

Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berdasarkan Kemiripan Fenotipik dari Kulit Nanas Varietas *Queen* di Kalimantan Barat yang Difermentasi secara Alami

Medaando¹⁾, Rahmawati^{✉2)}, Masnur Turnip³⁾

^{1,2,3)}Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura, Indonesia

²⁾Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Pontianak, Indonesia

Info Artikel

Diterima: 10 Februari 2024

Disetujui: 28 Mei 2024

Dipublikasikan: 31 Mei 2024

Keywords:

lactic acid bacteria, phenotype, queen pineapple variety, similarity
bakteri asam laktat; fenotipik; varietas nanas queen; similaritas

Abstract

*Queen pineapple, a variety of pineapple, is a fruit containing sugars that can be utilized as a source of nutrition by lactic acid bacteria. This study aims to identify the types of lactic acid bacteria from naturally fermented queen pineapple peels, identified based on phenotypic characteristics. Bacteria isolation was performed using the pour plate method with serial dilution up to 10⁻⁶ using MRSA medium (de Man-Rogosa-Sharpe Agar). Characterization of lactic acid bacteria includes morphological, biochemical, and physiological characteristics. Bacterial identification refers to Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The isolation and identification results of lactic acid bacteria obtained 6 isolates, namely, BAL1, BAL2, BAL3, BAL4, BAL5, and BAL6. Simple matching coefficient UPGMA analysis showed that BAL1, BAL2, and BAL4 had a phenotypic similarity of 83.8% to *Lactobacillus fermentum*; BAL3 and BAL5 had a phenotypic similarity of 90.9% to *L. plantarum*; and BAL6 had a phenotypic similarity of 87.9% to *L. brevis*. Jaccard coefficient UPGMA analysis indicated that BAL1, BAL2, and BAL4 grouped with *L. fermentum* with a phenotypic similarity value of 68.1%; BAL3 and BAL5 had a phenotypic similarity of 83% to *L. plantarum*, and BAL6 had a phenotypic similarity of 73.3% to *L. brevis*. This suggests that isolates BAL1, BAL2, and BAL4 are suspected members of *L. fermentum* species, BAL3 and BAL5 are suspected members of *L. plantarum* species, and BAL6 is suspected as a member of *L. brevis* species.*

Abstrak

Nanas varietas *queen* merupakan buah yang mengandung gula untuk digunakan sebagai sumber nutrisi oleh bakteri asam laktat. Penelitian bertujuan mengidentifikasi jenis bakteri asam laktat dari kulit nanas varietas *queen* hasil fermentasi secara alami yang diidentifikasi berdasarkan karakter fenotipik. Isolasi bakteri menggunakan metode tuang (*pour plate*) dengan pengenceran sampai 10⁻⁶ menggunakan media MRSA (*de Man-Rogosa-Sharpe Agar*). Karakterisasi bakteri asam laktat meliputi karakter morfologis, biokimia, dan fisiologis. Identifikasi bakteri mengacu pada *Bergey's Manual of Determination Bacteriology*. Hasil isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat diperoleh 6 isolat yaitu, BAL1, BAL2, BAL3, BAL4, BAL5, dan BAL6. Analisis *simple matching coefficient* UPGMA BAL1, BAL2 dan BAL4 memiliki similaritas fenotipik 83,8% terhadap *Lactobacillus fermentum*; BAL3 dan BAL5 memiliki nilai similaritas fenotipik 90,9% terhadap *L. plantarum*; dan BAL6 memiliki nilai similaritas 87,9% terhadap *L. brevis*. Analisis *Jaccard coefficient* UPGMA BAL1, BAL2, BAL4 mengelompok dengan *L. fermentum* yang nilai similaritas fenotipik adalah 68,1%, BAL3 dan BAL5 memiliki nilai similaritas fenotipik 83% terhadap *L. plantarum* dan BAL6 memiliki nilai similaritas fenotipik 73,3% terhadap *L. brevis*. Hal ini menunjukkan bahwa isolat BAL1, BAL2 dan BAL4 diduga sebagai anggota spesies *L. fermentum*, BAL3 dan BAL5 diduga sebagai anggota spesies *L. plantarum* dan BAL6 diduga sebagai anggota spesies *L. brevis*.

© 2024 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

Gedung Biologi FMIPA UNTAN Jl. Prof. Dr. Hadari Nawawi, Pontianak

E-mail: rahmawati@fmipa.untan.ac.id

p-ISSN 2252-6277

e-ISSN 2528-5009

PENDAHULUAN

Nanas di Kalimantan Barat memiliki produksi yang cukup yang tinggi. Data produksi berdasarkan Badan Pusat Statistik Provinsi Kalimantan Barat 2023 mencapai 34.580.412 kuintal (BPS Kalimantan Barat, 2024). Nanas di Kalimantan barat banyak diproduksi di Kabupaten Kubu Raya sebanyak 7.602.000 kuintal (BPS Kubu Raya, 2023). Nanas yang sering ditanam di Kalimantan Barat yaitu nanas lokal atau nanas *queen*, karena nanas jenis ini memiliki persediaan bibit yang banyak, mudah didapat, dan perawatannya cukup mudah (Yokhebed, 2019).

Nanas *queen* memiliki ciri buah dengan bentuk yang lonjong, mata buah menonjol, buah berwarna kuning, daun berduri, dan memiliki rasa manis pada dagingnya (Yokhebed, 2019). Menurut Nuraeni *et al.* (2019) kandungan gula pada nanas *queen* mencapai 12,50-15%. Buah nanas banyak dimanfaatkan bagian daging dan pada bagian kulit dibuang begitu saja sehingga pemanfaatan terhadap kulit nanas masih kurang maksimal (Elsaputra *et al.*, 2016). Susanti *et al.* (2013) menjelaskan kandungan karbohidrat yang terdapat pada kulit nanas sekitar 10,54%. Karbohidrat juga diketahui sebagai sumber nutrisi utama bagi kelompok bakteri asam laktat (BAL). Rahmadi (2019) menyatakan bahwa BAL memiliki kemampuan untuk mengkonversi sumber gula, utamanya laktosa, menjadi asam laktat.

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang dapat tumbuh pada kondisi lingkungan yang asam dan memanfaatkan sumber gula untuk pertumbuhannya. Kelompok bakteri ini juga tahan terhadap asam organik yang terkandung di dalam buah. Bakteri asam laktat dapat tumbuh dan berkembang pada buah-buahan, karena terdapat kandungan karbohidrat sederhana dan asam organik yang tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai nutrisi pertumbuhan BAL (Hardiningsih *et al.*, 2006).

Identifikasi dilakukan untuk mengetahui karakter bakteri dalam taksonomi bakteri yang dikelompokkan pada satu spesies dengan nilai indeks similaritas $\geq 70\%$. Karakteristik dari BAL dapat diketahui dengan melakukan pengamatan pengamatan morfologi, uji biokimia, dan uji fisiologis, dengan mengetahui ciri-ciri dari pengamatan dan pengujian pada bakteri tersebut dapat mempermudah dilakukannya identifikasi BAL (Nursulistyarini & Erny, 2014). Menurut Riani *et al.* (2020), isolasi BAL pada pada fermentasi jus nanas berhasil mengidentifikasi BAL dengan kode isolat NHC6, NHC7, NHC8, dan NHC9 yang memiliki indeks similaritas tinggi pada *Lactobacillus plantarum*. Penelitian serupa juga telah dilakukan oleh Yang *et al.* (2016) yang mengidentifikasi BAL dari beberapa limbah buah, satu di antara limbah buah tersebut adalah limbah nanas. Hasil identifikasi tersebut mendapatkan isolat BAL dengan strain grup A dan grup B mirip dengan *L. plantarum*, *L. pentosus*, dan *L. paraplanatum* dengan indeks similaritas 99%, strain grup C (HN15, HN16), dan strain grup D (HN18) mirip *L. nagelii*, *L. perolens*, dan *L. fermentum*, dengan indeks similaritas 99,3%.

Nanas varietas *queen* dapat dijadikan bahan baku dalam pembuatan *starter* kefir, sedangkan penelitian yang mengkaji identifikasi dan hubungan kemiripan karakter fenotipik antar BAL pada kulit nanas varietas *queen* di Kalimantan barat masih jarang dilakukan. Perbedaan jumlah kadar glukosa mempengaruhi pertumbuhan BAL, dikarenakan banyaknya gula akan mempengaruhi pertumbuhan BAL. Mital & Steinkraus (1974) menyatakan dengan penambahan sukrosa 2% *Lactobacillus bulgaricus*

tidak mampu tumbuh pada kondisi lingkungan tetapi dapat tumbuh pada sukrosa 8%. Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian identifikasi BAL pada kulit nanas varietas *queen* yang difermentasi secara alami dengan tujuan memperoleh isolat BAL, sehingga diketahui jenis-jenis BAL yang berpotensi untuk penelitian selanjutnya.

METODE

Fermentasi Kulit Nanas secara Alami

Kulit nanas yang telah diambil, dicuci, dirajang atau dikecilkan ukurannya, kemudian ditimbang sebanyak 10 gram (Yang *et al.*, 2016). Selanjutnya kulit nanas difermentasi secara alami dengan cara sampel dimasukan ke dalam toples kemudian ditutup dan dibiarkan selama 3x24 jam (Sari *et al.*, 2013).

Isolasi dan Pemurnian Bakteri Asam Laktat

Tahap pertama yang dilakukan untuk isolasi BAL adalah kulit nanas yang telah difermentasi diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan penyangga yaitu *pepton water* (0,1%, b/v) dan dihomogenkan yang merupakan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya diambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berlabel pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilakukan terus hingga pengenceran 10^{-7} . Kemudian diambil sebanyak 1 ml cuplikan dari dua seri pengenceran terakhir dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril, dilanjutkan dengan menuangkan media (*pour plate*) de *Man-Ragosa-Sharpe Agar* (MRSA) yang tersuplementasi CaCO_3 1% dibiarkan hingga memadat. Kemudian cuplikan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh dengan zona bening di sekelilingnya dimurnikan dengan cara menggoreskan pada media MRSA tersuplementasi CaCO_3 1% dengan metode kuadran dan diinkubasi selama 24 jam pada inkubator suhu 37°C agar diperoleh koloni tunggal untuk selanjutnya disubkultur kembali sebagai isolat tunggal murni (Amaliah *et al.*, 2018).

Karakterisasi Fenotipik dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Isolat BAL yang berhasil dimurnikan, dilanjutkan dengan melakukan karakterisasi fenotipik yang diujikan yang meliputi pengamatan karakter morfologi, biokimiawi, dan fisiologis. Identifikasi berdasarkan karakter fenotipik meliputi bentuk koloni, bentuk sel, ukuran koloni, warna koloni, tepian, elevasi, susunan sel, pewarnaan gram dan endospora, uji katalase, uji fermentasi, uji motilitas, uji indol, uji oksidatif fermentatif, uji sitrat, uji ketahanan pH, uji ketahanan suhu, uji ketahanan salinitas, dan uji gula-gula. Identifikasi bakteri asam laktat yang telah dimurnikan dilakukan berdasarkan karakter fenotipik dengan mengacu pada *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994).

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan mengambil isolat dengan menggunakan jarum ose, kemudian digoreskan pada gelas objek yang telah disterilkan. Selanjutnya ditambahkan 1 tetes akuades di atas gelas objek dan dikering-anginkan. Isolat bakteri yang telah dikering-anginkan, kemudian ditetes dengan kristal violet sebanyak 1-2 tetes dan dibiarkan selama 20 detik, lalu dibilas dengan ditetes akuades. Isolat kemudian ditetes dengan iodin sebanyak 1-2 tetes dan dibiarkan selama 1 menit,

selanjutnya dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Kemudian, isolat ditetesi etil alkohol 95% selama 10-20 detik kemudian dikeringkan, lalu ditetesi gram safranin selama 20 detik lalu dicuci dan dikeringkan. Preparat diamati pada mikroskop, bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu pada sel yang menandakan mampu menyerap warna kristal violet dan bakteri Gram negatif berwarna merah karna hanya menyerap warna safranin (Benson, 2001).

Pewarnaan Endospora

Uji pewarnaan spora dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan menggunakan jarum ose dan digoreskan pada gelas objek yang telah disterilkan. Isolat bakteri yang ada pada gelas objek atau *stain* ditetesi pewarna *malachite green* dan dipanaskan selama 2-3 menit. Selanjutnya, preparat dibilas dengan ditetesi akuades, kemudian preparat ditetesi dengan safranin dan didiamkan selama 30 detik, kemudian dibilas dengan ditetesi akuades (Muwarni, 2015).

Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan menambahkan 1 tetes H_2O_2 3% pada isolat bakteri di atas gelas objek. Reaksi positif katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung udara. Hasil negatif ditandai tidak terbentuknya gelembung udara. Terbentuknya gelembung udara menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Hadjoetomo, 1993).

Uji Tipe Fermentasi

Uji tipe fermentasi dilakukan dengan cara isolat diinokulasi ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml medium MRSB (*de Man-Rogosa-Sharpe Broth*) dan tabung Durham kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Sasmita *et al.*, 2018).

Uji motilitas

Uji ini dilakukan dengan menggunakan media *Sulfide Indole Motility* (SIM) semi solid dengan cara inokulasi isolat, kemudian ditusuk secara tegak pada media. Media tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Amaliah *et al.*, 2018).

Uji Oksidasi Fermentasi (O/F)

Uji oksidasi fermentasi dilakukan dengan cara isolat dinokulasikan ke dalam dua tabung yang berisi media O/F yang mengandung karbohidrat (glukosa, laktosa, manitol, maltose, atau sukrosa). Tabung I ditutup dengan parafin dan tabung II tidak ditutup parafin (Lay *et al.*, 1994).

Uji Indol

Uji indol dilakukan dengan cara isolat bakteri diinokulasikan pada media SIM dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya ditambahkan 10 tetes reagen Kovacs. Uji ini dilakukan untuk mengetahui produksi indol dari triptopan dan ornithin yang akan terjadi perubahan warna pada media. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna merah dan hasil negatif tidak ditunjukkan dengan cincin berwarna merah (Cappuccino & Sherman, 2014).

Uji Sitrat

Uji sitrat dilakukan dengan cara isolat bakteri uji diinokulasikan pada media Simon sitrat Agar, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam. Uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi (Lay *et al.*, 1994).

Uji Gula-Gula

Satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam tabung-tabung reaksi yang berisi glukosa, laktosa, maltose, sukrosa, fruktosa, mannitol, dan sorbitol diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam memfermentasi gula (Yang *et al.*, 2016).

Uji Pertumbuhan pada Konsentrasi Garam (NaCl)

Satu ose kultur dimasukkan ke dalam media Man-Ragosa-Sharpe Broth (MRSB) yang tersuplementasi NaCl masing-masing berkonsentrasi 4% (*slight halophiles*), 6,5% (halofilik moderat) (Thakkar *et al.*, 2015) dan 18% (halofilik moderat) (Fitriyani, 2010). Selanjutnya, diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri ditandai adanya kekeruhan pada media (Thakkar *et al.*, 2015).

Uji Pertumbuhan pada Suhu

Satu ose kultur dimasukkan ke dalam media de Man-Ragosa-Sharpe Broth (MRSB) kemudian diinkubasi selama 2x24 jam dengan seri temperatur 4°C dan 10°C (psikofil), 37°C (mesofil) dan 50°C (termofil) (Ray *et al.*, 1997).

Uji Ketahanan terhadap pH

Pengujian ketahanan pH pada BAL dilakukan dengan mengambil 1 ml isolat kultur ke dalam media MRS broth yang sebelumnya telah dilakukan pengaturan pH 2 (asidofil), pH 5 (asidofil), pH 7 (neutrofil) dan pH 9 (alkalofil). Selanjutnya, isolat diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Sunaryanto & Marwoto, 2013).

Koleksi Data

Seluruh hasil pengamatan ditabulasikan dalam tabel n x t, n untuk karakter yang diuji dan t untuk *Operational Taxonomical Unit* (OTU) yang digunakan. Data karakter fenotipik isolat bakteri diberi skor nilai 1 untuk unit karakter yang positif dan nilai 0 untuk unit karakter yang negatif (Darmawati *et al.*, 2011).

Analisis Data

Data pengamatan matriks n x t dimasukkan ke dalam program MS Excell 2010. Karakter fenotipik koloni dan sel bakteri dianalisis secara kuantitatif. Selanjutnya dianalisis menggunakan program *Multi Variate Statistical Package* 3.2 (MVSP) berbasis Windows. Indeks similaritas tiap *Operational Taxonomical Unit* (OTU) dihitung dengan menggunakan *Simple Matching Coefficient* dan *Jaccard Coefficient*. Selanjutnya pengelompokan *strain* dilakukan dengan menggunakan *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average Mean* (UPGMA). Hasil pengelompokan ini kemudian disajikan dalam dendogram (Austin & Colwell, 1997).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian isolat BAL berdasarkan karakter fenotipik morfologis menunjukkan ciri pada umumnya BAL. Hasil karakteristik diperoleh dilakukan dengan pengamatan makroskopis (Tabel 1).

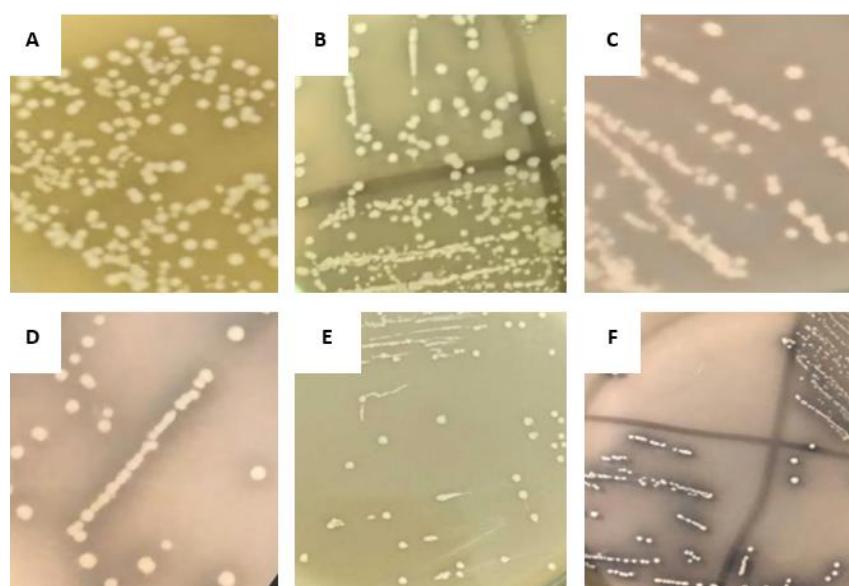
Tabel 1. Karakter isolat BAL berdasarkan fenotipik morfologis

No.	Bakteri Acuan		
	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>L. brevis</i>
1	Bulat	Bulat	Bulat
2	Basil	Basil	Basil
3	Putih susu	Putih susu	Putih susu
4	2,0-3,0	1,5-2,7	2,1-3,0
5	Tunggal, rantai pendek	Rantai pendek	Tunggal, rantai pendek
6	Datar, <i>convex</i>	Datar	Datar, <i>convex</i>
7	Rata	Rata	Rata

Tabel 2. Karakter BAL acuan berdasarkan fenotipik morfologis

No.	Morfologi	Kode Isolat					
		BAL1	BAL2	BAL3	BAL4	BAL5	BAL6
1	Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
2	Bentuk sel	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
3	Warna koloni	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih susu	Putih susu
4	Diameter koloni (mm)	0,6-2,4	0,9-1,9	0,7-2,4	1,6 - 2,7	1,1 - 2,8	0,7 - 2,5
5	Susunan sel	Tunggal, rantai panjang	Tunggal, rantai pendek	Tunggal	Tunggal	Tunggal	Tunggal
6	Elevasi	Datar	Datar	Datar	Datar	Datar	Datar
7	Tepian	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata

Berdasarkan hasil isolasi BAL kulit nanas yang difermentasi secara alami diperoleh koloni BAL dengan ciri morfologi bulat pada koloni dengan warna putih susu, ukuran koloni bervariasi (Tabel 1). Hasil pada penelitian diperoleh enam isolat yaitu, BAL1, BAL2, BAL3, BAL4, BAL5, dan BAL6 yang diseleksi berdasarkan pembentukan zona bening pada pertumbuhan koloni bakteri asam laktat (Gambar 1). Isolat yang dikarakterisasi dan diidentifikasi memiliki karakter kunci pada genus *Lactobacillus*. Kelompok bakteri *Lactobacillus* dapat menetralkan CaCO_3 yang ditambahkan pada media MRSA sehingga terbentuk zona bening di sekeliling yang tumbuh. Chen *et al.* (2017) menyatakan zona bening yang terbentuk pada sekeliling koloni bakteri asam laktat terjadi karena hasil produk asam laktat yang dihasilkan oleh BAL mampu melarutkan CaCO_3 .

**Gambar 1.** Koloni bakteri asam laktat hasil kultur *streak* pada Media MRSA

Keterangan: A). BAL1, B). BAL2, C). BAL3, D). BAL4, E). BAL5, F). BAL6

Hasil pengujian isolat BAL berdasarkan karakter fenotipik pada uji biokimia menunjukkan ciri pada umumnya BAL (Tabel 3). Pengamatan dilakukan dengan cara mikroskopis dan pengujian kualitatif dengan pengamatan hasil reaksi kimia.

Tabel 3. Karakter isolat BAL berdasarkan fenotipik pada uji biokimia

No.	Karakter	Kode Isolat					
		BAL 1	BAL 2	BAL 3	BAL 4	BAL 5	BAL 6
1	Pewarnaan gram	+	+	+	+	+	+
2	Endospora	-	-	-	-	-	-
3	Katalase	-	-	-	-	-	-
4	Fermentasi	HM	HE	HE	HM	HM	HE
5	Motilitas	-	-	-	-	-	-
6	O/F	(w)	(w)	O/F	O _(w) /F	O/F _w	O/F
7	Sitrat	-	-	-	-	-	-
8	Fruktosa	+	+	+	+	+	+
9	Laktosa	+	+	+	+	+	+
10	Glukosa	+	+	+	+	+	+
11	Sukrosa	+	+	+	+	+	+
12	Maltosa	-	-	+	-	+	-
13	Mannitol	-	-	+	-	+	-
14	Sorbitol	+	-	+	-	+	-
15	Indol	-	-	-	-	-	-

Keterangan: w=pertumbuhan weak/lemah

Hasil pewarnaan gram dan uji OF menunjukkan semua isolat adalah positif, sedangkan uji katalase, motilitas, indol, sitrat, dan pewarnaan endospora adalah negatif (Tabel 3). Hal ini menunjukkan isolat merupakan kelompok BAL karena terdapat kesamaan pada karakter kunci biokimia genus *Lactobacillus*. Pernyataan ini sesuai dengan karakter yang dikaji berdasarkan karakter biokimia oleh Wood dan Holzapfel (1995) bahwa BAL merupakan kelompok Gram positif, tidak memiliki enzim katalase, bersifat non motil, indol, sitrat, serta endospora tidak dihasilkan. Penelitian yang serupa juga ditemukan oleh Finanda *et al.* (2021), yang memperoleh lima isolat BAL dari buah pisang kepok dengan

sifat oksidatif dan fermentatif pada uji OF yang ditandai perubahan warna media menjadi kuning tanpa ditutup parafin dan ditutup parafin.

Tabel 4. Karakter BAL acuan berdasarkan fenotipik pada uji biokimia

No.	Bakteri Acuan		
	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>L. brevis</i>
1	+	+	+
2	-	-	-
3	-	-	-
4	HM	HE	HE
5	-	-	-
6	O	F	F
7	-	-	-
8	+	+	+
9	+	+	-
10	+	+	+
11	+	+	-
12	+	+	+
13	+	-	-
14	+	-	-
15	-	-	-

Keterangan:

O: Oksidatif, F: Fermentatif, HM: Homofermentatif, HE: Heterofermentatif, No. 1-15: Jenis karakter yang diamati (Tabel 3).

Hasil uji fermentasi pada isolat terdapat 3 BAL yang bertipe fermentasi heterofermentatif dan 3 BAL lainnya dengan tipe fermentasi homofermentatif (Tabel 3). Pengelompokan BAL berdasarkan tipe fermentasi terjadi karena adanya perbedaan dalam kemampuan bakteri menghasilkan produk akhir pada proses fermentasi sehingga pada uji tipe fermentasi tersebut menunjukkan ada dan tidak adanya gas karbondioksida pada uji. Moat *et al.* (2002) menyatakan BAL memiliki dua jalur tipe fermentasi, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat dengan kelompok homofermentatif tergolong BAL yang menghasilkan produk asam laktat dari metabolisme gula sedangkan tipe heterofermentatif dapat menghasilkan produk selain asam laktat yaitu, asam asetat, alkohol, dan karbondioksida.

Hasil uji fermentasi gula menunjukkan bahwa tidak semua isolat bakteri asam laktat dapat memanfaatkan berbagai jenis gula yang ada pada media uji (Tabel 3). Kemampuan isolat BAL dalam melakukan fermentasi gula berbeda-beda karena isolat BAL yang diperoleh memiliki kemampuan masing-masing yang tidak sama dalam fermentasi gula sehingga akan mempengaruhi jenis bakteri. Hal ini diperkuat pada penelitian Yang *et al.*, (2016), hasil isolat yang diperolehnya memiliki kemiripan dengan *L. plantarum* karena isolat tersebut mampu melakukan fermentasi glukosa, fruktosa, laktosa, maltosa, manitol, dan sorbitol. Menurut Cowan & Steel, (1993), bakteri asam *L. fermentum* dan *L. brevis* tidak dapat memfermentasi manitol dan sorbitol, sedangkan *L. plantarum* memiliki kemampuan fermentasi manitol, laktosa, dan sorbitol.

Hasil pengujian isolat BAL berdasarkan karakter fenotipik pada uji fisiologis menunjukkan isolat tidak dapat tumbuh pada lingkungan yang ekstrim (Tabel 3).

Tabel 5. Karakter isolat BAL berdasarkan fenotipik pada uji fisiologis

No.	Karakteristik	Kode Isolat					
		BAL 1	BAL 2	BAL 3	BAL 4	BAL 5	BAL 6
1	NaCl 4%	+	+	+	+	+	+
2	NaCl 6,5%	-	-	+	+	+	+
3	NaCl 18%	-	-	-	-	-	-
4	Suhu 4 °C	-	-	-	-	-	-
5	Suhu 10 °C	+	+	+	+	+	+
6	Suhu 37 °C	+	+	+	+	+	+
7	Suhu 50 °C	-	-	-	-	-	-
8	pH 2	-	-	-	-	-	-
9	pH 5	+	+	+	+	+	+
10	pH 7	+	+	+	+	+	+
11	pH 9	-	-	+	-	+	+

Tabel 6. Karakter BAL berdasarkan fenotipik pada uji fisiologis

No.	Bakteri Acuan		
	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>L. brevis</i>
1	+	+	+
2	+	+	+
3	-	-	-
4	-	-	-
5	+	+	+
6	+	+	+
7	-	+	-
8	-	-	-
9	+	-	+
10	+	+	+
11	-	-	-

Keterangan: No 1-12: Jenis karakter yang diamati (Tabel 5).

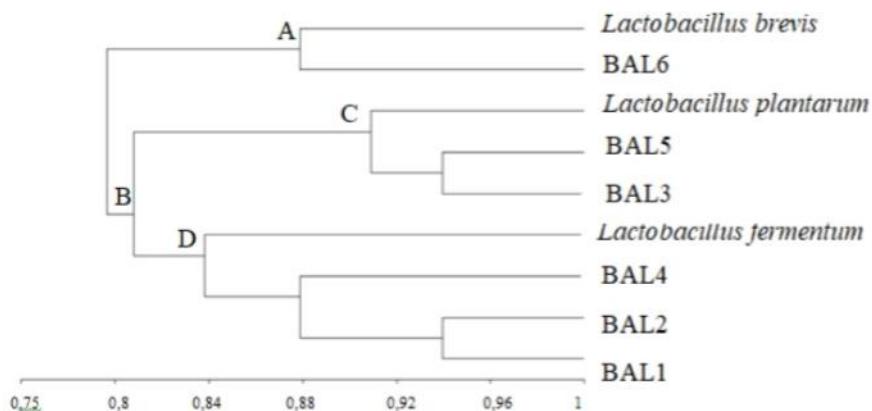
Hasil uji fisiologis isolat menunjukkan respon yang berbeda-beda pada setiap perlakuan terkait ketahanan salinitas, suhu, dan pH (Tabel 5). Kemampuan bertahan hidup BAL dipengaruhi oleh aktivitas sel bakteri untuk beradaptasi dari lingkungan yang tidak ideal. Isolat BAL menunjukkan tidak mampu bertumbuh pada kondisi ekstrim baik pada suhu, salinitas, dan pH. Hal ini sesuai dengan penelitian Riyatno & Retnaningrum, (2021) yang menyatakan isolat BAL hasil isolasi dari buah kersen bersifat positif pada salinitas 6,5% dan negatif pada salinitas 18%. Hal ini diperkuat oleh penelitian Yang *et al.*, (2016) isolat BAL dapat tumbuh pada kondisi lingkungan yang bervariasi seperti pada salinitas 3% dan 6,5%; suhu 10 °C; pH 3, 7, dan 9,6; dan tidak dapat tumbuh pada suhu 50 °C. Bakteri *L. plantarum*, *L.*

fermentum, dan *L. brevis* dapat tumbuh pada suhu 15°C dan tidak dapat tumbuh suhu 45°C (Cowan & Steel, 1993).

Bakteri asam laktat dapat tumbuh pada suhu panas dan rendah karena memiliki gen panas sehingga bakteri asam laktat dapat beradaptasi pada lingkungannya. Dawan & Ahn (2022) menyatakan respon bakteri terhadap panas melibatkan produksi protein-protein panas (*heat shock proteins/HSPs*), yang membantu dalam memperbaiki struktur protein yang terdenaturasi akibat suhu tinggi, serta penginduksi degradasi protein proteasomal yang berperan dalam memperbaiki struktur protein yang rusak atau terdenaturasi akibat suhu tinggi. Fermentasi pada suhu rendah akan menghambat pertumbuhan bakteri karena adanya asam laktat dan penghambatan aktivitas enzim laktase (Rahmadi, 2019). Menurut Fardiaz (1996), garam dalam konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini dapat disebabkan oleh penurunan nilai aktivitas air (aW) dan terionisasi, garam menjadi ion Cl^- yang bersifat toksik.

Bakteri asam laktat dapat tumbuh pada pH asam atau netral dan tidak dapat tumbuh pada pH basa. Bakteri pada kondisi pH di bawah minimum, akan berhenti tumbuh dan mati. Mekanisme kematian tersebut disebabkan oleh asam lemah yang tidak terdisosiasi akan ikut masuk ke dalam sitoplasma sel. Sitoplasma memiliki pH netral, maka asam lemah akan membentuk kesetimbangan baru (terdisosiasi dan tidak terdisosiasi) dan pH di dalam sitoplasma akan turun, sehingga kesetimbangan proton di dalam sel dan di lingkungannya terganggu (Giyatno & Retnaningrum, 2021).

Berdasarkan hasil identifikasi mengacu pada *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) semua isolat merupakan genus *Lactobacillus*. Hal ini dikarenakan isolat BAL memiliki karakter kunci genus *Lactobacillus* dan dikelompokkan dalam tiga anggota spesies yaitu, *L. brevis*, *L. plantarum*, dan *L. fermentum* (Gambar 2). Analisis similaritas karakter fenotipik isolat bakteri asam laktat terhadap morfologis, uji biokimia, dan fisiologis pada *simple matching coefficient* (SMC) diketahui isolat BAL1, BAL2, dan BAL4 memiliki kemiripan dekat dengan anggota spesies *L. fermentum* karena memiliki nilai similaritas 83,8%. BAL3 dan BAL5 memiliki kemiripan dekat dengan anggota spesies *L. plantarum* karena memiliki nilai similaritas 90,9%. BAL6 merupakan isolat bakteri asam laktat yang memiliki kemiripan dekat dengan anggota spesies *L. brevis* karena memiliki indeks similaritas 87,9%.



Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi ilmiah terkait jenis-jenis bakteri asam laktat lokal Kalimantan Barat dan hubungan kemiripan BAL berdasarkan karakter fenotipik pada kulit nanas

fermentasi secara alami serta BAL yang berhasil diperoleh dapat menjadi isolat lokal yang unggul untuk dapat digunakan pada penelitian selanjutnya terutama berbasis kulit nanas.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil karakterisasi dan identifikasi diperoleh isolat bakteri asam laktat asal hasil isolasi dari kulit nanas varietas *queen* yang difermentasi yaitu BAL1, BAL2, dan BAL4 diduga sebagai anggota spesies *L. fermentum* dengan nilai similaritas 83,8%; BAL3 dan BAL5 diduga sebagai anggota spesies *L. plantarum* dengan nilai similaritas 90,9%; dan BAL6 diduga sebagai anggota spesies *L. brevis* dengan nilai similaritas 87,9%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Tri Rima Setyawati, S.Si., M.Si. dan Firman Saputra, S.Si., M.Sc. yang telah memberikan masukan, pengarahan dan semangat dalam proses penelitian dan penyusunan artikel ini serta *Comdev & Outreaching* Universitas Tanjungpura yang sudah mendukung dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah cair rendaman kacang kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253–257. DOI: 10.33096/jffi.v5i1.320
- Austin, B., & Colwell, R. R. (1977). Evaluation of some coefficients for use in numerical taxonomy of microorganisms. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 27, 204-210. DOI: 10.1099/00207713-27-3-204
- Bairu, M. W., Jain, N., Stirk, W. A., Dolezal, K., & Staden, J. V. (2009). Solving the problem of shoot-tip necrosis in *Harpagophytum procumbens* by changing the cytokinin types, calcium and boron concentration in the medium. *South African Journal of Botany*, 75, 122-127. DOI: 10.1016/j.sajb.2008.08.006
- Benson, H. J. (2001). *Microbiological Applications: A laboratory manual in general microbiology* (8th ed.). McGraw-Hill
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A laboratory manual* (10th Ed). Benjamin Cummings
- Chen, X., Zhao, X., Qian, Y., Li, J., Chen, L., Chen, J., Zhang, Y., & Suo, H. (2017). Screening and Identification of lactic acid bacteria strains with high acid-producing from traditional fermented yak yoghurt. *BIO Web of Conferences*, 8, 1-7. DOI: 10.1051/bioconf/20170803002
- Cowan, S. T., & Steel, K. J. (1993). *Manual for The Identification of Medical Bacteria* (3rd ed.). Cambridge University Press
- Darmawati, S., Sembiring, L., Asmara, W., & Artama, W. T. (2011). Klasifikasi numerik-fenetik *Salmonella typhi* Asal Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta berdasarkan hasil karakterisasi fenotipik. *Biota*, 16(1), 128–132. DOI: 10.24002/biota.v16i1.67
- Dawan, J., & Ahn, J. (2022). Bacterial stress responses as potential targets in overcoming antibiotic resistance. *Microorganisms*, 10(7), 1-22. DOI: 10.3390/microorganisms10071385
- Elsaputra, Pato, U., & Rahmayuni. (2016). Pembuatan minuman probiotik berbasis kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) menggunakan *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 yang diisolasi dari dadih. *Jom Faperta*, 3(1), 33–37
- Fardiaz. (1996). *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Rajawali Press
- Finanda, A., Mukarlina, & Rahmawati. (2021). Isolasi dan karakterisasi genus bakteri asam laktat dari fermentasi daging buah. *Protobiont*, 10(2), 37–41. <https://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v10i2.53897>
- Fitriyani, I. (2010). *Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Buah Matang yang Berpotensi Menghasilkan Antimikroba*. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta

- Giyatno, D. C., & Retnaningrum, E. (2021). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida dari buah kersen (*Muntingia calabura L.*). *Jurnal Sains Dasar*, 9(2), 42–49. <http://dx.doi.org/10.21831/jsd.v9i2.34523>
- Hadioetomo, R. S. (1993). *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia
- Hardiningsih, R., Napitupulu, R. N. R., & Yulinery, T. (2006). Isolasi dan uji resistensi beberapa isolat *Lactobacillus* pada pH rendah. *Biodiversitas*, 7(1), 15–17.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed). Lippincott Williams and Wilkins
- Lay, B. W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada
- Mital, B. K., & Steinkraust, K. H. (1974). Growth of lactic acid bacteria in soy milks. *Journal Food Science*, 39(5), 1018–1022
- Moat, A. G., Foster, J. W., & Spector, M. P. (2002). *Microbial Physiology*. Wiley-Liss
- Muwarni, S. (2015). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Veteriner*. Universitas Brawijaya Press
- Nuraeni, Y., Wijana, S., & Susilo, B. (2019). Analisis kualitas dan uji organoleptik minuman buah nanas queen (*Ananas comosus* (L.) Merr.). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 20(1), 67–78. DOI: 10.21776/ub.jtp.2019.020.01.7
- Nursulistyarini, F., & Ainy, E. Q. (2014). Isolasi dan identifikasi bakteri endofit penghasil antibakteri dari daun tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Proceeding Biology Education Conference*, 11(1), 114–120
- Rahmadi, A. (2019). *Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak*. Mulawarman University Press
- Ray, B., Rahayu, E. S., & Margino, S. (1997). *BAL: Isolasi dan Identifikasi*. PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Riani, C. R., Nuraida, L., & Meryandini, A. (2020). Isolasi bakteri asam laktat asal jus nanas sebagai kandidat probiotik. *Teknologi dan Industri Pangan*, 31(2), 103–112. DOI: 10.6066/jtip.2020.31.2.103
- Sari, Y. N. M., Sumaryati, S., & Jamsari. (2013). Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi DNA bakteri asam laktat (BAL) yang berpotensi sebagai antimikroba dari fermentasi markisa kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*). *Jurnal Kimia Universitas Andalas*, 2(2), 81–91
- Sasmita, S., Halim, A., Sapriati, A.N., & Kursia, S. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari liur basa (limbah sayur bayam dan sawi). *As-Syifaa*, 10(02), 1–23. DOI: 10.33096/jifa.v10i2.339
- Sunaryanto, R., & Marwoto, B. (2013). Isolasi, identifikasi, dan karakterisasi bakteri asam laktat dari dadih susu kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 14(3), 228–233. DOI: 10.29122/jsti.v14i3.931
- Susanti, A. D., Puspito, T. P., & Hari, P. (2013). Pembuatan bioetanol dari kulit nanas melalui hidrolisis dengan asam. *Ekuilibrium*, 12(1), 11–16. DOI: 10.20961/ekuilibrium.v10i2.2246
- Thakkar, P., Modi, H. A., & Prajapati, J. B. (2015). Isolation, characterization, and safety assessment of lactic acid bacterial isolates from fermented food products. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(4), 713–725.
- Wood, B. J. B., & Holzapfel, W. H. (1995). *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Blackie Academic and Professional
- Yang, J., Tan, H., & Cai, Y. (2016). Characteristics of lactic acid bacteria isolates and their effect on silage fermentation of fruit residues. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5325–5334. DOI: 10.3168/jds.2016-10952
- Yokhebed. (2019). Respon Ibu PKK Desa Madu Sari Kabupaten Kubu Raya terhadap pelatihan pengolahan pangan lokal berbahan baku nanas (*Ananas comosus* L.). *Gervasi: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(2), 200–209. DOI:10.31571/gervasi.v3i2.1416.
- Zahro', F. (2014). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Markisa Ungu (*Passiflora edulis* var. *Sims.*) sebagai Penghasil Eksopolisakarida. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Malang.