35° dan pada pH 3,5 hingga 7,5 (Drake, 2014).

2.3.1.3 Leuconostocaceae

Leuconostocaceae adalah termasuk ke dalam bakteri Gram positif, katalase negatif, anaerob fakultatif, dan tipe fermentasi yaitu heterofermentatif. Leuconostoc terdiri dari empat genus yaitu *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus* dan *Weissella*. Karakteristik dari famili ini hampir sama dengan Lactobacillus. Bentuk dari genus *Leuconostoc* dan *Oenococcus* menunjukkan morfologi bentuk oval, genus *Fructobacillus* berbentuk batang, dan termasuk heterofermentatif.

2.3.1.3.1 *Leuconostoc*

Leuconostoc adalah Gram-positif, non-motil, *asporogenous* dan bersifat katalase-negatif. Secara morfologi, genus tersebut dianggap hanya terdiri dari spesies *coccoid* atau *coccobacillary* (Björkroth dan Holzapfel, 2006). Dalam dekade terakhir, beberapa spesies berbentuk batang diusulkan sebagai spesies *Leuconostoc* baru (Antunes dkk., 2002; Leisner dkk., 2005); Namun, spesies berbentuk batang baru-baru ini direklasifikasi ke genus baru *Fructobacillus*. Oleh karena itu, genus *Leuconostoc* saat ini hanya terdiri dari spesies *coccoid*.

Spesies *Leuconostoc* tidak termofilik, dan suhu optimal untuk pertumbuhan adalah antara 20 dan 30°C. Hampir tidak ada pertumbuhan yang terjadi di atas 40°C. Spesies ini biasanya non-asidofilik dan lebih menyukai pH medium awal antara 6 dan 7. Mereka bersifat heterofermentatif dan memetabolisme glukosa melalui jalur pentosa fosfat, menghasilkan produksi masing-masing 1 mol asam laktat, etanol dan karbon dioksida dan sejumlah kecil asam laktat (Endo dan Okada, 2008)

Genus *Leuconostoc* secara filogenetik berkerabat dekat dengan genus *Lactobacillus* dan *Pediococcus* dan membentuk superkluster dalam sub-cabang clostridia dari bakteri Gram-positif. Kerabat dekat lainnya di cabang Clostridium adalah genera *Weissella*, *Lactococcus*, *Enterococcus* dan *Carnobacterium*. Menurut analisis urutan 16S rRNA dan 23S rRNA, genus sebelumnya dianggap mengandung tiga garis evolusi yang berbeda, yaitu *Leuconostoc sensu stricto*, *Leuconostoc paramesenteroides* dan *Leuconostoc oenos*. Cabang filogenetik ini disebut sebagai 'cabang leuconostoc' dari lactobacilli.

Saat ini, *Leuc. paramesenteroides* diklasifikasikan sebagai *Weissella paramesenteroides* (Collins dkk., 1993) dan *Leuc. oenos* sebagai *Oenococcus oeni* (Dicks dkk., 1995). Garis *Leuconostoc sensu stricto* dibagi lagi menjadi tiga cabang evolusi, dengan *Leuc. carnosum*, *Leuc. gasicomitatum* dan *Leuc. gelidum* di cabang pertama, *Leuc. citreum* dan *Leuc. lactis* di yang kedua, dan *Leuc. mesenteroides* dan *Leuc. pseudomesenteroides* di ketiga.

Tabel 2.6 Karakteristik Genus *Leuconostoc*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk <i>coccoid</i>	
2	Pewarnaan Gram	Positif	(Björkroth dan Holzapfel, 2006)
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe Fermentasi	Heterofermentatif	

Media selektif (media LUSM) untuk isolasi *Leuconostoc spp* telah dikembangkan. Media ini mengandung 1,0% glukosa, 1,0% Bacto Peptone (Difco), 0,5% ekstrak ragi (BBL), 0,5% ekstrak daging (Difco), 0,25% gelatin (Difco), 0,5% kalsium laktat, 0,05% asam sorbat, 75 ppm natrium azida (Sigma), 0,25% natrium asetat, 0,1% (vol/vol) Tween 80, 15% jus tomat, 30 mikroGram vankomisin (Sigma) per ml, 0,20 mikroGram tetrasiklin (Serva) per ml, 0,5 mg sistein hidroklorida per ml, dan 1,5% agar (Difco). Media LUSM berhasil digunakan untuk

isolasi dan pencacahan *Leuconostoc* spp. dalam produk susu dan sayuran (Björkroth dan Holzapfel, 2006).

2.3.1.3.2 *Fructobacillus*

Fructobacillus merupakan bakteri batang Gram-positif, non-motil, berukuran $0,5-0,8 \times 2-8$ m. Mereka biasanya muncul secara tunggal atau berpasangan. Mereka bersifat anaerobik fakultatif dan katalase-negatif. Kelima spesies *Fructobacillus* memiliki sel berbentuk batang yang menyerupai *Lactobacillus*. Sel biasanya terjadi secara tunggal atau berpasangan (Chambel dkk., 2006). Genus *Fructobacillus* baru-baru ini dideskripsikan setelah reklasifikasi empat spesies *Leuconostoc* berdasarkan karakteristik filogenetik, morfologi dan biokimia. Semua spesies *Fructobacillus* memiliki beberapa karakteristik unik dibandingkan dengan kerabat filogenetik mereka, seperti preferensi untuk fruktosa daripada glukosa sebagai sumber karbon, dan kebutuhan akseptor elektron selama disimilasi glukosa (Endo and Okada, 2008).

Spesies *Fructobacillus* awalnya diisolasi dari bunga, buah-buahan atau produk fermentasi terkait yang memiliki kandungan fruktosa tinggi (Nyanga dkk., 2007). Isolasi *Fructobacillus* menggunakan MRS agar dalam kondisi anaerobik, dan identifikasi hanya dengan pola fermentasi karbohidrat. Spesies *Fructobacillus* hampir tidak tumbuh dalam kondisi anaerobik pada glukosa (Endo dan Okada, 2008).

Tabel 2.7 Karakteristik Genus *Fructobacillus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk batang, sel berpasangan	(Chambel dkk., 2006)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe Fermentasi	Heterofermentatif	

2.3.1.3.3 *Oenococcus*

Sel-selnya Gram-positif, asporogenous, non-motil, kecil, elipsoida hingga spherical cocci, berukuran $0,2-0,4 \times 0,5-0,8 \mu\text{m}$. Mereka biasanya terjadi berpasangan atau berantai, dan morfologinya dapat dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan dan usia kultur (Endo dan Dicks, 2014). *Oenococcus sp.* tumbuh secara lambat dan menghasilkan sangat sedikit biomassa. Media kultur yang kaya dan kompleks harus digunakan serta faktor pertumbuhan khusus seringkali diperlukan. *Oenococcus sp.* Merupakan genus bakteri obligat heterofermentatif dan memetabolisme glukosa dengan menggunakan jalur pentosa fosfoketolase, menghasilkan 1 mol masing-masing asam laktat, etanol dan CO_2 per mol glukosa. *Oenococcus* dapat diisolasi pada media MRS yang ditambahkan 5% darah kelinci. masa inkubasi dari 48 jam hingga 10 hari pada suhu antara 20 dan 30°C (Endo dan Dicks, 2014).

Tabel 2.8 Karakteristik Genus *Oenococcus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk spherical coccus	(Endo dan Dicks, 2014)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe Fermentasi	Heterofermentatif	

2.3.1.3.4 *Weissella*

Genus *Weissella* adalah bakteri Gram-positif, bersifat katalase-negatif, memiliki bentuk batang pendek dengan ujung runcing bulat atau sel ovoid (Björkroth dkk., 2009). Mereka terjadi berpasangan atau dalam rantai pendek dan beberapa spesies memiliki kecenderungan ke arah pleomorfisme. Genus *Weissella* adalah kemoorganotrof anaerobik fakultatif, pertumbuhan bakteri terjadi pada suhu 15°C dan beberapa spesies tumbuh pada 42–45°C (Björkroth dkk., 2009). Identifikasi pada tingkat genus dan spesies cukup sulit. Spesies *Weissella* tumbuh

dengan baik pada media umum yang dirancang untuk BAL, seperti media MRS agar. Media selektif spesifik *Weissella* maupun metode pengayaan tidak tersedia. Resistensi intrinsik terhadap vankomisin mungkin berguna dalam pendekatan selektif tertentu; namun, genus *Leuconostoc* yang berkerabat dekat juga resisten terhadap vankomisin. Sangat sulit untuk membedakan *Weissella* dari *Leuconostoc*. Metode PCR spesifik genus dan taksonomi numerik berdasarkan pola makromolekul telah dikembangkan untuk membedakan antara *Leuconostoc* dan *Weissella* (Schillinger dkk., 2008).

Tabel 2.9 Karakteristik Genus *Weissella*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk batang	(Björkroth dkk., 2009)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	

2.3.1.4 Aerococcaceae

Aerococcaceae adalah bakteri Gram positif, non motil, berbentuk oval dengan diameter 1-2 μm , sel tersusun bergerombol dan tidak membentuk spora. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, katalase negatif, tidak membentuk gas pada media MRS broth serta dapat tumbuh di media yang mengandung NaCl. Aerococcaceae terdiri dari genus *Abiotrophia*, *Aerococcus*, *Facklamia*, *Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Globicatella*, dan *Ignavignarum*.

2.3.1.4.1 Abiotrophia

Genus *Abiotrophia* adalah bakteri Gram-positif, bersifat katalase-negatif, memiliki bentuk sel utama kokus, tetapi sel ovoid pleomorfik, kokobasil, dan sel berbentuk batang dapat terjadi. Pertumbuhan tidak terjadi pada 10°C atau 45°C, atau dengan adanya NaCl 6,5%. Organisme telah diisolasi dari spesimen klinis manusia, seperti darah dengan sepsis dan endokarditis (Lawson, 2014). *Strain* dapat diisolasi

pada media kaya, berbasis agar yang dilengkapi dengan darah (5% v/v) yang ditumbuhkan pada suhu 37°C secara anaerob atau di udara yang diperkaya dengan CO₂. Media kaldu Todd–Hewitt atau kaldu Infus Jantung Otak dengan penambahan 10 mg piridoksal hidroklorida atau 100 mg L-sistein per liter juga dapat digunakan. Untuk pengawetan jangka panjang, *strain* dapat disimpan pada suhu -80°C pada manik-manik kriogenik atau diliofilisasi (Lawson, 2014).

Tabel 2.10 Karakteristik Genus *Abiotrophia*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk kokus	(Lawson, 2014)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe Fermentasi	Heterofermentatif	

2.3.1.4.2 *Aerococcus*

Aerococcus memiliki sel berbentuk ovoid (berdiameter 1-2 cm) dan membelah pada dua bidang menghasilkan susunan tetrad. *Aerococcus* adalah organisme α -hemolitik, Gram-positif, non-motil, tidak membentuk spora yang bersifat anaerob fakultatif, katalase negatif dan oksidase negatif. Mereka diisolasi dari udara dan debu, serta ditemukan juga di manusia dan hewan. Bakteri ini dapat ditumbuhkan di media selektif seperti, media berbasis agar (misalnya Brain Heart Infusion) ditambah dengan 5% (v/v) darah domba atau kuda.

Kultur bakteri golongan ini dapat tumbuh di udara atau anaerobik dan biasanya diinkubasi pada 37°C. Untuk pemeliharaan jangka pendek, *strain* dapat ditumbuhkan pada media berbasis agar yang sama; untuk penyimpanan jangka menengah *strain* harus diawetkan pada manik-manik kriogenik atau 10% (v/v) stok gliserol pada suhu -80°C, sementara untuk pengawetan jangka panjang, *strain* harus diliofilisasi (Collins & Falsen , 2009).

Tabel 2.11 Karakteristik Genus *Aerococcus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk ovoid, diameter 1-2 μ m	(Collins & Falsen, 2009)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	

2.3.1.5 Carnobacteriaceae

Carnobacteriaceae adalah bakteri Gram positif, tidak membentuk spora serta berbentuk batang atau kokus. Secara umum Carnobacteriaceae bersifat anaerob fakultatif, namun beberapa spesies tumbuh secara aerob atau dalam kondisi mikroaerofilik, katalase negatif. Carnobacteriaceae terdiri dari genus *Carnobacterium*, *Marinilactibacillus*, *Trichococcus*, *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Alloiococcus*, *Atopobacter*, *Atopococcus*, *Bavariicoccus*, *Desemzia*, *Dolosignarum*, *Granulicatella*, *Isobaculum*, dan *Lacticigenium*.

2.3.1.5.1 *Carnobacterium*

Carnobacterium merupakan bakteri Gram-positif, sel-selnya berbentuk batang lurus, tidak membentuk spora, motil, terjadi sendiri-sendiri, berpasangan, atau dalam rantai melengkung tidak beraturan. Mereka bersifat anaerobik fakultatif dan heterofermentatif. Sebagian besar spesies menghasilkan asam laktat dari glukosa. Mereka mesofilik dan psikrotoleran, tumbuh pada 0°C dan pada pH netral, mereka tahan alkali. NaCl tidak diperlukan untuk pertumbuhan, meskipun beberapa spesies mentolerir hingga 5-6% NaCl. Bakteri ini diisolasi dari ikan yang sehat dan sakit, produk daging kemasan yang disimpan pada suhu rendah dan sampel lingkungan yang berasal dari danau. Semua spesies *Carnobacterium* tumbuh pada suhu rendah dan sebagian besar diisolasi dari makanan berpendingin (Pikuta dan Hoover, 2014)

Teknik aerobik dan anaerobik dapat diterapkan untuk budidaya kelompok mikroorganisme ini. Bakteri ini digambarkan mampu mereduksi media

pertumbuhan (resazurine berubah warna menjadi tidak berwarna) selama pertumbuhan. Beberapa spesies mampu tumbuh pada media dengan satu asam amino yang ditambahkan sebagai sumber energi. Kelompok mikroorganisme ini terkenal dengan sintesis antibiotik selama pertumbuhan, dan sebagai hasilnya, dapat melindungi ikan dari invasi patogen (Pikuta dan Hoover, 2014).

Tabel 2.12 Karakteristik Genus *Carnobacterium*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk batang lurus	(Pikuta dan Hoover, 2014)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe Fermentasi	Heterofermentatif	

2.3.1.5.2 *Marinilactibacillus*

Marinilactibacillus merupakan bakteri Gram positif, memiliki bentuk batang lurus, bersifat katalase negatif, mereka motil dengan flagela peritrichous. Ishikawa dkk., (2003) menggunakan kaldu PYGF yang mengandung NaCl 7% dan disesuaikan dengan pH 9,0, 9,5 dan 10,0 untuk mengisolasi *Marinilactibacillus*.

Tabel 2.13 Karakteristik Genus *Marinilactibacillus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk batang lurus, motil	(Ishikawa dkk., 2003)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	

Marinilactibacillus adalah bakteri asam laktat alkalifilik (BAL) yang menghuni lingkungan laut; dua spesies telah dideskripsikan: *Marinilactobacillus psychrotolerans* dari organisme laut (Ishikawa dkk., 2003) dan *Marinilactobacillus piezotolerans* dari sedimen sub-dasar laut (Toffin dkk., 2005). *Marinilactibacillus* menghasilkan laktat, format, asetat dan etanol sebagai produk akhir dalam fermentasi glukosa. Strain *Marinilactibacillus* pertama kali diisolasi dari organisme laut yang hidup dan membusuk yang dikumpulkan dari pantai oleh Ishikawa dkk.

pada tahun 2003. Selanjutnya, organisme telah ditemukan dalam keju (kebanyakan keju olesan lunak) dan *ham* kering yang diawetkan.

2.3.1.5.3 *Trichococcus*

Anggota genus ini adalah bakteri Gram-positif, memiliki bentuk kokus, oval atau batang seperti buah zaitun, diameter sel bervariasi dari 0,7 hingga 2,0 μ m. Sel-selnya muncul secara tunggal, berpasangan, dalam rumpun tidak teratur dan bergerak dengan flagela peritrichous. Genus ini terdiri dari anaerob aerotoleran yang bersifat katalase dan oksidase negatif. Beberapa spesies mengeluarkan mukopolisakarida membentuk kapsul yang mengelilingi sel yang memungkinkan pertumbuhan pada suhu rendah (hingga 5°C). Sel-sel tidak memerlukan NaCl untuk pertumbuhan, tetapi dapat tumbuh di media laut dan mentolerir 5-6% NaCl. Selama pertumbuhan pH turun menjadi 4,8-5,0 karena produksi asam (kebanyakan asam laktat dan, dalam jumlah yang lebih rendah, asam asetat).

Tabel 2.14 Karakteristik Genus *Trichococcus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk kokus, oval	(Pikuta dan Hoover, 2014)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	

Teknik aerobik dan anaerobik dapat diterapkan untuk budidaya kelompok mikroorganisme ini. Bakteri ini memiliki kapasitas untuk mengurangi media pertumbuhan (resazurine biasanya menjadi tidak berwarna) selama pertumbuhan, seperti spesies *Carnobacterium*. Tetapi spesies *Trichococcus* secara eksklusif bersifat *saccharolytic* dan tidak dapat memetabolisme produk proteolisis. Pertumbuhan pada suhu di bawah nol dapat diuji dalam gliserol, media yang sangat dingin biasanya langsung mengkristal pada benturan atau guncangan terkecil. Oleh

karena itu, budidaya pada 5°C membutuhkan penanganan yang sangat hati-hati. (Pikuta dan Hoover, 2014).

2.3.1.6 Enterococcaceae

Enterococcaceae adalah bakteri Gram positif berbentuk kokus yang tersusun berpasangan atau rantai pendek, katalase negatif, anaerob fakultatif, dan homofermentatif dengan asam laktat sebagai produk akhir utama dari proses fermentasi. Famili Enterococcaceae terdiri dari genus *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Catellibacter*, *Melissococcus*, dan *Pilibacter*.

2.3.1.6.1 Enterococcus

Enterococcus adalah bakteri Gram positif, memiliki bentuk kokus atau ovoid, sel selnya terbentuk secara tunggal, berpasangan dan dapat berkelompok, bakteri ini tidak menghasilkan endospora. *Enterococcus* biasanya bersifat katalase negatif; namun, beberapa *strain* dapat menunjukkan uji katalase positif ketika dibiakkan pada media agar yang mengandung darah karena aktivitas pseudokatalase. *Enterococcus* termasuk heterofermentatif dengan asam laktat menjadi produk akhir utama dari metabolisme karbohidrat. Diperlukan media tumbuh yang kompleks. Suhu pertumbuhan optimal adalah 37°C tetapi banyak spesies dapat tumbuh pada suhu mulai dari 10°C hingga 45°C (Svec dan Franz, 2014)

Banyak media selektif telah diperkenalkan untuk isolasi *Enterococcus* (Domig dkk., 2003). Tetapi, media tersebut dapat memungkinkan pertumbuhan genus bakteri lain dan mereka menghambat spesies enterococcus tertentu. Natrium azida (Slanetz-Bartley agar) dan empedu (bile aesculin agar) adalah agen selektif yang paling sering digunakan. *Enterococcus* memiliki kebutuhan nutrisi yang kompleks,

sehingga media bakteriologis yang kaya dapat memungkinkan pertumbuhan *Enterococcus*. *Brain Heart Infusion* (BHI) agar atau agar yang mengandung darah juga sering digunakan untuk menumbuhkan *Enterococcus*. Media kaya lainnya yang digunakan dalam penelitian yang berbeda adalah, kaldu Todd-Hewitt. *Enterococcus* tertentu tumbuh kurang baik pada media MRS yang umumnya digunakan untuk menumbuhkan bakteri asam laktat (Svec dan Franz, 2014).

Tabel 2.15 Karakteristik Genus *Enterococcus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk kokus, oval	(Svec dan Franz, 2014)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Tipe fermentasi	Heterofermentatif	

2.3.1.6.2 *Tetragenococcus*

Tetragenococcus merupakan genus bakteri asam laktat yang khas yang termasuk dalam bakteri Gram-positif, bersifat katalase negatif dan oksidase negatif. Genus *Tetragenococcus* dicirikan oleh morfologi selnya yang khas: sel-sel bulat yang tidak bergerak (0,5–0,8 μ m), yang membelah dalam dua bidang membentuk tetrad. Morfologi sel ini juga memiliki kemiripan dengan *Pediococcus*, akan tetapi, secara fisiologis *Tetragenococcus* berbeda dari *Pediococcus* (dan BAL lainnya) terutama pada toleransi garam yang tinggi – pertumbuhan pada >18% NaCl (b/v) – dan kemampuan untuk tumbuh pada nilai pH tinggi, yaitu hingga pH 9,0 (Holzapfel dkk., 2006).

Tetragenococcus tumbuh di bawah kondisi atmosfer yang berbeda mulai dari kondisi aerobik hingga mikroaerobik dan anaerobik. Kebanyakan *Tetragenococcus* tidak dapat tumbuh dalam media sintetik standar untuk BAL seperti agar MRS (de Man-Rogosa-Sharpe) melainkan membutuhkan glisin betaine dan karnitin sebagai

faktor pertumbuhan spesifik atau penambahan dari NaCl (Robert dkk., 2000). Semua spesies *Tetragenococcus* yang dideskripsikan tumbuh pada tryptic soy agar (TSA) pada suhu 30°C. Selain itu, penambahan 5% NaCl juga meningkatkan pertumbuhan. Oleh karena itu, isolasi dan enumerasi strain *Tetragenococcus* dapat dilakukan dengan menginkubasi pada 30°C pada TSA yang dilengkapi dengan 5% NaCl, dengan atau tanpa darah. (Justé dkk., 2012).

Tabel 2.16 Karakteristik Genus *Tetragenococcus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk sel bulat	(Holzapfel dkk., 2006)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	

2.3.1.6.3 *Vagococcus*

Genus *Vagococcus* termasuk dalam bakteri Gram positif. Memiliki bentuk ovoid, dan dapat terjadi secara tunggal, berpasangan dan membentuk rantai. Mereka bersifat anaerobik fakultatif dan katalase negatif. Mereka tidak membentuk spora, ada yang bergerak dan ada juga yang tidak bergerak. Pertumbuhan terjadi pada 10°C dan tidak dapat tumbuh pada suhu 45°C. *Strain* diisolasi pada media yang kaya seperti *Brain Heart Infusion* agar atau agar Columbia.

Tabel 2.17 Karakteristik Genus *Vagococcus*

No	Karakteristik	Keterangan	Referensi
1	Morfologi mikroskopis	Bentuk sel ovoid, tunggal	(Collins, 2009)
2	Pewarnaan Gram	Positif	
3	Uji Katalase	Negatif	
4	Endospora	Negatif	

Untuk beberapa strain, pertumbuhan dapat ditingkatkan dengan penambahan 5-10% CO₂. Untuk pemeliharaan jangka pendek, galur dapat disimpan pada kemiringan menggunakan media seperti di atas, dan penambahan darah seringkali

tidak diperlukan. Untuk penyimpanan jangka panjang, dapat menggunakan manik-manik kriogenik pada suhu -80°C atau liofilisasi (Collins, 2009).

2.4 Faktor Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat

Proses fermentasi berhubungan dengan proses pertumbuhan serta produksi zat antimikroba oleh bakteri asam laktat (Khumalawati, 2009). Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan asam laktat diantaranya :

a. Suhu

Suhu merupakan suatu yang penting dalam kehidupan. Beberapa jenis mikroba dapat hidup pada suhu tertentu oleh karena itu suhu adalah salah satu faktor lingkungan yang berperan dalam kecepatan pertumbuhan mikroba (Waluyo, 2016). Bakteri psikrofilik tumbuh pada suhu rendah yaitu pada suhu -5°C sampai 15°C dengan suhu optimum antara 20°C dan 30°C tetapi tumbuh dengan baik pada suhu yang lebih rendah. Bakteri termofilik tumbuh paling baik pada suhu 50°C sampai 60°C . sebagian besar bakteri asam laktat tumbuh dengan baik pada suhu 30°C - 37°C dan suhu optimum 40°C karena merupakan sebagian besar bakteri mesofilik (Yelti dkk., 2014).

b. Karbohidrat

Karbohidrat sangat penting bagi BAL sebagai energi dalam masa pertumbuhannya. Karbohidrat tersebut selama proses fermentasi akan diuraikan menjadi senyawa yang sederhana seperti asam laktat ataupun etanol. BAL memerlukan media dalam pertumbuhannya. Media yang sesuai akan membuat bakteri asam laktat akan terus menerus tumbuh dan menghasilkan asam (Maczulak, 2011).

c. Derajat keasaman (pH)

Pertumbuhan bakteri berhubungan dengan aktivitas enzim untuk mengkatalis reaksi yang dilakukan selama pertumbuhan bakteri. pH optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah 6,5-7,5. Umumnya pH untuk pertumbuhan bakteri adalah 4 dan 9. Jika pH pertumbuhan bakteri tidak optimum akan mengakibatkan terganggunya pertumbuhan bakteri (Yelti dkk., 2014).

2.5 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Karakterisasi adalah tahap awal dari proses identifikasi yang diawali dengan pengamatan bentuk morfologi (Megasari dkk., 2012). Morfologi bakteri penting untuk diamati agar memudahkan proses identifikasi bakteri. Hal ini dikarenakan sifat koloni bakteri menentukan spesies bakteri. Pengamatan morfologi meliputi ukuran, tepian, elevasi, warna, dan bentuk koloni bakteri yang dilihat secara makroskopis (Holderman dkk., 2017). Data yang diperoleh dari hasil karakterisasi, selanjutnya digunakan untuk proses identifikasi bakteri yang didasarkan pada buku identifikasi bakteri yaitu *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Megasari dkk., 2012).

Pengamatan selanjutnya yaitu pengamatan secara mikroskopis, diantaranya adalah pengamatan karakter morfologi sel berdasarkan pewarnaan Gram untuk melihat bentuk dan warna sel bakteri (Dewi dkk., 2019). Pewarnaan Gram adalah proses terpenting untuk mengidentifikasi isolat bakteri. Apabila berwarna ungu, bakteri diklasifikasikan dalam Gram positif sedangkan apabila berwarna merah, diklasifikasikan dalam bakteri Gram negatif. Perlu juga dilakukan uji katalase untuk mendeteksi keberadaan enzim katalase pada suatu isolat. Pengamatan secara mikroskopis pada BAL diantaranya pewarnaan Gram, endospora, pengujian katalase, dan fermentasi asam laktat (Amaliah dkk., 2018).

Pewarnaan Gram adalah teknik pewarnaan terpenting dalam menggolongkan bakteri, termasuk bakteri Gram positif ataupun negatif. Pewarnaan Gram memiliki prinsip yaitu apabila ditetesi zat warna *crystal violet*, dan bakteri dapat mengikat zat warna tersebut sehingga sel berwarna ungu maka digolongkan ke dalam bakteri Gram positif. Sedangkan apabila bakteri melepaskan zat warna *crystal violet* setelah dilakukan pencucian dengan alkohol, tetapi menyerap pewarna safranin sehingga sel berwarna merah, maka digolongkan sebagai bakteri Gram negatif (Putri dan Endang, 2018).

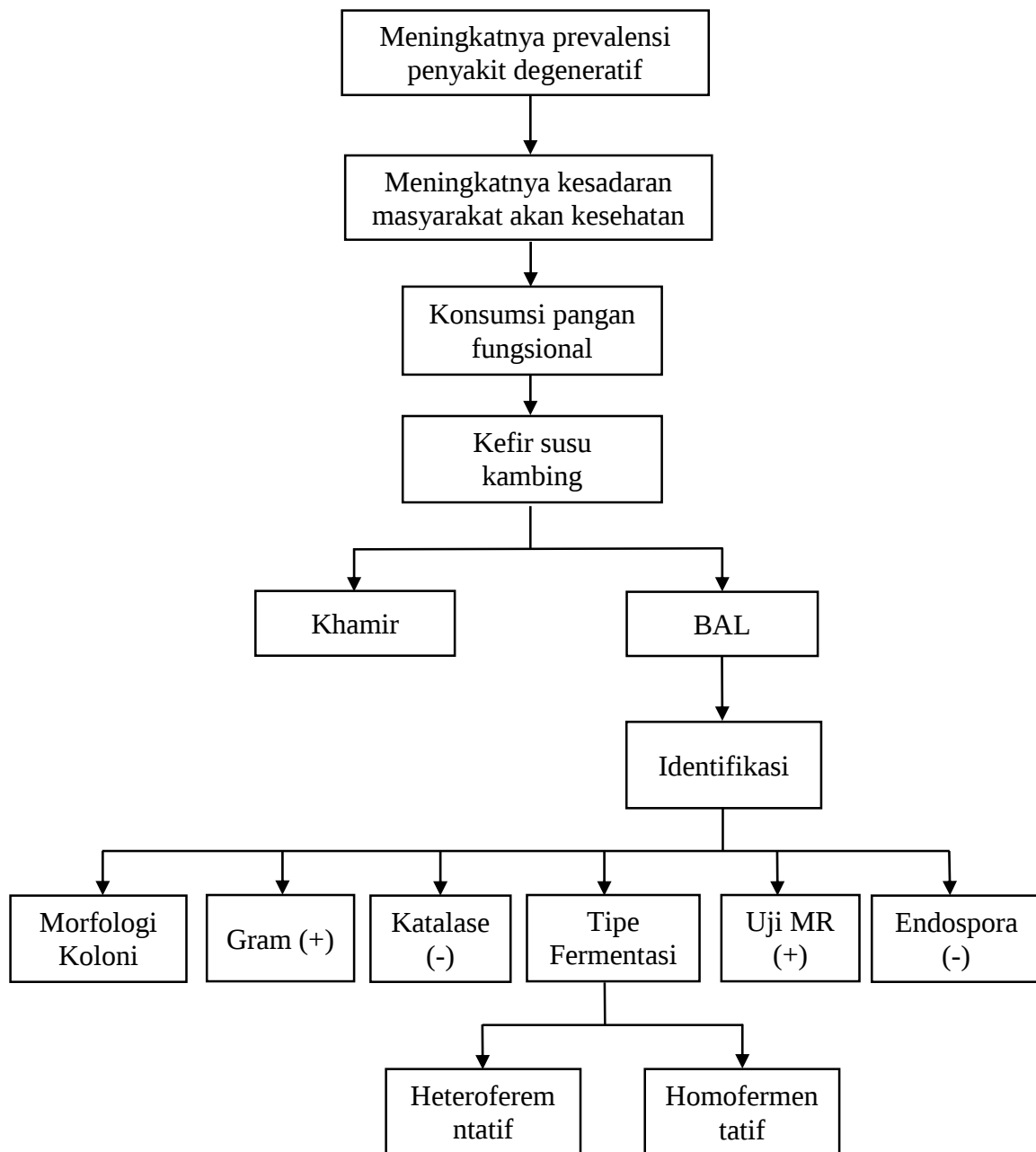
Pewarnaan endospora bertujuan untuk membedakan spora dari sel vegetatif. Prinsip pewarnaan endospora yaitu apabila ditetesi dengan malachite green bakteri dapat menyerap zat warna tersebut sehingga berwarna hijau, maka bakteri digolongkan sebagai bakteri pembentuk spora. Sedangkan bakteri nonspora, sel vegetatifnya akan terlihat merah (Amaliah dkk., 2018). BAL tidak membentuk endospora sehingga tampak sel vegetatifnya yaitu merah muda, tidak berwarna hijau, yang menandakan dibentuknya endospora (Laily dkk., 2013).

Pengujian katalase dilakukan untuk menentukan aktivitas katalase terhadap bakteri yang diuji. Hampir sebagian besar bakteri menghasilkan enzim katalase yang mampu merombak H_2O_2 menjadi O_2 dan H_2O (Aritonang dkk., 2017). BAL merupakan bakteri yang tergolong negatif katalase. Hal ini karena BAL tidak menghasilkan enzim katalase, sehingga tidak dapat mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Suardana dkk., 2018).

Fermentasi asam laktat pada BAL dikelompokkan dalam 2 kelompok yakni heterofermentatif dan homofermentatif. Homofermentatif merupakan proses fermentasi yang menghasilkan asam laktat saja. Berbeda dengan homofermentatif,

heterofermentatif merupakan proses fermentasi yang memproduksi bermacam-macam senyawa lain selain asam laktat, misalnya asam asetat, etanol dan CO₂ (Yanti dan Faiza, 2013).

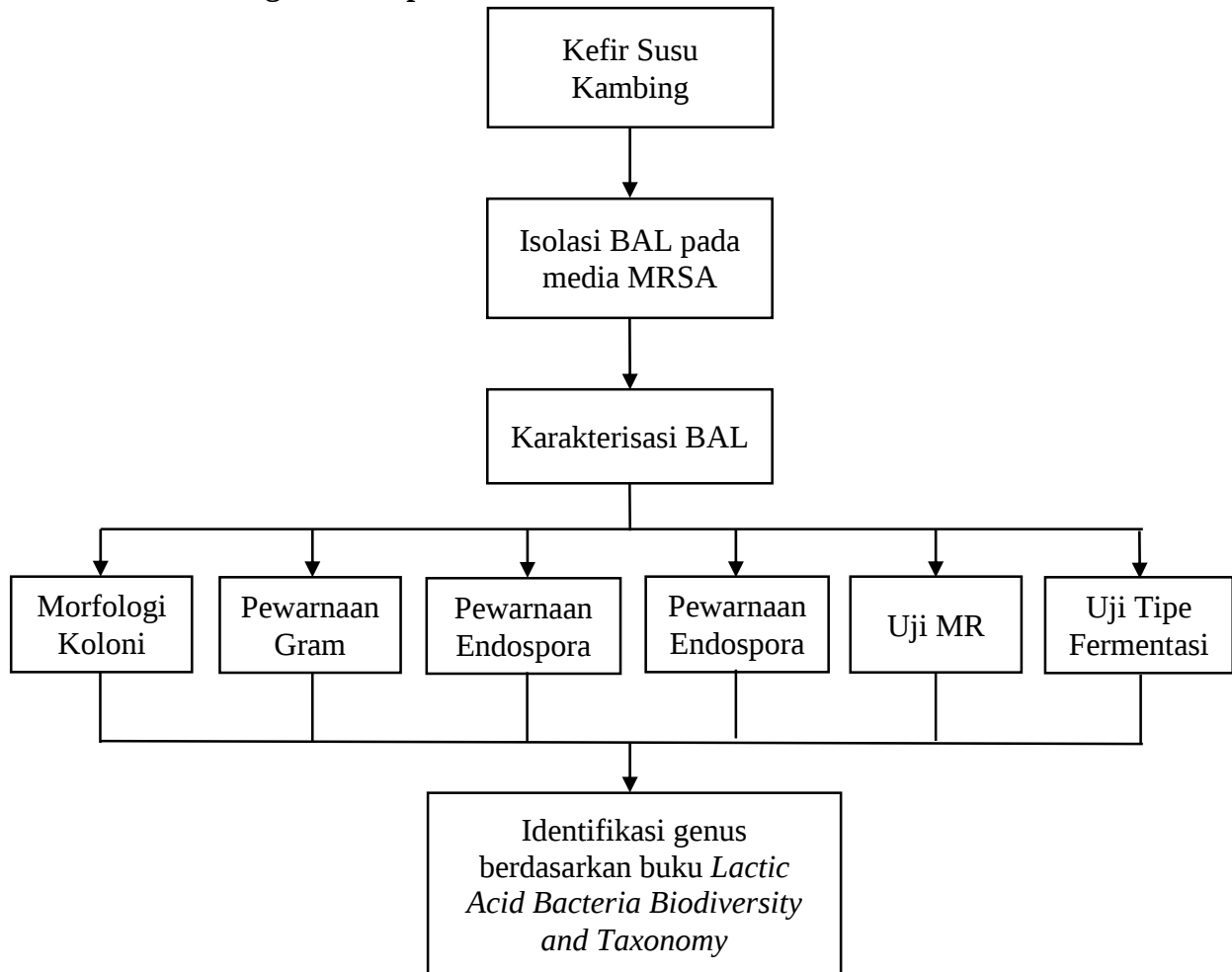
2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.1 Kerangka Teori

BAB III
KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka konsep penelitian

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode observasi untuk mengetahui adanya bakteri asam laktat yang ada pada kefir susu kambing. Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah secara deskriptif

4.2 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2022 – Juni 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Alat dan Bahan

4.3.1 Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow*, autoklaf, inkubator, *hot plate*, penutup preparat, kaca objek, mikroskop, jarum ose, pinset, bunsen, tabung reaksi, tabung durham, rak tabung reaksi, erlenmeyer, timbangan analitik, gelas ukur, cawan petri, kulkas, *freezer*, mikropipet, *blue tip*, botol, *magnetic stirrer*.

4.3.2 Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah biji kefir dan susu kambing peranakan etawa yang diperoleh dari Griya Syafa, Produsen olahan susu sapi dan kambing, media MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*), media MRSB (*de Man Rogosa Sharpe Brooth*), media MR-VP (*Methyl red-Voges Proskauer*), akuades, CaCO₃ 1%, H₂O₂ 3%, alkohol 70%, alkohol 96%, safranin, pewarna

crystal violet, pewarna *Malachite green*, pewarna Methyl Red, iodin, minyak emersi, larutan NaCl, kertas label, *aluminium foil*, plastik wrap, kapas, plastik, karet, tisu, kasa.

4.4 Prosedur Penelitian

4.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan dengan cara membungkus semua alat dan bahan menggunakan aluminium foil lalu dibungkus dengan plastik tahan panas. Selanjutnya sterilisasi dilakukan dengan autoklaf menggunakan suhu 121°C dan tekanan 1 atm sekitar 15-30 menit.

4.4.2 Pembuatan Media

Pembuatan media MRSA dengan melarutkan 6,82 g dalam 100 ml akuades, media MRSB dibuat dengan melarutkan 5,51 g dalam 100 ml akuades. Semua bahan tersebut kemudian dididihkan di atas *hot plate*, dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm sekitar 15 menit (Harianie, 2013).

4.4.3 Pembuatan Sampel

Sampel kefir susu kambing dibuat dengan bahan baku 100 ml susu kambing peranakan etawa dan 2 mg biji kefir. Sebanyak 100 ml susu kambing peranakan etawa dipasteurisasi pada suhu 60°C selama 30 menit, didiamkan hingga dingin kemudian dimasukkan 2 mg biji kefir untuk dilakukan fermentasi selama 48 jam. Setelah itu, sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi bakteri asam laktat.

4.4.4 Isolasi Bakteri Asam Laktat

Sampel diambil sebanyak 1 ml secara aseptik dan ditambahkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan garam (NaCl) (0,85%, b/v), kemudian dihomogenkan. Selanjutnya, dilakukan pengenceran secara bertahap sampai diperoleh pengenceran 10^{-7} . Pengambilan seri pengenceran menggunakan standar McFarland 0,5 sebagai pembanding biakan bakteri dalam medium cair. Pengenceran seri 10^{-3} dan 10^{-4} diambil 1 mL dan dikultur pada MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*) yang telah ditambahkan CaCO_3 1% dengan metode *pour plate*. Kultur tersebut kemudian diinkubasi dalam inkubator 37°C selama 48 jam (Eni, 2022).

4.4.5 Pemurnian Isolat Bakteri Asam Laktat

Pemurnian isolat BAL dilakukan dengan cara koloni yang tumbuh pada MRSA dengan adanya zona jernih di sekitarnya selanjutnya dimurnikan dengan cara digoreskan diatas MRS agar baru yang telah ditambahkan CaCO_3 1% menggunakan metode kuadran, kemudian dimasukkan dalam inkubator 37°C selama 24 jam, sehingga hanya diperoleh satu koloni tunggal. Koloni kemudian dikultur lebih lanjut untuk mendapatkan satu galur murni (Eni, 2022).

4.4.6 Karakterisasi Morfologi Makros dan Mikros Bakteri Asam Laktat

Proses karakterisasi isolat BAL dilakukan melalui dua cara, yakni identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis BAL yaitu pengamatan morfologi koloni meliputi bentuk, tepi, pigmentasi, elevasi, dan ukuran koloni. Serta dilakukan pengamatan mikroskopis bentuk bakteri melalui pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora. Selain itu dilakukan uji katalase, uji tipe fermentasi dan uji MR (*Methyl Red*) (Rumaisha dkk, 2021).

4.4.6.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang didapatkan termasuk Gram positif atau negatif. Pewarnaan Gram dimulai dengan ditetaskan sebanyak 2 tetes NaCl fisiologis pada kaca objek lalu satu ose sampel bakteri diambil dan diratakan kemudian dilakukan pengfiksasian melewati bunsen yang menyala. Selanjutnya, pewarnaan dilakukan dengan meneteskan pewarna *crystal violet* pada preparat sekitar 2-3 tetes lalu didiamkan sekitar 60 detik, lalu dibilas akuades. Berikutnya preparat ditetesi iodine sekitar 1-2 tetes kemudian didiamkan kembali sekitar 60 detik dan dibilas akuades. Berikutnya, preparat ditetesi alkohol 96% sekitar 30 detik lalu dibilas akuades. Terakhir, ditetesi Safranin sekitar 2-3 tetes dan didiamkan sekitar 45-60 detik lalu dibilas akuades. Preparat yang telah jadi, dikeringkan anginkan agar dapat diamati dibawah mikroskop. Sebelum diamati, preparat ditetesi dengan minyak emersi. Apabila koloni bakteri tampak berwarna ungu berarti tergolong Gram positif sedangkan apabila tampak berwarna merah berarti tergolong bakteri Gram negatif (Ismail, Yulvizar and Mazhitov, 2018)

4.4.6.2 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan dengan meneteskan dua tetes larutan garam fisiologis pada kaca objek lalu sampel bakteri diambil sebanyak satu ose dan diratakan kemudian difiksasi di atas nyala api. Preparat selanjutnya ditempatkan diatas penangas air dan ditutup dengan kertas saring. Selanjutnya preparat ditetesi *Malachite green* hingga basah dan didiamkan sekitar 5 menit, kemudian dicuci dengan akuades dan dilepaskan kertas saring. Selanjutnya, preparat ditetesi pewarna Safranin dan didiamkan sekitar 1 menit, lalu dicuci. Selanjutnya preparat diangin-anginkan agar kering sehingga dapat diamati dibawah mikroskop. Sebelum

diamati, preparat ditetesi dengan minyak emersi. Apabila tampak berwarna hijau berarti dikatakan dapat membentuk endospora dan apabila tampak berwarna merah berarti dikatakan tidak dapat membentuk endospora (Ismail, Yulvizar and Mazhitov, 2018)

4.4.6.3 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan ditetaskan H_2O_2 3% pada preparat. Sampel bakteri diambil dan diletakkan pada *object glass*. Selanjutnya, preparat ditetesi dengan menggunakan H_2O_2 3% sebanyak 2-3 tetes dan diamati. Jika terdapat gelembung udara, berarti bakteri dikatakan katalase positif, sedangkan apabila tidak terdapat gelembung udara berarti bakteri dikatakan katalase negatif (Ismail, Yulvizar and Mazhitov, 2018)

4.4.6.4 Uji Tipe Fermentasi

Berdasarkan tipe fermentasi, BAL dikelompokkan menjadi dua, yakni homofermentatif dan heterofermentatif. Uji Tipe Fermentasi dilakukan dengan mengambil 1 ose dari koloni bakteri lalu dicelupkan dalam tabung reaksi yang didalamnya diisi tabung Durham dan media MRS broth. Selanjutnya tabung reaksi diinkubasi dengan suhu $37^{\circ}C$ sekitar 48 jam. Jika terbentuk gas dalam tabung Durham, maka bakteri dikatakan heterofermentatif, namun jika tidak terbentuk gas dalam tabung Durham, maka bakteri dikatakan homofermentatif (Ismail, Yulvizar and Mazhitov, 2018)

4.4.6.5 Uji Methyl Red (MR)

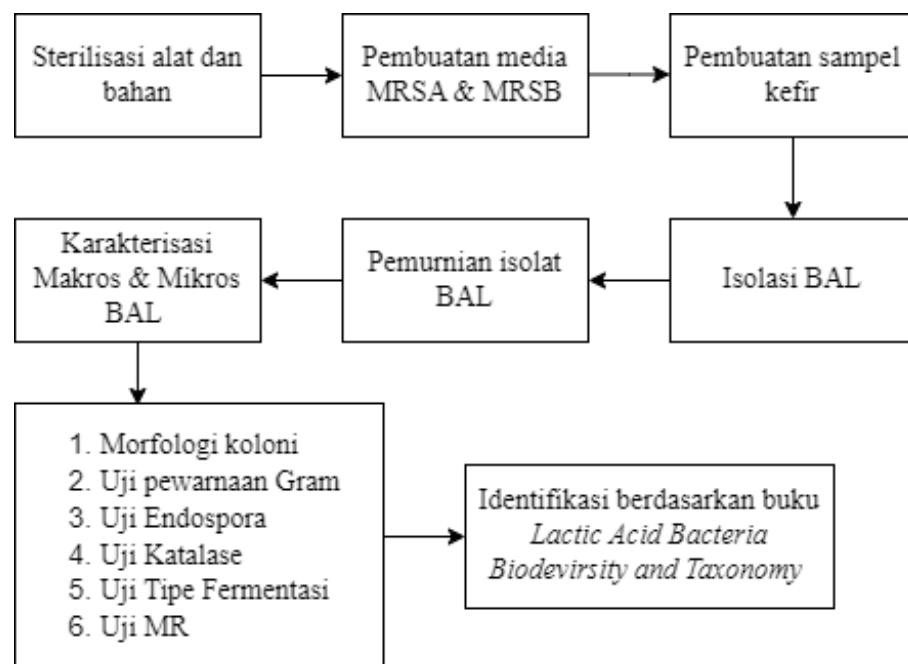
Uji Methyl Red (MR) menggunakan medium MR-VP broth. Uji Methyl Red (MR) dilakukan dengan menginokulasikan isolat bakteri kedalam media MR-VP broth kemudian diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Setelah itu ditambahkan

3-5 tetes methyl red pada tiap tabung reaksi kemudian dihomogenkan dan diamati. Jika menunjukkan warna merah dapat dikatakan hasil positif, sedangkan jika menunjukkan warna kuning maka dapat dikatakan hasil negatif. Uji Methyl Red (MR) digunakan untuk menentukan apakah glukosa dapat diubah menjadi produk asam seperti asam laktat, asam asetat, atau asam format (Arifin, 2013)

4.5 Analisis Data

Analisis data merupakan prosedur yang dilakukan untuk mengidentifikasi BAL yaitu dengan cara penyajian data tentang morfologi koloni dan karakterisasi dari BAL seperti uji pewarnaan gram, uji endospora, uji katalase, uji tipe fermentasi dan uji Methyl Red (MR) disesuaikan dengan morfologi dan karakteristik BAL dengan referensi buku *Lactic Acid Bacteria Biodiversity and Taxonomy*.

4.6 Diagram Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Identifikasi Bakteri Asam Laktat Pada Kefir Susu Kambing

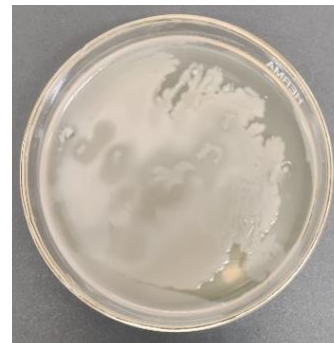
Penelitian yang telah dilakukan kefir susu kambing di Laboratorium Mikrobiologi FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang untuk identifikasi bakteri. Identifikasi bakteri dilakukan dengan melihat ciri ciri morfologi jamur secara makroskopis dan mikroskopis. Sampel kefir susu kambing dibuat dengan bahan baku 100 ml susu kambing peranakan etawa dan 2 mg biji kefir. Sebanyak 100 ml susu kambing peranakan etawa dipasteurisasi pada suhu 60°C selama 30 menit, didiamkan hingga dingin kemudian dimasukkan 2 mg biji kefir untuk dilakukan fermentasi selama 48 jam. Kemudian sampel dilakukan pengenceran secara bertahap sampai diperoleh pengenceran 10^{-7} . Pengambilan seri pengenceran menggunakan standar McFarland 0,5 sebagai pembanding biakan bakteri dalam medium cair. Pengenceran seri 10^{-3} dan 10^{-4} diambil 1 mL dan dikultur pada MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*) yang telah ditambahkan CaCO_3 1% dengan metode *pour plate*. Kultur tersebut kemudian diinkubasi dalam inkubator 37°C selama 48 jam.

5.1.1 Identifikasi Bakteri Secara Makroskopis

Hasil pengamatan bakteri menunjukkan pada kode isolat KS1 ciri ciri morfologi koloni berwarna putih bentuk irregular, tepi lobate, dan elevasi rata. Sedangkan pada kode isolat KS2, KS3 dan KS4 memiliki ciri ciri morfologi berwarna putih, bentuk bulat, tepi utuh, elevasi cembung. Hasil Pemeriksaan secara makroskopis ditampilkan pada gambar 5.1



(A)



(B)



(C)



(D)

Gambar 5.1 (A) Isolat KS1 (B) Isolat KS2 (C) Isolat KS3 (D) Isolat KS4

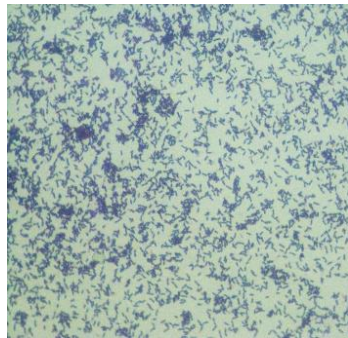
5.1.2 Identifikasi Bakteri Secara Mikroskopis

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan dua metode yaitu pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora.

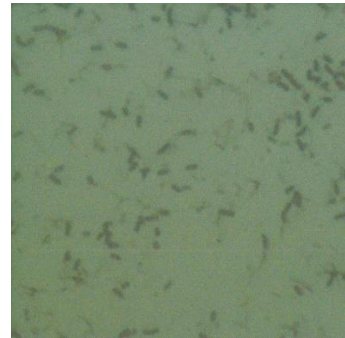
5.1.2.1 Pewarnaan Gram

Hasil pengamatan pewarnaan Gram pada mikroskop dengan pembesaran 400X dan 1000X menunjukkan pada kode isolat KS1, KS3, dan KS4 memiliki sel berwarna ungu pada pewarnaan Gram yang berarti termasuk dalam bakteri Gram positif. Hal ini dikarenakan bakteri dapat berikatan dengan zat pewarna *crystal violet*. Sedangkan pada kode isolat KS2 menunjukkan hasil warna merah yang berarti termasuk bakteri Gram negatif. Hal ini dikarenakan bakteri tidak mampu mengikat zat warna *crystal violet* setelah dibilas dengan alkohol 96% sehingga

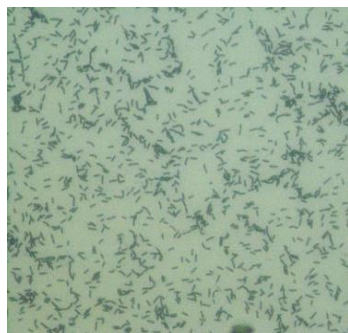
bakteri tidak memiliki warna lagi, dan bakteri akan mengikat zat warna kedua yaitu safranin yang memiliki warna merah (Eni, 2022). Hasil pemeriksaan secara mikroskopis dengan metode pewarnaan Gram ditampilkan pada gambar 5.2



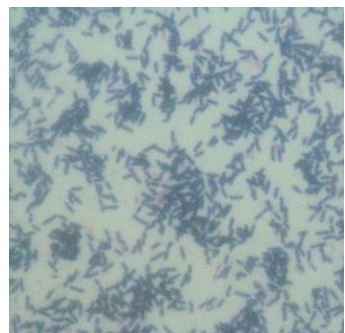
(A)



(B)



(C)



(D)

Gambar 5.2 (A) Isolat KS1 : Gram positif (B) Isolat KS2 : Gram negatif (C) Isolat KS3 : Gram positif (D) Isolat KS4 : Gram positif

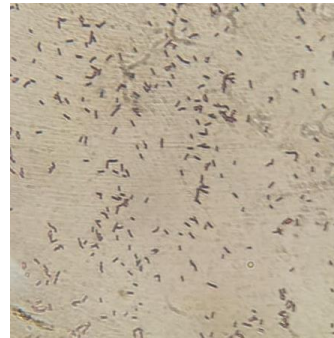
5.1.2.2 Pewarnaan Endospora

Hasil pengamatan pewarnaan endospora pada seluruh isolat dengan kode KS1, KS2, KS3, dan KS4 menunjukkan sel berwarna merah yang berarti bakteri memiliki endospora negatif. Hal ini dikarenakan bakteri tidak memiliki spora hanya sel vegetatif saja. Sehingga ketika ditetesi oleh zat pewarna *malachite green* bakteri tidak mampu mengikat zat pewarna *malachite green* secara kuat. Akibatnya ketika ditetesi oleh zat pewarna berikutnya yaitu safranin. Sel vegetatif akan mengikat zat

pewarna tersebut dan menghasilkan warna merah muda (Pratitia dan Surya, 2012). Hasil pemeriksaan secara mikroskopis dengan metode pewarnaan endospora ditampilkan pada gambar 5.3



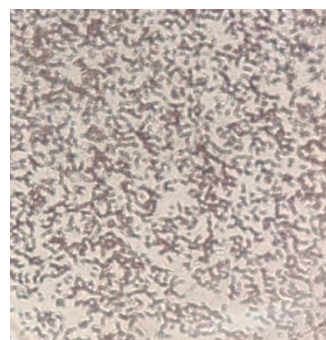
(A)



(B)



(C)



(D)

Gambar 5.3 Pewarnaan endospora pada (A) Isolat KS1 (B) Isolat KS2 (C) Isolat KS3 (D) Isolat KS4

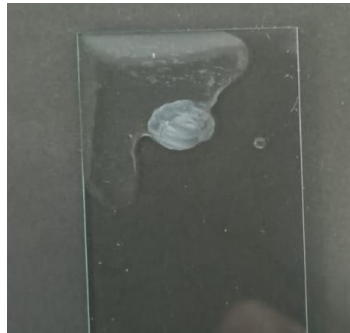
5.1.3 Identifikasi Bakteri dengan Uji Biokimia

Pemeriksaan dengan uji biokimia dilakukan dengan tiga metode yaitu uji katalase, uji tipe fermentasi dan uji MR.

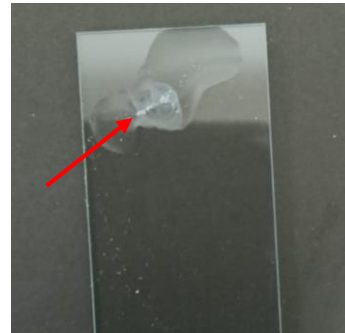
5.1.3.1 Uji Katalase

Hasil pengamatan pada kode isolat KS1, KS3, dan KS4 tidak menghasilkan gelembung yang berarti bakteri memiliki sifat katalase negatif. Hal ini dikarenakan bakteri tidak memiliki enzim katalase yang mampu merubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi H_2O dan O_2 . Sedangkan pada kode isolat KS2 menghasilkan

gelembung yang berarti memiliki sifat katalase positif. Hal ini dikarenakan bakteri memiliki enzim katalase yang mampu merubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi H_2O dan O_2 . Terbentuknya gelembung pada isolat KS2 merupakan gas O_2 hasil penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim katalase (Utama, 2018). Hasil pengamatan uji katalase ditampilkan pada gambar 5.4



(A)



(B)



(C)



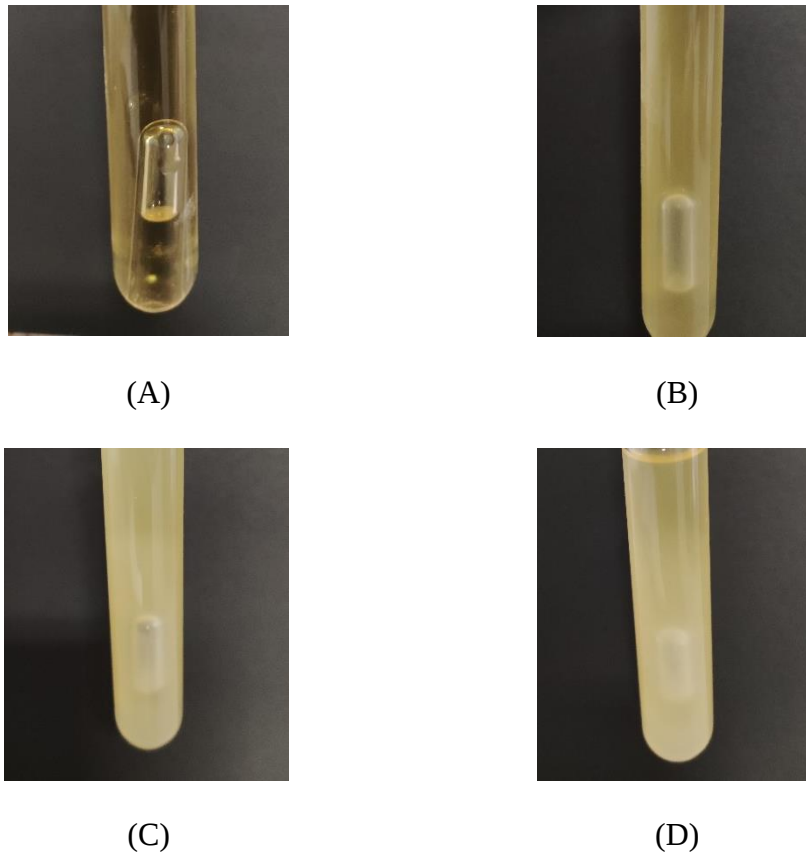
(D)

Gambar 5.4 Uji katalase pada (A) Isolat KS1 (B) Gelembung pada isolat KS2 (C) Isolat KS3 (D) Isolat KS4

5.1.3.2 Uji Tipe Fermentasi

Hasil pengamatan seluruh isolat dengan kode KS1, KS2, KS3, dan KS4 menunjukkan adanya gelembung gas pada tabung durham yang berarti bakteri memiliki tipe fermentasi yaitu heterofermentatif. Hal ini dikarenakan bakteri yang bersifat heterofermentatif memiliki enzim piruvat oksidase yang mampu mengurai

piruvat menjadi karbondioksida (CO₂) dan asetil fosfat (Suardana, 2018). Hasil pengamatan uji tipe fermentasi ditampilkan pada gambar 5.5



Gambar 5.5 Uji tipe fermentasi terlihat gelembung gas pada (A) Isolat KS1 (B) Isolat KS2 (C) Isolat KS3 (D) Isolat KS4

5.1.3.3 Uji Methyl Red

Hasil pengamatan seluruh isolat dengan kode KS1, KS2, KS3, dan KS4 menunjukkan warna merah pada tabung reaksi yang berarti bakteri memiliki hasil uji MR positif. Hal ini dikarenakan pada media MR-VP mengandung glukosa maka jika dimasukkan bakteri akan terjadi fermentasi glukosa menjadi asam, baik asam laktat, asam asetat maupun asam format. Kemudian ketika ditambahkan reagen *methyl red* akan berubah warna menjadi merah karena adanya penurunan pH oleh

asam hasil fermentasi glukosa (Suroño, 2001). Hasil pengamatan uji MR ditampilkan pada gambar 5.5



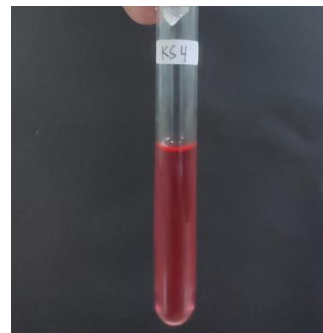
(A)



(B)



(C)



(D)

Gambar 5.6 Uji MR pada (A) Isolat KS1 (B) Isolat KS2 (C) Isolat KS3 (D) Isolat KS4

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Bakteri Asam Laktat Pada Kefir Susu Kambing

Isolasi BAL atau Bakteri Asam Laktat pada kefir susu kambing peranakan etawa mendapatkan 4 isolat yang mampu tumbuh pada media MRS Agar. Isolat yang diperoleh selanjutnya dilakukan identifikasi dengan cara diamati sifat morfologi dari bakteri yang tumbuh pada media MRS Agar. Karakterisasi morfologi dapat dilakukan secara makroskopis maupun mikroskopis. Karakterisasi dalam pengamatan makroskopis berdasarkan bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni, dan warna koloni. Sedangkan pengamatan mikroskopis berdasarkan pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora yang dapat diamati menggunakan mikroskop. Selain itu juga dilakukan pengujian biokimia yang meliputi uji katalase, uji tipe fermentasi dan uji MR. (Rumaisha, Aldrat and Betha, 2021)

Tabel 6.1 Karakteristik morfologi koloni BAL dari kefir susu kambing

Kode Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Ukuran
KS1	Bulat	Rata	Cembung	Putih	0,2 mm
KS2	Irregular	Rata	Cembung	Putih	0,6 mm
KS3	Bulat	Rata	Cembung	Putih	0,3 mm
KS4	Bulat	Rata	Cembung	Putih	0,3 mm

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 6.1 diketahui bahwa koloni yang diamati mempunyai bentuk, tepian, elevasi, dan warna yang sama pada isolat KS1, KS3, dan KS4 yaitu bentuk bulat, tepian rata, elevasi cembung, dan warna putih. Berdasarkan hal tersebut, maka dapat diketahui bahwa isolat tersebut mempunyai ciri morfologi seperti ciri ciri BAL. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sulmiyati dkk.

(2018), yang mengatakan bahwa koloni yang diperkirakan sebagai bakteri asam laktat berdasarkan pengamatan makroskopik, isolat memiliki bentuk melingkar dengan tepi rata, elevasi cembung, dan warna putih susu. Menurut Ismail, Yulvizar and Mazhitov (2018), menyebutkan bahwa BAL merupakan bakteri Gram positif, memiliki bentuk bulat dan batang, tidak menghasilkan spora, bersifat anaerob fakultatif, katalase negatif, dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir metabolisme

6.1.1 Pewarnaan Gram

Teknik pewarnaan yang digunakan untuk menentukan bakteri Gram positif atau Gram negatif adalah melalui pewarnaan Gram. Uji pewarnaan Gram memiliki tujuan untuk mengkategorikan isolat melalui perbedaan struktur dinding sel bakteri. Pewarnaan Gram dilakukan dengan meneteskan *crystal violet* sebagai pewarna utama yang dapat menentukan suatu bakteri termasuk Gram positif atau Gram negatif. Pada bakteri Gram positif akan terlihat hasil warna ungu. Hal ini dikarenakan bakteri dapat mengikat zat pewarna *crystal violet*. Sedangkan pada bakteri Gram negatif akan terlihat bewarna merah. Hal ini dikarenakan bakteri tidak bisa mengikat zat pewarna *crystal violet* (Kurnia dkk, 2020)

Sifat Gram bakteri berhubungan dengan sifat fisik dan sifat kimia dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki lapisan dinding sel atau peptidoglikan yang lebih tebal sedangkan bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang lebih tipis. Hal ini membuat bakteri Gram positif mampu mempertahankan warna *crystal violet* setelah ditetesi dengan alkohol 96% karena sel mengalami dehidrasi yang menyebabkan pori mengecil dan permeabilitasnya berkurang sehingga zat pewarna utama yaitu *crystal violet* tetap ada (Purwaningsih dan Wulandari, 2021).

Tabel 6.2 Hasil pewarnaan Gram isolat BAL dari kefir susu kambing

Kode Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
KS1	Positif	Batang
KS2	Negatif	Batang
KS3	Positif	Batang
KS4	Positif	Batang

Berdasarkan Tabel 6.2 menunjukkan bahwa isolat KS1, KS3, dan KS4 merupakan Gram positif yang ditandai dengan warna ungu. Sedangkan pada isolat KS2 merupakan Gram negatif dengan keberadaan warna merah. Hasil pengamatan pada 3 isolat Gram positif menunjukkan sel yang memiliki bentuk batang yang diduga termasuk genus *Lactobacillus*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Putri dan Kusdiyantini (2018), yang menyebutkan bahwa BAL dari genus *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri antara lain bakteri Gram positif dengan bentuk batang, koloni berwarna putih susu atau krem.

6.1.2 Pewarnaan Endospora

Identifikasi berikutnya yaitu menggunakan pewarnaan endospora. Endospora adalah struktur dengan dinding tebal pada sel bakteri yang dibentuk dibagian membran sel. Bakteri dengan endospora memiliki kemampuan dalam mempertahankan diri pada kondisi yang kurang menguntungkan misalnya seperti panas terlalu tinggi, kondisi kurang air dan radiasi (Astuti, 2008). Pada pewarnaan endospora memerlukan pewarna *malachite green* untuk menentukan apakah sel bakteri tersebut membentuk sel spora yang mampu berikatan secara kuat dengan zat pewarna *malachite green* atau bakteri tersebut tidak membentuk sel spora sehingga tidak tahan terhadap zat pewarna *malachite green* karena hanya memiliki sel vegetatif saja. (Pratitia dan Surya, 2021)

Pada bakteri yang tidak membentuk sel spora atau hanya ada sel vegetatif setelah pemberian zat pewarna *malachite green* dan dicuci dengan akuades zat pewarna *malachite green* akan memudar karena sel vegetatif tidak mampu mengikat zat pewarna *malachite green* secara kuat. Akibatnya setelah pemberian pewarna safranin, sel vegetatif akan berikatan dengan safranin sehingga membentuk sel yang berwarna merah (Misgiyarta dan Widowati, 2007).

Tabel 6.3 Hasil pewarnaan endospora isolat BAL dari kefir susu kambing

Kode Isolat	Pewarnaan Endospora
KS1	Negatif
KS2	Negatif
KS3	Negatif
KS4	Negatif

Berdasarkan Tabel 6.3 menunjukkan bahwa keseluruhan isolat bakteri yang didapatkan memiliki sel berwarna merah muda, sehingga bakteri tersebut dikatakan tidak membentuk endospora. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat dapat diperkirakan sebagai BAL. Menurut (Laily dkk, 2013), endospora negatif termasuk ciri umum BAL. BAL tidak membentuk endospora, sehingga ketika dilakukan pewarnaan, sel vegetatif akan terlihat merah muda.

6.1.3 Uji Katalase

Identifikasi berikutnya menggunakan uji katalase. Uji katalase merupakan salah satu uji biokimia yang menggunakan bahan H_2O_2 3% atau hidrogen peroksida untuk mengetahui kemampuan BAL dalam memproduksi enzim katalase. Suatu bakteri dapat dikatakan katalase positif apabila terdapat gelembung ketika ditetesi H_2O_2 . Sedangkan bakteri dikatakan katalase negatif apabila ditetesi dengan H_2O_2 tidak terdapat gelembung. BAL merupakan bakteri katalase negatif. Hal ini

dikarenakan BAL tidak memproduksi enzim katalase, sehingga tidak dapat menguraikan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Suardana dkk, 2018).

Tabel 6.4 Hasil uji katalase isolat BAL dari kefir susu kambing

Kode Isolat	Uji Katalase
KS1	Negatif
KS2	Positif
KS3	Negatif
KS4	Negatif

Berdasarkan Tabel 6.4 menunjukkan bahwa pada isolat KS1, KS3, dan KS4 memiliki hasil katalase negatif yang diduga merupakan salah satu sifat dari BAL. Sedangkan pada isolat KS2 memiliki hasil katalase positif. Reaksi negatif pada uji katalase ditunjukkan dengan tidak terdapat gelembung udara, ketika ditetesi hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%, sedangkan reaksi positif ditunjukkan dengan terdapat gelembung udara, ketika ditetesi hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%. Gelembung tersebut merupakan gas O_2 yang terbentuk akibat penguraian H_2O_2 oleh enzim katalase dari bakteri tersebut. (Ismail, Yulvizar dan Mazhitov, 2018)

6.1.4 Uji Tipe Fermentasi

Pada uji fermentasi dilakukan untuk menentukan apakah bakteri asam laktat termasuk kedalam bakteri homofermentatif atau heterofermentatif. Bakteri asam laktat dikelompokkan dalam 2 tipe fermentasi yaitu kelompok homofermentatif merupakan kelompok bakteri asam laktat hanya mampu memproduksi satu hasil akhir dengan mengubah glukosa menjadi produk utama yaitu asam laktat. Sedangkan kelompok heterofermentatif merupakan kelompok bakteri asam laktat yang mampu memproduksi hasil akhir tidak hanya asam laktat akan tetapi mampu memproduksi bermacam macam senyawa lainnya, seperti asam asetat, etanol, CO_2 , dan asam format (Holzapfel dkk., 2015)

Tabel 6.5 Hasil Uji Tipe Fermentasi isolat BAL dari kefir susu kambing

Kode Isolat	Tipe Fermentasi
KS1	Heterofermentatif
KS2	Heterofermentatif
KS3	Heterofermentatif
KS4	Heterofermentatif

Berdasarkan tabel 6.5 menunjukkan bahwa semua isolat termasuk kedalam kelompok heterofermentatif. Hal ini ditandai dengan adanya gelembung gas pada tabung durham. genus *Lactobacillus* dapat terjadi proses fermentasi secara homofermentatif atau heterofermentatif. Pada kelompok heterofermentatif mempunyai kemampuan untuk menghasilkan senyawa selain asam laktat, seperti karbondioksida (CO₂), asam asetat, asam format, dan etanol (Holzapfel dkk., 2015)

6.1.5 Uji MR

Pada uji MR (Methyl Red) dilakukan untuk menentukan apakah bakteri asam laktat dapat merubah glukosa dengan menghasilkan produk akhir berupa asam (Fallo, 2016)

Tabel 6.6 Hasil uji MR isolat BAL dari kefir susu kambing

Kode Isolat	Uji MR
KS1	Positif
KS2	Positif
KS3	Positif
KS4	Positif

Berdasarkan tabel 6.6 menunjukkan bahwa semua isolat memiliki hasil uji MR positif. Hal ini ditandai dengan munculnya warna merah pada media setelah ditambahkan *methyl red*. menurut Brown (2001) warna merah muncul akibat penurunan pH karena asam yang dihasilkan dari fermentasi glukosa. Hasil ini sesuai

dengan karakteristik bakteri asam laktat yaitu memiliki hasil positif pada uji MR (Surono, 2004)

6.2 Karakterisasi Genus Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Buku *Lactic Acid Bacteria Biodiversity and Taxonomy* (2014)

Tabel 6.7 Rangkuman Karakteristik BAL pada Kefir Susu Kambing

Kode Isolat	Morfologi Koloni				Gram	Endospora	MR	Katalase	Tipe Fermentasi
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna					
KS1	Bulat	Rata	Cembung	Putih	+	-	+	-	Heterofermentatif
KS2	<i>Irregular</i>	Rata	Cembung	Putih	-	-	+	+	Heterofermentatif
KS3	Bulat	Rata	Cembung	Putih	+	-	+	-	Heterofermentatif
KS4	Bulat	Rata	Cembung	Putih	+	-	+	-	Heterofermentatif

Hasil karakterisasi yang telah dilakukan sesuai dengan tabel 6.6 dapat diketahui bahwa didapatkan tiga isolat yang merupakan bakteri asam laktat. Tiga isolat tersebut merupakan genus *Lactobacillus*. Genus *Lactobacillus* yakni isolat dengan kode KS1, KS3 dan KS4, dengan ciri-ciri termasuk Gram positif dengan sel berbentuk batang, endospora negatif, katalase negatif dan fermentasi tipe heterofermentatif.

Ciri morfologi koloni dan morfologi sel tersebut sesuai dengan buku *Lactic Acid Bacteria Biodiversity and Taxonomy* (2014) yang menyatakan bahwa genus *Lactobacillus* memiliki sel berbentuk batang memanjang, dan biasanya berantai pendek. Genus *Lactobacillus* termasuk bakteri Gram-positif, non-spora, tidak bergerak, dan anaerob fakultatif. Morfologi koloni BAL biasanya memiliki bentuk bulat, tepi utuh, elevasi cembung dan berwarna putih. Produk akhir fermentasi adalah asam laktat. Tumbuh pada suhu optimum sekitar 30-40°C. Genus *Lactobacillus* banyak terdistribusi pada makanan nabati dan hewani.

Sedangkan pada isolat KS2 memiliki ciri morfologi koloni yaitu bentuk *irregular*, tepi rata, elevasi cembung dan warna putih. Morfologi sel berbentuk batang, termasuk bakteri Gram negatif, tidak memiliki endospora, katalase positif, hasil uji MR positif dan tipe fermentasi heterofermentatif. Berdasarkan ciri ciri tersebut isolat KS2 bukan merupakan tergolong BAL atau bakteri asam laktat karena sesuai buku referensi yang digunakan yaitu *Lactic Acid Bacteria Biodiversity and Taxonomy (2014)* ciri morfologi koloni dan morfologi sel tersebut tidak sesuai dengan BAL.

6.3 Integrasi Islam

Kefir merupakan susu fermentasi yang saat ini telah dikenal diseluruh dunia. Asal susu kefir sendiri dalam sejarahnya adalah dari masyarakat pengunungan Kaukasus, Tibet atau Mongolia, 2000 tahun sebelum masehi. Farnworth (1999) menjelaskan bahwa sebelum tercatat dalam sejarah, kefir mulanya berasal dari nabi Muhammad yang memberikan kefir grain kepada penduduk Kristen Ortodoks yang tinggal di wilayah Kaukasus di Georgi. Kalimat diatas menyebutkan bahwa kefir telah dimanfaatkan pada zaman rasulullah. Seperti yang kita ketahui bahwa minuman kefir terbuat dari bahan dasar susu. Penciptaan susu merupakan salah satu tanda kebesaran Allah di alam semesta seperti yang tercantum dalam firman Allah surat Al Baqarah ayat 29.

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَّا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

Dialah (Allah) yang menciptakan segala apa yang ada di bumi untukmu kemudian Dia menuju ke langit, lalu Dia menyempurnakannya menjadi tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu (Q.S. Al Baqarah: 29)

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan segala apa yang ada di bumi sebagai rahmat untuk kemaslahatan umat manusia. Manusia memiliki hak untuk memanfaatkan kekayaan yang ada di alam semesta untuk meningkatkan

kesejahteraan mereka, salah satunya bisa memanfaatkan mikroorganisme yang memiliki banyak manfaat untuk kehidupan manusia. Ayat diatas juga mengingatkan manusia untuk selalu bersyukur atas apa yang Allah ciptakan di alam semesta.

Berdasarkan firman Allah dalam surat An Nahal ayat 66 disebutkan bahwa dalam susu terdapat banyak manfaat bagi manusia. Oleh karena itu susu menjadi minuman yang bagi masyarakat luas, baik anak kecil maupun dewasa. Ash-Shiddieqy (2000) menyebutkan bahwa apabila Nabi Muhamad meminum susu beliau senantiasa membaca doa

اللَّهُمَّ بَارِكْ لَنَا فِيهِ وَزِدْنَا مِنْهُ

“Wahai Tuhanku, berkatilah kami padanya dan tambahkanlah kepada kami daripadanya (H.R Muslim)

Doa diatas sebagaimana hadis yang diriwayatkan oleh Abu Dawud dan Ibnu Majah dengan sanad hasan Nabi *Shallallahu Alaihi Wassallam* bersabda

وَمَنْ سَقَاهُ اللَّهُ لَبَنًا , فَلْيَقُلْ : اللَّهُمَّ بَارِكْ لَنَا فِيهِ , وَزِدْنَا مِنْهُ , فَإِنِّي لَا أَعْلَمُ مَا يُجْزَى مِنَ الطَّعَامِ وَالشَّرَابِ إِلَّا اللَّبَنُ

“Barangsiapa yang diberi minum susu, maka hendaklah membaca “Ya Allah limpahkanlah barakah kepada kami dalam susu ini dan tambahkanlah”, karena tidak ada makanan dan minuman apapun yang dapat mencukupi selain susu” (H.R Muslim)

Dari hadits diatas telah disebutkan bahwa susu merupakan minuman yang baik karena dapat memberikan nutrisi dan menyehatkan badan hingga Nabi Muhammad memberikan bacaan doa khusus untuk meminum susu, dalam hal ini dapat diartikan tidak hanya susu murni akan tetapi seluruh makanan atau minuman yang terbuat dari bahan dasar susu, salah satunya yaitu kefir.

Firman Allah dalam surat an-Nahl ayat 66 merupakan salah satu tanda kebesaran Allah. Ayat tersebut dapat dijadikan sebagai pelajaran bagi manusia untuk selalu mengingat kekuasaan dan rahmat Allah untuk selalu beribadah kepada-Nya dengan cara mensyukuri nikmat yang telah diberikan-Nya. Dengan memahami dan mengambil pelajaran dari ayat tersebut maka manusia dapat meningkatkan keimaannya dan selalu bertakwa pada Allah yaitu mengerjakan apa yang diperintah oleh Allah dan menjauhi larangan-Nya (Al-Jazairi, 2007)

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

1. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari kefir susu kambing peranakan etawa didapatkan empat isolat dan tiga diantaranya merupakan genus *Lactobacillus*.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan disarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut untuk menentukan tingkat molekuler dari tiga isolat BAL (bakteri asam laktat)
2. Perlu dilakukan uji tambahan seperti uji motilitas untuk membantu menentukan jenis genus bakteri pada isolat KS2
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui mikroba selain BAL (bakteri asam laktat) yang terdapat pada kefir susu kambing peranakan etawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Jazairi, Abu Bakar Jabir. (2007). Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar Jilid 4. Jakarta: Darus Sunnah Press
- Angulo, L., Lopez, E., and Lema, C. (1993). Microflora present in kefir grains of the Galician region (north-west of Spain). *J. Dairy Res.* 60:263– 267
- Arifin, M. I. T. (2013). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Senyawa Fenol dari Limbah Cair Industri Kertas* (Doctoral dissertation, Universitas Pendidikan Indonesia).
- Aryanta, I.W.R. (2021) 'Kefir Dan Manfaatnya Bagi Kesehatan', 3(1), p. 4.
- Ash-Shiddieqy, Teungku Muhammad Hasbi. (2000). Tafsir Al-Qur'an Majid An Nuur Jilid 3. Semarang: Pustaka Rizki Putra
- Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-*, 139, 1-66.
- Beshkova, D. M., Simova, E. D., Simov, Z. I., Frengova, G. I., and Spasov, Z. N. (2002). Pure cultures for making kefir. *Food Microbiol.* 19:537–544.
- Björkroth, J. and Holzapfel, W. (2006) 'Genera Leuconostoc, Oenococcus and Weissella', in M. Dworkin dkk. (eds) *The Prokaryotes*. New York, NY: Springer US, pp. 267–319.
- Brown, A. 2001. Microbiological Application Lab Manual. 8 th Ed. The McGraw-Hill Companies, New York.
- Cais-Sokolińska, D. dkk. (2015) 'Formation of volatile compounds in kefir made of goat and sheep milk with high polyunsaturated fatty acid content', *Journal of Dairy Science*, 98(10), pp. 6692–6705.
- Chambel, L. dkk. (2006) 'Leuconostoc pseudoficulneum sp. nov., isolated from a ripe fig', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(6), pp. 1375–1381.
- Drake, H.L. (2014) 'The genus Lactovum', in W.H. Holzapfel and B.J.B. Wood (eds) *Lactic Acid Bacteria*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, pp. 447–455.
- Endo, A. and Dicks, L.M.T. (2014) 'The genus Oenococcus', in W.H. Holzapfel and B.J.B. Wood (eds) *Lactic Acid Bacteria*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, pp. 405–415.
- Endo, A. and Okada, S. (2008) 'Reclassification of the genus Leuconostoc and proposals of Fructobacillus fructosus gen. nov., comb. nov., Fructobacillus

durionis comb. nov., Fructobacillus ficulneus comb. nov. and Fructobacillus pseudoficulneus comb. nov.', *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 58(9), pp. 2195–2205.

Eni, E. (2022). Aktivitas Bakteriosin Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Limbah Cair Tempe Dalam Menghambat Bakteri Bacillus Subtilis Dan Pseudomonas Aeruginosa 'Program Studi Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang 2022', p. 106.

Farnworth, E. R. (1999). Kefir: from folklore to regulatory approval. *Journal of nutraceuticals, functional & medical foods*, 1(4), 57-68.

Farnworth, E. R. and Mainville, I. (2003). Kefir: A fermented milk product. In: *Handbook of Fermented Functional Foods*, pp. 77–111. Farnworth, E. R., Ed., CRC Press, Boca Raton, FL.

Fanani, Z. and Thohari, I. (2018) 'Preferensi Konsumen Produk Kefir Susu Kambing Di Malang', *Jurnal Nusantara Aplikasi Manajemen Bisnis*, 3(1), p. 54.

Haakensen, M. dkk. (2009) 'Reclassification of *Pediococcus dextrinicus* (Coster and White 1964) Back 1978 (Approved Lists 1980) as *Lactobacillus dextrinicus* comb. nov., and emended description of the genus *Lactobacillus*', *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 59(3), pp. 615–621.

Haenlein, G. F. W. (2004). Goat milk in human nutrition. *Small ruminant research*, 51(2), 155-163.

Hammes, W.P. and Hertel, C. (2015) '*Lactobacillus*', in W.B. Whitman dkk. (eds) *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. 1st edn. Wiley, pp. 1–76..

Hardie, J.M. and Whiley, R.A. (2006) 'The Genus *Streptococcus*—Oral', in M. Dworkin dkk. (eds) *The Prokaryotes*. New York, NY: Springer US, pp. 76–107.

Holzapfel, Wilhelm.H. dkk. (2015) '*Pediococcus*', in W.B. Whitman dkk. (eds) *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. 1st edn. Wiley, pp. 1–15.

Iacob, S., Iacob, D.G. and Luminos, L.M. (2019) 'Intestinal Microbiota as a Host Defense Mechanism to Infectious Threats', *Frontiers in Microbiology*, 9, p. 3328.

Ismail, Y., Yulvizar, C. and Mazhitov, B. (2018) 'Characterization of lactic acid bacteria from local cow's milk kefir', *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 130, p. 012019.

- Jianzhong, Z., Xiaoli, L., Hanhu, J., and Mingsheng, D. (2009). Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiol.* 26:770–775.
- Katepogu, H. dkk. (2022) 'Isolation and Characterization of *Pediococcus* sp. HL V1 from Fermented Idly Batter', *Fermentation*, 8(2), p. 61.
- Kinteki, G.A., Rizqiaty, H. and Hintono, A. (2018) 'Pengaruh Lama Fermentasi Kefir Susu Kambing Terhadap Mutu Hedonik, Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Total Khamir, dan pH', p. 9.
- Laily, Ikrimah Nur, Rohula Utami, dan Esti Widowati. 2013. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin Dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan.* 2(4): 179- 184.
- Liut Kevicius, A. and Sarkinas, A. (2004). A Studies on the growth conditions and composition of kefir grains as a food and forage biomass. *Dairy Science Abstracts* 66:903.
- Magalhaes, K. T., Pereira, G. V. M., Dias, D. R., and Schwan, R. F. (2010). Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. *World J. Microbiol Biotechnol* 26:1241–1250.
- Malbasa, R. V., Milanović, S. D., Lončar, E. S., Djurić, M. S., Carić, M. D., Ilić, M. D., and Kolaro, L. (2009). Milk-based beverages obtained by Kombucha application. *Food Chem.* 112:178–184.
- Marshall, V. M. and Cole, W. M. (1985). Methods for making kefir and fermented milks based on kefir. *J. Dairy Res.* 52:451–456.
- Mundiri, N.A., Megantara, I. and Anggaeni, T.T.K. (2020) 'Kajian Pustaka: Pemanfaatan Ekso polisakarida Bakteri Asam Laktat Probiotik Asal Produk Pangan Fermentasi sebagai Imunomodulator', *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(5), pp. 849–859.
- Nyanga, L.K. dkk. (2007) 'Yeasts and lactic acid bacteria microbiota from masau (*Ziziphus mauritiana*) fruits and their fermented fruit pulp in Zimbabwe', *International Journal of Food Microbiology*, 120(1–2), pp. 159–166.
- Park, Y.W. (2004) 'Goat Milk: Composition, Characteristics', in A.W. Bell and W.G. Pond (eds) *Encyclopedia of Animal Science*. 0 edn. CRC Press, pp. 474–477.
- Piermaria, J. A., Pinotti, A., Garcia, M. A., and Abraham, A. G. (2009). Films based on kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: Development and characterization. *Food Hydrocolloid* 23:684–690
- Plessas, S., Trantallidi, M., Bekatorou, A., Kanellaki, M., Nigam, P., and Koutinas, A. A. (2007). Immobilization of kefir and *Lactobacillus casei* on brewery

spent grains for use in sourdough wheat bread making. *Food Chem.* 105:187–194.

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.* 1(1): 1-5.

Purwaningsih Desi dan Destik Wulandari. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Sains Kesehatan.* 3(5): 2303-0267.

Putri, Adde Lolita Octavia dan Endang Kusdiyantini. 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.

Rumaisha, R., Aldrat, H. and Betha, O.S. (2021) 'Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Kefir Susu Kambing Saanen (*Capra aegagrus Hircus*)', *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal (PBSJ)*, 2(2).

Simpson, P.J. dkk. (2006) 'Enumeration and identification of pediococci in powder-based products using selective media and rapid PFGE', *Journal of Microbiological Methods*, 64(1), pp. 120–125.

St-Onge, M.-P., Farnworth, E.R. and Jones, P.J. (2000) 'Consumption of fermented and nonfermented dairy products: effects on cholesterol concentrations and metabolism', *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(3), pp. 674–681.

Sulmiyati, Nur Saidah Said, Deka Uli Fahrodi, Ratmawati Malaka dan Fatma Maruddin. (2018). The Characteristics Of Lactic Acid Bacteria Isolated From Indonesian Commercial Kefir Grain. *Malaysian Journal of Microbiology.* 4(7): 632-639

Surono, I.S. (2004). Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. Tri Cipta Karya, Jakarta

Suter, I.K. (2013) 'Pangan Fungsional Dan Prospek Pengembangannya 1)', p. 17.

Toit, M. du dkk. (2014) 'The genus *Streptococcus*', in W.H. Holzapfel and B.J.B. Wood (eds) *Lactic Acid Bacteria*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, pp. 457–505.

Utama, Cahya Setya, Zuprizal, Chusnul Hanim dan Wihandoyo. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan.* 7 (1): 1-6.

Webb, B. H., Johnson, A. H., and Alford, J. A. (Eds.) (1987). Composition of milk products. *Fundamentals of Dairy Chemistry*, p. 64. CBS Publishers and Distributors, Delhi.

Yang, Z., Zhou, F., Ji, B., Li, B., Luo, Y., Yang, L., and Li, T. (2010). Symbiosis between microorganisms from kombucha and kefir: Potential significance to the enhancement of kombucha function. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 160:446–455

Yuniastuti, A. (2014) 'Peran Pangan Fungsional Dalam Meningkatkan Derajat Kesehatan', p. 11.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian



Sampel Kefir Susu Kambing
Peranakan Etawa



Media MRSA + CaCO₃ 1%



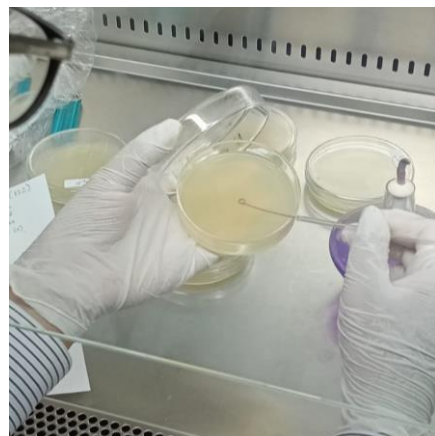
Media MRSB



Pengenceran Bertingkat 10^{-1} sampai
dengan 10^{-7}



Kultur bakteri pada media MRSA



Pemurnian Isolat Bakteri



Hasil Pemurnian Isolat KS3



Uji Pewarnaan Gram



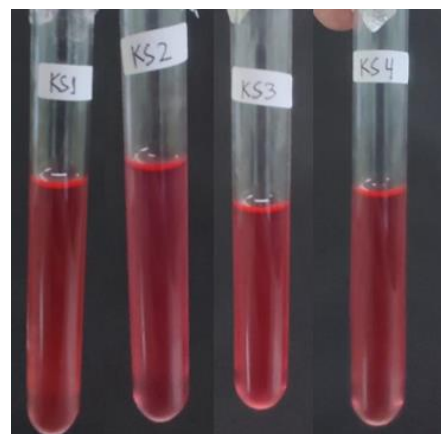
Uji Pewarnaan Endospora



Uji Katalase



Hasil Uji Tipe Fermentasi



Hasil Uji MR

Lampiran 2. Layak Etik

	FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN Kampus 3 FKIK Gedung Ibnu Thufail Lantai 2 Jalan Locari, Tlekung Kota Batu E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id
	KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 132/E/KEPK-FKIK/2022

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul : Potensi Kefir Susu Kambing Sebagai Minuman Suplemen Kesehatan Untuk Calon Jemaah Haji

Sub Judul : Potensi Kefir Susu Kambing Sebagai Minuman Suplemen Kesehatan Untuk Calon Jemaah Haji

Peneliti :
- Larasati Sekar Kinasih, M.Gz
- dr. Tias Pramesti G, M.Biomed
- Ahmad Nur Habib Rahmatulla
- Siti Fadilla
- Ahmad Taufiqurrahman Arrasyid
- Arsalan Basuki Putra

Unit / Lembaga : Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

Tempat Penelitian : Laboratorium Riset FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan Kecamatan Lawang, Kabupaten Malang

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Malang, 03 Oktober 2022

Ketua



dr. Doby Indrawan, MMRS
NIP.1978100120170101113

Keterangan :

- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokoldan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembalipermohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).