



Isolasi dan Karakterisasi *Lactobacillus* Species dari Susu Kambing Peternakan Lokal

Isolation and Characterization of *Lactobacillus* Species from Local Goat's Milk

Cindy Octaviana¹, Medista Lisa Watumbara¹, Marcelia Sugata¹, Juandy Jo^{1*}

¹Program Studi Biologi, Universitas Pelita Harapan

Jl. M. H. Thamrin Boulevard, Tangerang, Banten 1100, Indonesia

Email: juandy.jo@uph.edu

*Penulis Korespondensi

Abstract

The goat's milk could be a source of various lactic acid bacteria (LAB), including *Lactobacillus* species, which have probiotic potential and are commonly used along with other microorganisms to ferment various food. In this study, LAB, particularly *Lactobacillus* spp., were isolated and characterized from local goat's milk. Twenty-five bacterial isolates were initially isolated from the goat's milk, in the isolates were further characterized based on Bergey's Manual of Systematics Archaea and Bacteria, including morphological characterization, biochemical characterization, and tolerance tests. Morphological characterization was conducted via the bacterial isolates' Gram, endospore, and acid-fast staining. Selected isolates underwent biochemical characterization, including catalase, hemolytic activity, and carbohydrate fermentation tests. The further selected isolates were tested for their tolerance towards various NaCl, pH, or temperature conditions. Based on those results, isolates B4 and B6 were selected as they exhibited characteristics comparable to *Lactobacillus* spp., i.e., bacilli or coccobacilli in shape, Gram positive, non-endospore forming, non-acid fast, catalase-negative, unable to ferment mannitol, sensitive towards high concentrations of NaCl, and grow well within pH 5.5-6.2 and on 37-45°C. Both isolates were finally analysed via the 16S rRNA sequencing, in which the result demonstrated that B4 was *Lactocaseibacillus paracasei* and that B6 was *Limosilactobacillus fermentum*. In conclusion, this study demonstrated that local goat's milk could be used to isolate *Lactobacillus* spp.

Keywords: Goat's milk, lactic acid bacteria, *Lactocaseibacillus paracasei*, *Limosilactobacillus fermentum*, 16S rRNA sequencing

Abstrak

Mikrobiota susu kambing dapat mencakup bakteri asam laktat (BAL), khususnya *Lactobacillus* spp., yang berpotensi sebagai kandidat probiotik dan dapat dipergunakan dalam berbagai produk fermentasi. Pada penelitian ini, dilakukan isolasi dan karakterisasi BAL, khususnya *Lactobacillus* spp., dari susu kambing yang berasal dari peternakan lokal. Pada awalnya, didapatkan 25 isolat BAL dari susu kambing lokal. Semua isolat dikarakterisasi sesuai *Bergey's Manual of Systematics Archaea and Bacteria*, yang dimulai dengan pewarnaan Gram, endospora dan ketahanan asam. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas biokimia (uji aktivitas katalase, uji aktivitas hemolitik, serta uji fermentasi karbohidrat) dan uji ketahanan isolat terhadap berbagai konsentrasi NaCl, pH dan suhu. Berdasarkan hasil yang diperoleh, isolat B4 dan B6 dipilih untuk diidentifikasi lebih lanjut. Kedua isolat menunjukkan kemiripan karakteristik dengan *Lactobacillus* spp., yaitu berbentuk basil atau kokobasil, Gram positif, tidak membentuk spora, tidak tahan asam, katalase negatif, tidak memfermentasi manitol, sensitif terhadap konsentrasi NaCl tinggi, serta tumbuh optimum pada pH 5.5-6.2 dan pada suhu 37-45°C. Identifikasi kedua isolat berdasarkan sekuens 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat B4 adalah *Lactocaseibacillus paracasei* dan isolat B6 adalah *Limosilactobacillus fermentum*. Sebagai kesimpulan, penelitian ini menunjukkan bahwa susu kambing peternakan lokal dapat menjadi sumber alternatif untuk mendapatkan isolat *Lactobacillus* spp.

Kata kunci: Bakteri asam laktat, *Lactocaseibacillus paracasei*, *Limosilactobacillus fermentum*, susu kambing, 16S rRNA sequencing.

Diterima: 20 Desember 2022, Direvisi: 10 Juni 2023, Disetujui: 10 Juni 2023

Copyright© 2023. Cindy Octaviana, Medista Lisa Watumbara, Marcelia Sugata, Juandy Jo



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

How to Cite : Octaviana, C., Watumbara, M. L., Sugata, M. & Jo, J. (2023). Isolasi dan Karakterisasi *Lactobacillus* Species dari Susu Kambing Peternakan Lokal. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati 8(3): 296-305.

Pendahuluan

Bakteri asam laktat (BAL) menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dari metabolisme anaerobik dan mensintesis berbagai metabolit yang bermanfaat (Ruiz Rodríguez *et al.*, 2019; Febriana *et al.*, 2021). Oleh karena itu, BAL sering diisolasi dari berbagai sumber karena potensi kegunaannya, misal sebagai kultur starter dari berbagai produk fermentasi. Salah satu jenis BAL yang umum diisolasi dan dipergunakan dalam industri yogurt dan keju adalah *Lactobacillus* spesies (Tannock, 2004).

Dalam industri makanan, susu sapi sangat umum digunakan dan juga sering dijadikan sebagai sumber untuk mengisolasi BAL. Susu kambing dapat menjadi alternatif dari susu sapi karena memiliki kandungan nutrisi yang baik, seperti laktosa, protein, lemak, kalium, magnesium dan kalsium, vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, serta vitamin B12 (Mega *et al.*, 2020). Susu kambing diketahui memiliki keunggulan yang diasosiasikan dengan digestibilitas yang lebih baik ketika dibandingkan dengan susu sapi. Hal ini dikarenakan komposisi lemak susu kambing yang terdiri atas *medium-chain saturated fatty acids* yang memainkan peranan dalam pencernaan lemak susu yang lebih baik (Prosser, 2021). Selain itu, susu kambing juga dapat dicerna dengan lebih baik daripada susu sapi karena memiliki konsentrasi protein alpha-S1-casein yang lebih rendah (Mega *et al.*, 2020). Protein alpha-S1-casein adalah salah satu dari empat protein casein di susu, yaitu, alpha-S1-casein, alpha-S2-casein, beta-casein, dan kappa-casein. Beberapa studi menunjukkan alergi susu sapi berasosiasi dengan konsentrasi protein alpha-S1-casein, sehingga susu kambing, yang memiliki konsentrasi protein alpha-S1-casein lebih rendah dibandingkan dengan susu sapi, diduga memiliki resiko yang lebih rendah untuk menimbulkan reaksi alergi. Selanjutnya, susu kambing dengan konsentrasi protein alpha-S1-casein yang rendah juga dapat mengurangi sensitivitas terhadap beta-lactoglobulin, salah satu alergen utama dalam susu, sehingga dapat meningkatkan pencernaan beta-lactoglobulin secara optimal tanpa menimbulkan reaksi alergi (Hodgkinson *et al.*, 2012).

Susu kambing juga memiliki populasi BAL (Hernández-Saldaña *et al.*, 2016),

sehingga isolasi dan karakterisasi BAL, khususnya *Lactobacillus* spp., dari susu kambing menarik untuk dilakukan. Menurut Badis *et al.* (2004), komposisi BAL dari susu kambing didominasi oleh *Lactobacillus* spp. namun mikrobiota susu kambing dapat bervariasi. Selain itu *Lactobacillus* spp. juga diketahui memiliki sifat probiotik yang dapat memberi manfaat kesehatan, khususnya dalam menyeimbangkan mikrobiota dalam saluran pencernaan (Da Silva *et al.*, 2019). Menurut penelitian, manfaat kesehatan dari *Lactobacillus* spp. sebagai kandidat bakteri probiotik dikarenakan bakteri tersebut dapat memodulasi sistem kekebalan tubuh, melindungi lapisan epitel, serta memiliki efek anti-tumor. Studi oleh Dempsey & Corr (2022) juga mengindikasikan bahwa *Lactobacillus* spp. dapat dipergunakan untuk pengobatan beberapa penyakit, seperti infeksi saluran pernafasan, bacterial vaginosis dan atopik dermatitis.

Di Indonesia, jenis kambing yang umumnya dikembangbiakkan adalah kambing peranakan Etawa dikarenakan beberapa keunggulan, seperti kemampuannya untuk menghasilkan susu, kemampuannya untuk bertumbuh secara cepat, kemampuannya untuk berkembang biak tanpa memerlukan lahan yang luas, serta kemampuannya untuk beradaptasi terhadap suhu dan lingkungan di Indonesia (Ratya *et al.*, 2017). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi BAL, khususnya *Lactobacillus* spp., dari susu kambing peranakan Etawa yang berasal dari peternakan lokal di sekitar DKI Jakarta dan Tangerang. Hasil identifikasi secara biokimia dan 16S rRNA *sequencing* membuktikan bahwa *Lactobacillus* spp., khususnya *Lactobacillus paracasei* dan *Limosilactobacillus fermentum*, dapat diisolasi dari susu kambing peternakan lokal.

Metode Penelitian

Bahan

Peptone saline water dengan konsentrasi 0,1% dibuat dengan mencampurkan pepton dan NaCl dalam akuades dan dipergunakan untuk mengencerkan susu kambing. Medium De Man, Rogosa, and Sharpe/MRS (Liofilchem, Italia) dipergunakan untuk menguji ketahanan bakteri

terhadap NaCl, pH dan suhu. Medium MRS agar/MRSA (campuran antara MRS dan 1,5% *bacteriological agar* [Merck, Amerika Serikat]) dipergunakan untuk menunjang pertumbuhan BAL dari hasil *spreading* susu kambing yang diencerkan dengan 0,1% *peptone saline water*. Medium agar darah dibuat dengan mencampurkan *blood agar base* (Liofilchem, Italia) dengan 5% sel darah merah domba dan dipergunakan untuk uji hemolitik. Medium *phenol red carbohydrate* dibuat dengan mencampurkan pepton, *beef extract*, NaCl, 0,25% *phenol red*, akuades, serta salah satu jenis karbohidrat yang diuji, dimana medium ini dipergunakan untuk uji fermentasi karbohidrat tertentu. Sampel susu kambing diperoleh dari tiga peternakan di DKI Jakarta dan Tangerang yang berasal dari jenis kambing peranakan Etawa. Susu segar yang diperah pada hari tersebut langsung dipergunakan untuk mengisolasi bakteri pada hari yang sama.

Isolasi bakteri kandidat *Lactobacillus* spp. dari susu kambing

Isolasi BAL dari susu kambing dilakukan dengan metode dilusi bertingkat menggunakan 0,1% *peptone saline water*. *Spreading* hasil dilusi dilakukan pada medium MRSA, dilanjutkan dengan inkubasi secara mikroaerofilik pada suhu 37°C dan 42°C selama 48 jam. Koloni bakteri yang tumbuh lalu dimurnikan lebih lanjut dengan metode *three-way streak* (Talib *et al.*, 2019; Yanis & Agustin, 2020).

Identifikasi dan karakterisasi isolat bakteri

Identifikasi morfologi bakteri yang dilakukan adalah uji pewarnaan Gram (Bazireh *et al.*, 2020), endospora (Koelangan, 2018), serta pewarnaan tahan asam (Urshev *et al.*, 2014). Karakterisasi isolat dilakukan sesuai *Bergey's Manual of Systematics Archaea and Bacteria*, mencakup uji aktivitas katalase dengan 3% hidrogen peroksida dimana *Escherichia coli* dipergunakan sebagai kontrol positif (Dewi, 2013), uji aktivitas hemolitik menggunakan agar darah (Chotiah & Damayanti 2018), serta uji fermentasi gula dengan menggunakan glukosa, sukrosa, fruktosa, laktosa, maltosa, mannitol, manosa, galaktosa, atau sorbitol dalam medium *phenol red carbohydrate* (Ahirwar *et al.*, 2017).

Phenol red dipergunakan sebagai indikator pH dimana hasil positif ditandai dengan perubahan warna medium dari merah menjadi kuning. Medium dengan laktosa yang diinokulasi *E. coli* dipergunakan sebagai kontrol positif, serta medium yang tidak diinokulasi dipergunakan sebagai kontrol negatif (Islam *et al.*, 2020).

Uji ketahanan isolat bakteri terhadap NaCl, pH rendah dan suhu

Uji ketahanan isolat terhadap NaCl dilakukan dengan memaparkan 1% kultur isolat bakteri di dalam MRS dengan berbagai konsentrasi NaCl (2%, 4% dan 6,5%) pada suhu 37°C selama 18 jam secara mikroaerofilik. Uji ketahanan terhadap pH rendah dilakukan dengan memaparkan 1% kultur isolat bakteri di dalam MRS dengan berbagai pH (2, 3, 4, 5, 6 dan 7) pada suhu 37°C selama 18 jam secara mikroaerofilik. Uji ketahanan terhadap suhu dilakukan dengan memaparkan 1% kultur isolat bakteri di dalam MRS pada berbagai suhu (7°C, 37°C dan 45°C) selama 18 jam secara mikroaerofilik. Setelah masa inkubasi, dilakukan pengukuran *optical density* (OD) dari kultur cair isolat pada panjang gelombang 600 nm untuk mengukur pertumbuhan bakteri (Anindita *et al.*, 2017).

Identifikasi dengan 16S rRNA sequencing

Analisis 16S rRNA *sequencing* untuk isolat B4 dan B6 dilakukan oleh 1st BASE Laboratories (Malaysia) dengan menggunakan ABI PRISM 3730xI Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Amerika Serikat). Kit yang dipergunakan adalah BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Amerika Serikat). Hasil sekuens parsial dari 16S rRNA diproses menggunakan program komputer Sequence Scanner Software v.2 (Applied Biosystems, Amerika Serikat) dan BioEdit (Ibis Therapeutics, Amerika Serikat). Hasil sekuens parsial dari kedua isolat dibandingkan dengan NCBI GenBank database menggunakan algoritma BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>). Analisis filogenetik dilakukan menggunakan MEGA X (Molecular Evolutionary Genetics Analysis).

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi bakteri asam laktat (BAL), terutama *Lactobacillus* spp., dari susu kambing peranakan Etawa yang berasal dari tiga peternakan lokal di DKI Jakarta dan Tangerang. Dua puluh lima isolat kandidat BAL diperoleh dari susu kambing peternakan lokal, sebagaimana dapat dilihat di Tabel 1. Isolat yang dipilih untuk dikarakterisasi lebih lanjut memiliki morfologi koloni yang sesuai dengan *Lactobacillus* spp., yaitu berbentuk *circular*,

margin *entire*, warna putih, permukaan *smooth*, serta elevasi *flat*, *raised* atau *convex*. Sebanyak 23 isolat dikarakterisasi lebih lanjut melalui pewarnaan Gram, endospora dan tahan asam, sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil pewarnaan *Lactobacillus* spp. diketahui adalah sel yang berbentuk batang, Gram positif, endospora negatif dan tidak tahan asam (De Angelis & Gobetti, 2011). Di antara 23 isolat tersebut, 14 isolat memiliki sel berbentuk batang, Gram positif, endospora negatif dan tidak tahan asam, sehingga diuji lebih lanjut sebagai kandidat *Lactobacillus* spp.

Tabel 1. Morfologi koloni isolat kandidat *Lactobacillus* spp berasal dari susu kambing peranakan Etawa.

Isolat	Bentuk	Margin	Elevasi	Permukaan	Warna
A1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
A2	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B2	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B3	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B4	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B5	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B6	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B7	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B8	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B9	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B10	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B11	<i>Punctiform</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B12	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	<i>Wrinkled</i>	Putih
B13	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B14	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B15	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B16	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B17	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B18	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Smooth</i>	Putih
B19	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih
C1-C4	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	Putih

Keterangan: A1 dan A2 berasal dari susu kambing dari peternakan Ahmad (Jakarta Barat); B1-B19 berasal dari susu kambing dari peternakan Amanah (Tangerang); C1-C4 didapatkan dari susu kambing dari peternakan Raina (Jakarta Selatan).

Tabel 2. Hasil pewarnaan Gram, endospora dan tahan asam dari 14 isolat kandidat bakteri asam laktat.

Isolat	Gram	Endospora	Tahan Asam
A1	+	-	-
A2	+	-	-
B1	+	-	-
B2	+	-	-
B3	+	-	-
B4	+	-	-
B5	+	-	-
B6	+	-	-
B7	+	-	-
B8	+	-	-
B9	-	n/a	n/a
B10	-	n/a	n/a
B13	-	n/a	n/a
B14	-	n/a	n/a
B15	-	n/a	n/a
B16	-	n/a	n/a
B17	-	n/a	n/a
B18	-	n/a	n/a
B19	-	n/a	n/a
C1	+	-	-
C2	+	-	-
C3	+	-	-
C4	+	-	-

Keterangan: Tanda +: hasil positif; tanda -: hasil negatif; n/a: isolat tidak diuji.

Uji aktivitas biokimia dilakukan pada 14 isolat, meliputi uji aktivitas katalase, aktivitas hemolitik, serta fermentasi gula. Uji aktivitas katalase dilakukan dengan meneteskan 3% hidrogen peroksida pada kultur isolat dan melihat adanya gelembung udara yang dihasilkan, dimana gelembung udara menandakan keberadaan enzim katalase pada bakteri. Sebagaimana dapat dilihat di Tabel 3, semua isolat tersebut menunjukkan hasil negatif untuk aktivitas katalase, yang sesuai dengan karakteristik *Lactobacillus* spp. (Tajabadi *et al.*, 2013). Uji aktivitas hemolitik dilakukan karena *Lactobacillus* spp. dapat bersifat gamma-hemolitik atau alfa-hemolitik. Hasil uji aktivitas hemolitik menunjukkan bahwa 6 isolat bersifat

gamma-hemolitik (A1, B2, B6, B7, B8, dan C2) dan 8 isolat bersifat alfa-hemolitik (A2, B1, B3, B4, B5, C1, C3, dan C4). Uji fermentasi gula dilakukan dengan menguji 9 jenis karbohidrat, yaitu, glukosa, fruktosa, sukrosa, laktosa, manosa, maltosa, manitol, sorbitol atau galaktosa, secara terpisah. Sebagaimana dapat dilihat di Tabel 3, glukosa, fruktosa dan laktosa dapat difermentasikan oleh semua isolat, sementara hasil yang beragam ditemukan untuk fermentasi enam karbohidrat lainnya. Berdasarkan *Bergey's Manual of Systematics Archaea and Bacteria* (Hammes & Hertel, 2015), *Lactobacillus* spp. memiliki kemampuan yang beragam untuk fermentasi karbohidrat yang diuji, terkecuali untuk mannitol. Oleh

karena itu, pemilihan isolat untuk uji selanjutnya didasarkan pada ketidakmampuan melakukan fermentasi mannitol, yaitu isolat A2, B2, B4, B6 dan B7. Isolat B1 tidak diuji lebih lanjut berhubung isolat ini tidak tumbuh dengan baik.

Uji ketahanan terhadap NaCl, pH rendah dan suhu selanjutnya dilakukan pada 5 isolat tersebut. Pertumbuhan isolat dinilai dengan menggunakan parameter sebagai berikut: nilai OD <0,1 = tidak ada pertumbuhan; nilai OD antara 0,1-0,3 = pertumbuhan lemah; nilai OD antara 0,3-0,5 = pertumbuhan sedang; nilai OD >0,5 = pertumbuhan kuat (Leoney *et al.*, 2020). Sebagaimana dapat dilihat di Tabel 4, uji ketahanan isolat terhadap berbagai konsentrasi NaCl menunjukkan bahwa semua isolat tumbuh paling baik pada perlakuan NaCl terendah, yaitu 2%. Di antara kelima isolat, isolat B4 menunjukkan kerentanan yang paling tinggi

terhadap NaCl 4% dan 6,5%, dimana isolat tersebut tumbuh lemah atau tidak tumbuh sama sekali. Uji ketahanan pada kelima isolat terhadap pH 2 menunjukkan bahwa isolat A2, B2, B4 dan B7 tidak tumbuh, sementara isolat B6 menunjukkan pertumbuhan yang lemah. Pada pH 3, isolat B2 dan B7 tidak tumbuh, sementara isolat A2, B4 dan B6 menunjukkan pertumbuhan yang lemah. Pada pH 4-7, semua isolat menunjukkan kemampuan tumbuh sedang-kuat. Hasil yang janggal dijumpai untuk isolat B2 pada pH 6 (namun tidak pada pH 5 dan 7), dimana tidak dijumpai adanya pertumbuhan. Berhubung isolat B2 dapat tumbuh di pH 5 dan 7, diduga bahwa hasil pada pH 6 adalah kekeliruan dalam penelitian. Selanjutnya, hasil pengujian pada suhu 7°C menunjukkan tidak ada isolat yang dapat tumbuh, sementara suhu 37°C dan 45°C merupakan suhu yang optimal untuk pertumbuhan dari kelima isolat tersebut.

Tabel 3. Hasil karakterisasi aktivitas biokimia dari 14 isolat kandidat bakteri asam laktat.

Uji Karakterisasi	Isolat													
	A1	A2	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	C1	C2	C3	C4
Aktivitas Katalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aktivitas Hemolitik	γ	α	α	γ	α	α	α	γ	γ	γ	α	γ	α	α
Fermentasi Gula	Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Fruktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Sukrosa	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	Laktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Manosa	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	Maltosa	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
	Mannitol	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+
	Sorbitol	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	Galaktosa	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+

Keterangan: α = alfa-hemolisis; γ = tidak terjadi hemolisis/ γ -hemolisis; tanda +: isolat bakteri dapat katalase atau fermentasi gula; tanda -: isolat bakteri tidak dapat katalase atau fermentasi gula. Hasil uji fermentasi gula dilakukan sebanyak satu kali dan dinilai berdasarkan perubahan warna medium.

Tabel 4. Uji ketahanan isolat terhadap NaCl, pH, dan suhu pada 5 isolat kandidat *Lactobacillus* spp.

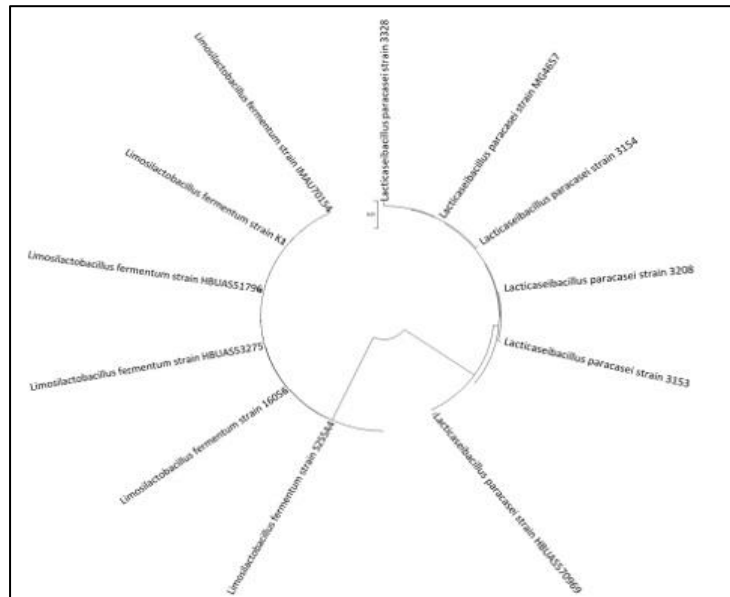
Uji Ketahanan		Isolat				
		A2	B2	B4	B6	B7
NaCl (%)	2	0,400*	0,941	0,464	0,678	0,529
	4	0,292	0,441	0,081	0,389	0,902
	6,5	0,260	0,347	0,082	0,248	0,383
pH	2	0,096	0,063	0,107	0,172	0,056
	3	0,165	0,086	0,157	0,197	0,025
	4	0,342*	0,319	0,278*	0,200	0,175
	5	0,433*	0,342	0,514*	0,342	0,384
	6	0,636*	0,079	0,599*	0,369	0,532
	7	0,652*	0,369	0,944*	0,385	0,336
	7	0,094	0,038	0,057	0,079	0,093
Suhu (°C)	37	0,652*	0,385	0,944*	0,385	0,336
	45	0,534*	0,471	0,708*	0,691	0,639

Keterangan: Hasil uji ketahanan dilakukan sebanyak satu kali. * = kultur isolat dilakukan dilusi sebesar 10^{-1} .

Berdasarkan hasil karakterisasi, didapatkan 2 isolat bakteri yang mendekati karakteristik *Lactobacillus* spp., yaitu isolat B4 dan B6. Berdasarkan *Bergey's Manual of Systematics Archaea and Bacteria* (2015), kedua isolat tersebut memiliki karakteristik yang mendekati *Lactobacillus* spp., yaitu berbentuk basil atau kokobasil, Gram positif, tidak dapat membentuk spora, tidak tahan asam, katalase negatif, tidak dapat melakukan fermentasi mannitol, sensitif terhadap konsentrasi NaCl tinggi, serta tumbuh optimum pada pH 5.5-6.2 dan pada suhu 37-45°C. Selanjutnya, kedua isolat diidentifikasi berdasarkan hasil analisis 16S rRNA sequencing. Hasil BLAST menunjukkan bahwa isolat B4 memiliki kesamaan sebesar 100% dengan berbagai strain dari *Lacticaseibacillus paracasei* (dahulu *Lactobacillus paracasei*), sedangkan isolat B6 memiliki kesamaan sebesar 100% dengan berbagai strain dari *Limosilactobacillus fermentum* (dahulu *Lactobacillus fermentum*). Hasil analisis pohon filogenetik dari isolat B4, isolat B6, serta berbagai strain dari *Lacticaseibacillus paracasei* dan *Limosilactobacillus fermentum* ditampilkan pada Gambar 1.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Lactobacillus* spp. dapat diisolasi dari

susu sapi dan susu kambing. Penelitian yang dilakukan oleh Bin Masalam (2018) dalam mengisolasi BAL dari susu sapi menunjukkan adanya spesies *Lactobacillus paracasei* dengan morfologi berbentuk basil, Gram positif, katalase negatif, tidak tahan asam, serta bertumbuh pada suhu 37°C. Selain itu, Pakroo *et al* (2022) mengisolasi *Lactobacillus fermentum* dari susu sapi dengan karakteristik basil Gram positif, katalase negatif, tidak dapat membentuk spora, sensitif terhadap konsentrasi NaCl tinggi, serta tumbuh secara optimal pada pH 6 dan suhu 37°C dan 45°C. Di sisi lain, komposisi mikrobiota susu kambing, khususnya BAL, terdiri atas *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* dan *Streptococcus* spp. Menurut studi yang dilakukan oleh Pisano *et al* (2019), genus BAL didominasi oleh *Lactococcus* dan *Lactobacillus* spp., dimana didapatkan *Lactococcus lactis* (15.6%) dan *Lacticaseibacillus paracasei* (14.5%) sebagai spesies BAL yang mendominasi susu kambing. Adapun literatur lain menunjukkan bahwa pada susu kambing Algeria, spesies *Lactobacillus* yang umum dijumpai adalah *L. paracasei*, *L. casei*, *L. plantarum* dan *L. rhamnosus* (Marroki *et al.*, 2011).



Gambar 1. Pohon filogenetik dari isolat B4, isolat B6 serta berbagai isolat *Lactobacillus paracasei* dan *Limosilactobacillus fermentum* berdasarkan hasil sekuens parsial 16S rRNA. Pohon filogenetik disusun menggunakan metode Neighbor Joining dan MEGA X. Scale bar menunjukkan substitusi 0,01 per lokasi.

Lactobacillus paracasei (dahulu *Lactobacillus paracasei*) adalah BAL yang dapat ditemukan pada saluran pencernaan manusia. *L. paracasei* memiliki karakteristik Gram positif, non motil, katalase negatif, dan dapat memfermentasi glukosa, fruktosa, laktosa, ribosa dan galaktosa (Chamba & Irlinger, 2004). *L. paracasei* sering digunakan dalam proses pembuatan keju sebagai *non-starter lactic acid bacteria* atau *adjunct culture*, yaitu kultur bakteri yang ditambahkan setelah fase inisial proses pembuatan produk susu, untuk meningkatkan kualitas, tekstur, maupun rasa (Budinich *et al.*, 2011). *L. paracasei* diketahui memiliki potensi dalam memberikan manfaat kesehatan pada manusia, yang diasosiasikan dengan pencegahan dan pengobatan beberapa penyakit, seperti infeksi, obesitas, hiperkolesterolemia, kanker, serta dermatitis atopik (Triana & Nurhidayat, 2007; Hill, 2018; Firmansyah *et al.*, 2021). Beberapa mekanisme dari *Lactobacillus* spp. yang mendasari manfaat kesehatan tersebut mencakup kemampuan menghasilkan zat antimikroba seperti bakteriosin, kemampuan memodulasi sistem imun tubuh, serta kemampuan memperbaiki fungsi *epithelial barrier* (Dempsey & Corr, 2022).

Limosilactobacillus fermentum (dahulu *Lactobacillus fermentum*) merupakan BAL yang umumnya ditemukan dalam saluran pencernaan mamalia, termasuk manusia. Secara komersial, *L. fermentum* digunakan sebagai kultur starter untuk proses pembuatan keju. Hal ini dikarenakan kemampuan bakteri tersebut untuk menghasilkan etanol, serta berkontribusi pada aroma dan rasa keju. Selain itu, *L. fermentum* juga digunakan sebagai starter untuk pembuatan roti *sourdough*, pengawet makanan serta sebagai suplemen makanan (Ibrahim, 2016). *L. fermentum* juga diketahui memiliki aktivitas anti-peradangan dapat memodulasi sistem imun tubuh, serta mencegah terjadinya penyakit saluran pencernaan, penyakit saluran pernapasan atas, atau alergi (Firmansyah *et al.*, 2021). Studi menunjukkan konsumsi suplemen *L. fermentum* pada bayi dapat mencegah terjadinya infeksi saluran pernapasan atas dan pencernaan, dikarenakan kemampuan bakteri untuk fermentasi karbohidrat dan menghasilkan *short-chain fatty acid* (SCFA), yang menghambat pertumbuhan patogen (Naghmouchi *et al.*, 2019). Produksi SCFA dalam saluran pencernaan juga diduga dapat mencegah terjadinya kanker kolorektal (Naghmouchi *et al.*, 2019).

Simpulan dan Saran

Dengan melakukan pengujian morfologi, pengujian biokimia, pengujian ketahanan serta 16S rRNA sequencing, diperoleh dua isolat BAL dari susu kambing peranakan Etawa yang memiliki karakteristik mirip dengan *Lactobacillus* spp. sesuai dengan *Bergey's Manual of Systematics Archaea and Bacteria* (2015). Isolat B4 diidentifikasi sebagai *Lactocaseibacillus paracasei* (dahulu *Lactobacillus paracasei*) dan isolat B6 diidentifikasi sebagai *Limosilactibacillus fermentum* (dahulu *Lactobacillus fermentum*). Penelitian berikutnya akan dilakukan untuk menguji beragam potensi kegunaan dari kedua isolat tersebut, baik untuk pengembangan produk fermentasi makanan maupun untuk bidang kesehatan.

Daftar Pustaka

- Ahirwar, S., Gupta, M., Gupta, G. & Singh, V. (2017). Screening, isolation and identification of *Lactobacillus* species from dental caries of children. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(1): 497-503.
- Anindita, N. S., Anwar, M. & Taufiq, T. T. (2017). Ketahanan isolat bakteri asal feses bayi terhadap variasi susu dan pH [Bachelor's thesis]. Universitas 'Aisyiyah.
- Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemâa, B., Henni, D. E., Tornadijo, M. E., & Kihal, M. (2004). Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology* 21(3): 343-349.
- Bazireh, H., Shariati, P., Azimzadeh Jamalkandi, S., Ahmadi, A. & Boroumand, M. A. (2020). Isolation of novel probiotic *Lactobacillus* and *Enterococcus* strains from human salivary and fecal sources. *Frontiers in Microbiology* 11: 597946.
- Bin Masalam, M. S., Bahieldin, A., Alharbi, M. G., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S. K., Harakeh, S. M., & Al-Hindi, R. R. (2018). Isolation, Molecular Characterization and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria in Saudi Raw and Fermented Milk. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM* 2018: 7970463.
- Budinich, M., Perez-Díaz, I., Cai, H., Rankin, S. A., Broadbent, J. R. & Steele, J. L. (2011). Growth of *Lactobacillus paracasei* ATCC 334 in a cheese model system: a biochemical approach. *Journal of Dairy Science* 94(11): 5263-5277.
- Chotiah, S. & Damayanti, R. (2018). Karakterisasi bakteri asam laktat kandidat probiotik untuk mengatasi Salmonellosis pada ayam pedaging. *Bulletin Plasma Nutfah* 24(2): 91-98.
- Da Silva, L. A., Lopes Neto, J. H. P., & Cardarelli, H. R. (2019). Safety and probiotic functionality of isolated goat milk lactic acid bacteria. *Annals of Microbiology* 69(13): 1497-1505.
- De Angelis, M. & Gobbetti, M. (2011). Lactic acid bacteria *Lactobacillus* spp. general characteristics. In P. McSweeney & J. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* 3rd edition. Academic Press: Cambridge, UK.
- Dempsey, E. & Corr, S. C. (2022). *Lactobacillus* spp. for Gastrointestinal Health: Current and Future Perspectives. *Frontiers in Immunology* 13: 840245.
- Dewi, A. K. (2013). Isolasi, Identifikasi dan uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari sampel susu kambing Peranakan Ettawa (PE) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner* 31(2): 138-150.
- Febriana, M. H., Purwijantiningih, E. & Yuda, P. (2021). Identifikasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi singkong (Gatto) terhadap *Bacillus cereus* dan *Aspergillus flavus*. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* 6(1): 15-24.
- Firmansyah, D., Herawati, I. & Fauziah, P. (2021). Aktivitas antimikroba *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dari feses bayi terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. *Anakes: Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan* 7(1): 16-24.
- Hammes, W. P. & Hertel, C. (2015). *Lactobacillus*. In W. B. Whitman (Ed.), *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Springer: New York, USA.
- Hernández-Saldaña, O. F., Valencia-Posadas, M., de la Fuente-Salcido, N. M., Bideshi, D. K., & Barboza-Corona, J. E. (2016). Bacteriocinogenic Bacteria Isolated from

- Raw Goat Milk and Goat Cheese Produced in the Center of México. *Indian Journal of Microbiology* 56(3): 301–308.
- Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2018). The *Lactobacillus casei* group: history and health related applications. *Frontiers in Microbiology* 9:2107
- Hodgkinson, A. J., McDonald, N. A., Kivits, L. J., Hurford, D. R., Fahey, S., & Prosser, C. (2012). Allergic responses induced by goat milk α S1-casein in a murine model of gastrointestinal atopy. *Journal of Dairy Science* 95(1): 83–90.
- Ibrahim, S. A. (2016). Lactic acid bacteria: *Lactobacillus* spp.: Other species. *Food Science* 125–131.
- Islam, R. , Hossain, M. , Alam, M. , Uddin, M. , Rony, M. , Imran, M. and Alam, M. (2020) Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria and Extraction of Bacteriocin Protein. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 11, 49-59. doi: 10.4236/abb.2020.112004.
- Leoney, A., Karthigeyan, S., Asharaf, A. S. & Felix, A. J. W. (2020). Detection and categorization of biofilm-forming *Staphylococcus aureus*, *Viridans streptococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* isolated from complete denture patients and visualization using scanning electron microscopy. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry* 10(5): 627–633.
- Marroki, A., Zúñiga, M., Kihal, M., & Pérez-Martínez, G. (2011). Characterization of *Lactobacillus* from Algerian goat's milk based on phenotypic, 16S rDNA sequencing and their technological properties. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(1): 158–171.
- Mega, O., Jahidin, J. P., Sulaiman, N. B., Yusuf, M., Arifin, M., & Arief, I. I. (2020). Total count of lactic acid bacteria in goats and cows milk yoghurt using starter *S. thermophilus* RRAM-01, *L. Bulgaricus* RRAM-01 and *L. Acidophilus* IIA-2B4. *Buletin Peternakan*, 44(1): 50–56.
- Naghmouchi, K., Belguesmia, Y., Bendali, F., Spano, G., Seal, B. S., & Drider, D. (2019). *Lactobacillus fermentum*: A bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60(20): 3387–3399.
- Pakroo, S., Tarrah, A., Takur, R., Wu, M., Corich, V., & Giacomini, A. (2022). *Limosilactobacillus fermentum* ING8, a Potential Multifunctional Non-Starter Strain with Relevant Technological Properties and Antimicrobial Activity. *Foods (Basel, Switzerland)* 11(5): 703.
- Prosser, C. G. (2021). Compositional and functional characteristics of goat milk and relevance as a base for infant formula. *Journal of Food Science* 86(2): 257–265.
- Ratya, N., Taufik, E., & Arief, I. I. (2017). Karakteristik Kimia, Fisik dan Mikrobiologis Susu Kambing Peranakan Etawa di Bogor. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan* 5(1): 1-4.
- Ruiz Rodríguez, L. G., Mohamed, F., Bleckwedel, J., Medina, R., De Vuyst, L., Hebert, E. M. & Mozzi, F. (2019). Diversity and functional properties of lactic acid bacteria isolated from wild fruits and flowers present in northern Argentina. *Frontiers in Microbiology* 10: 1–12.
- Tajabadi, N., Mardan, M., Saari, N., Mustafa, S., Bahreini, R. & Manap, M. Y. (2013). Identification of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus fermentum* from honey stomach of honeybee. *Brazilian Journal of Microbiology* 44(3): 717–722.
- Talib, N., Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Hussin, Y., Aziz, M. N. M., Masarudin, M. J., Sharifuddin, S. A., Hui, Y. W., Ho, C. L. & Alitheen, N. B.. (2019). Isolation and characterization of *Lactobacillus* spp. from kefir samples in Malaysia. *Molecules* 24(14): 2606.
- Tannock G. W. (2004). A special fondness for *Lactobacilli*. *Applied and environmental microbiology* 70(6): 3189–3194.
- Triana, E. & Nurhidayat, N. (2007). Seleksi dan identifikasi *Lactobacillus* kandidat probiotik penurun kolesterol berdasarkan analisis sekuen 16s RNA. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* 12(1): 55-60.
- Yanis, N. P. H. & Agustin, T. P. (2020). Overview of the total bacteria and number of *Streptococcus mutans* in the saliva of children with high caries activity. *Journal of Indonesian Dental Association* 3(1): 1-5.