

## Identification of Lactic Acid Bacteria From Pandan Civet Feces (*P. hermaphroditus*) in West Kalimantan Based on Phenotypic Similarity

Ageresya Ester Evelin Br Sibarani<sup>1</sup>, Rahmawati<sup>1\*</sup>, Firman Saputra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Kota Pontianak, Indonesia;

### Article History

Received : July 04<sup>th</sup>, 2023

Revised : August 01<sup>th</sup>, 2023

Accepted : August 24<sup>th</sup>, 2023

\*Corresponding Author:

**Rahmawati,**

Program Studi Biologi,  
Fakultas Matematika dan  
Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Tanjungpura,  
Kota Pontianak, Indonesia;  
Email:

[rahmawati@fmipa.untan.ac.id](mailto:rahmawati@fmipa.untan.ac.id)

**Abstract:** Lactic acid bacteria are included in the gram positive bacteria that are widely distributed in the digestive tract of living things, such as in the feces of the Pandan Luwak (*P. hermaphroditus*) and important role in improving the microbial balance in the body. The purpose of this study was to obtain phenotypic characters, types of bacteria and similarity relationship between lactic acid bacteria from feces of Pandan Civet (*P. hermaphroditus*) in West Kalimantan and lactic acid bacteria in the identification book Bergey's manual of determinative bacteriology. This research was conducted by the method of isolation and screening bacteria using MRSA media supplemented with CaCO<sub>3</sub> 1%. Characterization of lactic acid bacteria based on morphological, biochemical, and physiological characters in Bergey's Manual of Determination Bacteriology. The results of the analysis using the MVSP (Multivariate Statistic Package) program with SSM coefficients and the UPGMA method obtained 44 bacterial isolates thought to belong to two genera, namely the genus *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* with three species, namely *L. casei*, *L. brevis* and *B. bifidum*. The results of the analysis showed that 12 bacterial isolates had a similarity index of 87,6% to *L. casei*, 17 bacterial isolates had a similarity index of 92,2% to *B. bifidum* and 15 bacterial isolates had a similarity index of 84,5% to *L. brevis*.

**Keywords:** Feces, lactic acid bacteria, pandan civet, *P. Hermaphroditus*.

### Pendahuluan

Bakteri asam laktat termasuk dalam bakteri gram positif yang memiliki kemampuan dalam merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang sederhana untuk menghasilkan asam laktat. Menurut Desai (2008), bakteri asam laktat memiliki sifat nonpatogenik, nontoksigenik, anaerobik, dan tidak menghasilkan spora. Bakteri asam laktat tersebar sangat luas, terutama pada saluran pencernaan makhluk hidup. Afrianto & Liviawaty (2005) menyatakan bahwa dalam saluran pencernaan keberadaan bakteri asam laktat memberikan pengaruh positif dalam memperbaiki keseimbangan mikroba di tubuh. Berdasarkan kajian Surono (2016), bakteri asam laktat memiliki peranan utama dalam fermentasi untuk menghasilkan asam pada

pangan fermentasi.

Luwak pandan merupakan hewan mamalia yang memiliki sistem pencernaan kurang sempurna, sehingga menyebabkan hewan ini hanya mampu mencerna jenis pakan seperti daging dan buah. Salah satu contoh buah yang dimakan adalah buah kopi. Hadipernata & Nugraha (2012) menyatakan bahwa hasil dari biji kopi yang tidak dapat tercerna oleh luwak akan keluar bersamaan dengan feses saat proses ekskresi luwak tersebut. Menurut Usman, Supriyadi, & Kusdiyantini (2015), pemanfaatan luwak sebagai agen fermentasi dapat termasuk dalam penyiksaan terhadap luwak yang mempengaruhi kelangsungan hidupnya dan kelestariannya di alam.

Upaya mengurangi pemanfaatan luwak pandan sebagai agen fermentasi dapat

dilakukan dengan isolasi bakteri asam laktat dari feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*). Berdasarkan penelitian Muzaifa *et al.*, (2019) tentang identifikasi fenotipik bakteri asam laktat dari luwak (*P. hermaphroditus*) yang diisolasi dari saluran pencernaan luwak terdiri dari beberapa jenis bakteri asam laktat, yaitu *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fructivorans*, *Pediococcus pentasaceus*, dan *Lactococcus lactis* spp. *lactis*. Menurut Nursulistyarini & Ainy (2014), identifikasi dan klasifikasi numerik-fenetik dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakteri dengan mengenal ciri taksonomik dan mengetahui hubungan similaritas antar bakteri dengan indeks similaritas  $\geq 70\%$  dapat dikelompokkan menjadi satu spesies. Berdasarkan uraian diatas, penelitian dilakukan untuk mengetahui karakteristik dan kemiripan antar bakteri asam laktat yang diisolasi dari feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*).

## Bahan dan Metode

### Waktu dan tempat penelitian

Penelitian menggunakan sampel feses luwak pandan yang dipelihara oleh warga di 3 lokasi, yaitu rumah warga di Jalan Angkasa Pura, Desa Kapur dan Kuala Dua, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat. Sampel dibawa dan diisolasi di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.

### Isolasi bakteri asam laktat dari feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*)

Isolasi dilakukan dimulai dengan mengambil feses luwak secara aseptis terlebih dahulu. Proses selanjutnya dilakukan dengan cara 1 gr feses luwak pandan dimasukkan dalam tabung berisi larutan garam fisiologis 0,9% sebanyak 9 mL dan dihomogenkan dan menjadi pengenceran ke 1 ( $10^{-1}$ ). Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat hingga pengenceran ke 6 ( $10^{-6}$ ). Proses selanjutnya inokulasi 1 mL suspensi bakteri ke dalam cawan petri dari dua seri pengenceran terakhir (duplo). Setelah itu, cawan petri berisi 1 mL suspensi kultur bakteri dimasukkan media yang sudah steril, yaitu media MRSA tersuplementasi  $\text{CaCO}_3$  1% dan dibiarkan hingga agar memadat dan diinkubasi

pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 48 jam.

Koloni bakteri tumbuh memiliki zona bening disekeliling koloni bakteri dan akan dilakukan pemurnian dengan menggoreskan pada media menggunakan metode kuadran yang diinkubasi dengan suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 48 jam (Manalu *et al.*, 2020). Koloni bakteri yang tumbuh dilakukan dua pengamatan. Pengamatan secara makroskopis terhadap koloni meliputi warna, bentuk, tepian dan elevasi. Pengamatan secara mikroskopis terhadap sel meliputi bentuk sel, susunan sel, ukuran sel, pewarnaan endospora, pewarnaan gram, uji biokimia, dan uji fisiologis.

### Pewarnaan gram

Pewarnaan gram bakteri dilakukan dengan 1 ose bakteri asam laktat digoreskan pada gelas objek, lalu difiksasi dengan ditambahkan 1 tetes akuades dan dikeringanginkan atau dilewatkan diatas api kecil, sehingga terbentuklah noda. Langkah selanjutnya ditetaskan pewarna kristal violet di atas noda yang terbentuk dan didiamkan selama 20 detik dan dibilas dengan akuades, kemudian dilanjutkan dengan meneteskan larutan iodine pada apusan yang didiamkan selama 60 detik. Setelah itu, dilanjutkan dekolorisasi dengan etanol 95% pada apusan selama 10-20 detik yang kemudian dibilas dengan akuades selama 2 detik, kemudian sebelum penetesan larutan selanjutnya, suspensi dibiarkan selama 1 menit. Selanjutnya, apusan ditetaskan safranin yang didiamkan 20 detik dan dibilas dengan akuades. Tahapan selanjutnya gelas objek ditutup menggunakan gelas penutup dan amati menggunakan mikroskop. Hasil berwarna ungu menandakan bakteri gram positif dan hasil berwarna merah menandakan bakteri gram negatif (Benson, 2001).

### Pewarnaan endospora

Pewarnaan endospora menggunakan metode *Schaeffer Fulton* yang dilakukan dengan cara preparat apusan difiksasi pada gelas objek dan ditetesi pewarna malachite hijau, serta dipanaskan diatas menangas air selama 5 menit yang bertujuan membantu pewarna untuk masuk ke dalam dinding spora dan juga dijaga agar tidak kering. Setelah itu, dilanjutkan

dengan preparat dicuci selamaa 30 detik dan sebagai pewarna pembanding preparat apusan ditetesi dengan safranin, yang kemudian dilakukan dengan pengamatan di bawah mikroskop untuk melihat sporanya. Hasil dari pewarnaan akan menunjukkan spora hijau sedangkan sel vegetatif bakteri merah (Muwarni, 2015).

### Uji biokimia

Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan uji biokimia.

#### *Uji motilitas*

Uji ini dilakukan dengan inokulasi secara vertikal 1 ose isolat pada media SIM yang diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Hasil positif bakteri tumbuh di bagian permukaan media dan tidak pada bekas tusukan saja dan jika hasil uji negatif maka bakteri tumbuh sepanjang tusukan (Harley & Prescott, 2005).

#### *Katalase*

Uji ini dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat dan diletakkan pada gelas objek yang ditetaskan 1-2 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Jika katalase positif akan terbentuk gelembung dan jika bakteri negatif katalase tidak akan terbentuk gelembung (Harley & Prescott, 2005).

#### *Uji TSIA*

Uji TSIA dilakukan dengan inokulasi 1 ose isolat ke media agar miring TSIA dan ditusuk pada bagian tegaknya (*butt*), serta digoreskan pada bagian miringnya (*slant*) yang diinkubasi pada suhu 37°C dan selama 24 jam. Jika bakteri memfermentasi glukosa, media pada bagian tegak berwarna kuning dan pada bagian miring berwarna merah. Bakteri dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa ketika media pada bagian miring berubah menjadi kuning. Jika seluruh media TSIA berwarna kuning (asam) menunjukkan adanya fermentasi laktosa atau sukrosa ataupun keduanya. Hasil yang menunjukkan terbentuknya gas H<sub>2</sub>S terjadi perubahan warna menjadi hitam (Lay, 1994).

#### *Uji OF (Oksodatif Fermentatif)*

Uji OF dilakukan dengan inokulasi 1 ose isolat ke tabung berisi media OF yang ditutup dan tidak ditutup dengan parafin yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika

hasil pada media yang ditutup parafin akan tetap berwarna hijau dan yang tidak ditutup parafin berubah warna menjadi warna kuning menunjukkan bakteri melakukan proses metabolisme karbohidrat secara oksidatif. Jika hasil yang ditutup parafin berubah kuning, maka bakteri tersebut bersifat fermentatif (Lay, 1994).

#### *Uji Indol*

Uji indol dilakukan dengan inokulasi 1 ose isolat ke dalam media SIM dan inkubasi pada suhu 37°C dan selama 24 jam. Selanjutnya, pada permukaan media ditambahkan *reagen kovacs*. Hasil positif terbentuknya warna merah pada permukaan media dan hasil yang negatif tidak mengalami perubahan warna merah (Cappucino & Sherman, 2014).

#### *Uji Tipe Fermentasi*

Uji ini dilakukan dengan inokulasi 1 ose isolat bakteri ke tabung reaksi berisi tabung durham terbalik dan media MRSB yang diinkubasi dengan suhu 37°C dan selama 48 jam. Hasil menunjukkan gas dalam tabung durham, maka bakteri dapat memfermentasi sebagian glukosa menjadi CO<sub>2</sub> selain asam disebut bakteri heterofermentatif. Namun, jika hasil menunjukkan tidak terdapat gas dalam tabung durham, maka disebut bakteri homofermentatif (Harley & Prescott, 2002).

#### *Uji Sitrat*

Uji sitrat dilakukan dengan inokulasi 1 ose isolat pada media SCA dan inkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam. Hasil positif dilihat dengan media menjadi warna biru (Lay, 1994).

#### *Uji Gula-Gula*

Uji gula-gula dilakukan dengan inokulasi 1 ose isolat ke tabung yang berisi inulin, glukosa, galaktosa, laktosa, maltosa, sukrosa, fruktosa, trehalosa, manitol dan sorbitol (Ginting *et al.*, 2018) yang diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif dilihat dengan media menjadi berwarna kuning (Lay, 1994).

### Uji fisiologis

Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan uji fisiologis.

#### *Uji pertumbuhan pada suhu*

Uji dilakukan pada suhu 4°C, 10°C, 37°C

dan 45°C dengan inokulasi 1 ose bakteri dalam tabung berisi MRSB yang diinkubasi selama 24 jam (Widodo, 2019). Hasil pertumbuhan bakteri diamati berdasarkan kekeruhan yang tampak (Cappucino & Sherman, 2014).

#### *Uji pertumbuhan pada kadar NaCl*

Uji dilakukan pada kadar NaCl yang berkonsentrasi 4%, 6,5% (Thakkar *et al.*, 2015), dan 18% (Widodo, 2019) dengan inokulasi 1 ose bakteri dalam tabung berisi media MRSB tersuplementasi NaCl yang diinkubasi pada suhu 37°C dan selama 24 jam. Hasil pertumbuhan bakteri diamati berdasarkan kekeruhan yang tampak (Cappucino & Sherman, 2014).

#### *Uji pertumbuhan pada pH*

Uji dilakukan pada pH 5, 7 dan 9 dengan inokulasi 1 ose bakteri dalam tabung berisi MRSB dengan pH bervariasi yang diinkubasi pada suhu 37°C dan selama 24 jam. Hasil pertumbuhan bakteri diamati berdasarkan kekeruhan yang tampak (Cappucino & Sherman, 2014).

### **Analisis Data**

Data yang diperoleh untuk klasifikasi numerik-fenetik diatur pada Microsoft Excel 2010 yang dianalisis menggunakan program MVSP (*Multivariate Statistic Package*) dengan menggunakan *Simple Matching Coefficient* ( $S_{SM}$ ), metode UPGMA (*Unweighted Paired Group Method with Arithmetic Averages*), dan disajikan dalam bentuk dendrogram.

### **Hasil dan Pembahasan**

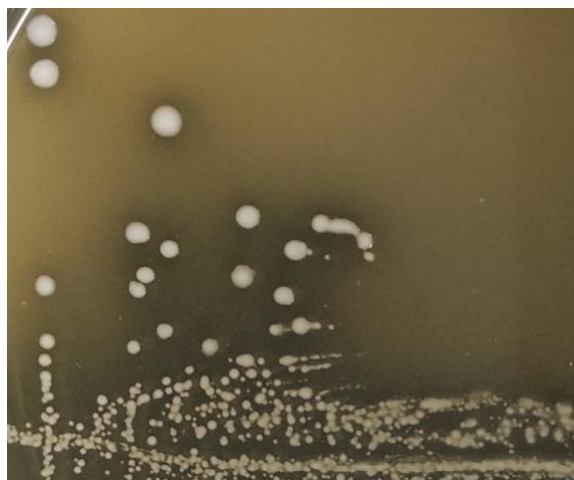
#### **Isolasi bakteri asam laktat dari feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*)**

Hasil yang diperoleh pada proses isolasi dan skrining dari sampel feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*) diambil sebanyak 44 isolat bakteri asam laktat dan koloni bakteri memiliki warna putih, berbentuk bulat, dan terdapat zona bening di sekitar koloni bakteri yang tumbuh. Isolat bakteri tersebut memiliki kode isolat yaitu 7 isolat pada pagi hari di Angkasa Pura (PGM 1, PGM 2, PGM 3, PGM 4, PGM 5, PGM 6 dan PGM 7); 6 isolat pada siang hari di Angkasa Pura (SGM 1, SGM 2, SGM 3, SGM 4, SGM 5 dan SGM 6); 6 isolat pada sore hari di Angkasa

Pura (SRM 1, SRM 2, SRM 3, SRM 4, SRM 5 dan 6); 4 isolat pada pagi hari di Desa Kapur (PGK 1, PGK 2, PGK 3 dan PGK 4); 4 isolat pada siang hari di Desa Kapur (SGK 1, SGK 2, SGK 3 dan SGK 4); 4 isolat pada sore hari di Desa Kapur (SRK 1, SRK 2, SRK 3 dan SRK 4); 5 isolat pada pagi hari di Kuala Dua (PGI 1, PGI 2, PGI 3, PGI 4 dan PGI 5); 4 isolat pada siang hari di Kuala Dua (SGI 1, SGI 2, SGI 3 dan SGI 4); dan 4 isolat pada sore hari di Kuala Dua (SRI 1, SRI 2, SRI 3 dan SRI 4).



**Gambar 1.** Hasil isolasi bakteri

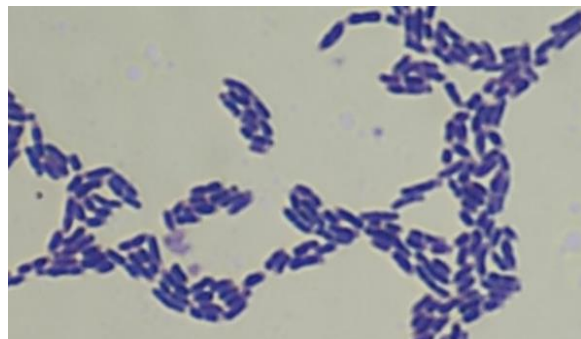


**Gambar 2.** Hasil kultur bakteri

#### **Karakterisasi morfologi bakteri asam laktat dari feses luwak pandan**

Hasil yang diperoleh dari 44 isolat bakteri asam laktat, terdapat bakteri memiliki perbedaan pada karakter morfologis. Pengamatan karakterisasi secara morfologis pada bakteri asam laktat dari feses Luwak Pandan terdapat koloni memiliki warna putih, bentuk bulat,

tepi rata, elevasi pada 13 isolat cembung dan 33 isolat datar, bentuk sel basil, susunan sel berpasangan, dan ukuran sel 0,2-5,2 µm. Pengamatan karakter morfologis secara mikroskopis bakteri memiliki bentuk sel basil.



Gambar 3. Bentuk sel bakteri

### Karakterisasi biokimia bakteri asam laktat dari feses luwak pandan

Hasil pengamatan karakter biokimia 44 isolat bakteri asam laktat dari feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*) diamati berdasarkan beberapa uji biokimia yaitu gram positif, tidak memiliki spora, tidak motilitas, katalase negatif, pada uji TSIA didapatkan hasil H<sub>2</sub>S negatif dengan *slunt* dan *butt* kuning, pada uji OF didapatkan hasil 44 isolat fermentatif, indol negatif, tipe fermentasi bakteri 16 isolat homofermentatif dan 28 isolat heterofermentatif dan sitrat negatif. Hasil uji gula-gula dalam pengamatan karakter biokimia pada 44 isolat bakteri terdiri dari uji inulin negatif, glukosa positif, pada uji galaktosa 38 isolat positif dengan 6 isolat negatif (PGM 1, PGM 2, PGI 1,

PGI 3, SGI 2 dan SRI 2), pada uji laktosa 15 isolat negatif dan 29 isolat positif, maltosa positif, sukrosa 43 isolat positif dan 1 isolat negatif (SGK 4), fruktosa positif, pada uji trehalosa isolat 14 negatif dan isolat 30 positif, pada uji manitol 32 isolat negatif dan 12 isolat positif, serta pada uji sorbitol 25 isolat negatif dan 19 isolat positif.

### Karakterisasi fisiologi bakteri asam laktat dari feses luwak pandan

Hasil karakter fisiologi bakteri asam laktat dari feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*) dilakukan berdasarkan tiga uji yaitu uji pertumbuhan pada perbedaan suhu, kadar NaCl, dan pH yang diamati berdasarkan kekeruhan media MRSB pada tabung reaksi. Media yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri dan media yang tidak keruh menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Uji pertumbuhan pada perbedaan suhu didapatkan hasil 22 isolat tumbuh dan 22 isolat tidak tumbuh pada suhu 4°C, 40 isolat tumbuh dan 4 isolat tidak tumbuh (PGM 1, PGM 2, SRM 1 dan SGK 4) pada suhu 10°C, 44 isolat tumbuh pada suhu 37°C, serta terdapat 43 isolat tumbuh dan 1 isolat tidak tumbuh (SRI 4) pada suhu 45°C. Uji pertumbuhan pada perbedaan kadar NaCl didapatkan hasil 44 isolat tumbuh pada kadar NaCl 4% dan 6,5%, serta 23 isolat tumbuh dan 21 isolat tidak tumbuh pada kadar NaCl 18% (Tabel 4.1). Uji pada pertumbuhan bakteri dengan perbedaan pH didapatkan hasil 44 isolat tumbuh pada pH 5, 7, dan 9.

Tabel 1. Karakter bakteri asam laktat dari feses luwak pandan pada Daerah Angkasa Pura

Kode Isolat	Karakter Morfologi			Karakter Biokimia						Karakter Fisiologi			
	Elevasi	Ukuran Sel (µm)	Tipe Fermentasi	Gal	Lak	Suk	Tre	Ma n	Sor	4° C	10° C	45° C	NaCl 18%
PGM 1	Datar	0,5-2,6	Heterofermentatif	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
PGM 2	Cembung	0,5-1,3	Heterofermentatif	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
PGM 3	Datar	0,4-1,2	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
PGM 4	Datar	0,5-1,9	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
PGM 5	Datar	0,3-1,5	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
PGM 6	Datar	0,6-2,1	Homofermentatif	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+

PGM 7	Datar	0,6-2,2	Homofermentatif	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
SGM 1	Datar	0,7-2,0	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
SGM 2	Datar	0,7-2,3	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
SGM 3	Datar	0,7-2,1	Homofermentatif	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
SGM 4	Cembung	0,9-2,5	Homofermentatif	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
SGM 5	Datar	1,0-2,7	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
SGM 6	Datar	0,6-3,0	Homofermentatif	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
SRM 1	Datar	0,6-2,8	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
SRM 2	Cembung	0,6-5,2	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
SRM 3	Datar	0,4-1,6	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
SRM 4	Datar	0,4-1,8	Homofermentatif	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
SRM 5	Datar	0,7-1,9	Homofermentatif	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
SRM 6	Datar	0,7-2,8	Heterofermentatif	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+

Keterangan: Gal. Galaktosa; Lak. Laktosa; Suk. Sukrosa; Tre. Trehalosa; Man. Manitol; Sor. Sorbitol; +. Isolat bakteri tumbuh; -. Isolat bakteri tidak tumbuh

**Tabel 2.** Karakter bakteri asam laktat dari feses luwak pandan pada Daerah Desa Kapur

Kode Isolat	Karakter Morfologi			Karakter Biokimia						Karakter Fisiologi			
	Elevasi	Ukuran Sel ( $\mu\text{m}$ )	Tipe Fermentasi	Gal	Lak	Suk	Tre	Man	Sor	4° C	10° C	45° C	NaCl 18%
PGK 1	Cembung	0,4-1,6	Homofermentatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PGK 2	Datar	0,4-1,6	Heterofermentatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
PGK 3	Datar	0,2-1,4	Homofermentatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
PGK 4	Datar	0,2-1,3	Homofermentatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SGK 1	Cembung	0,7-1,7	Homofermentatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SGK 2	Datar	0,6-2,2	Heterofermentatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SGK 3	Cembung	0,6-1,6	Homofermentatif	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
SGK 4	Datar	0,6-2,8	Homofermentatif	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-
SRK 1	Datar	0,8-2,2	Homofermentatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
SRK 2	Cembung	0,6-2,2	Homofermentatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
SRK 3	Datar	0,9-	Homofermentatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

		3,0	atif										
SRK 4	Datar	0,8- 2,4	Heteroferment atif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan: Gal. Galaktosa; Lak. Laktosa; Suk. Sukrosa; Tre. Trehalosa; Man. Manitol; Sor. Sorbitol; +. Isolat bakteri tumbuh; -. Isolat bakteri tidak tumbuh

**Tabel 3.** Karakter bakteri asam laktat dari feses luwak pandan pada Daerah Kuala Dua

Kode Isolat	Karakter Morfologi			Karakter Biokimia						Karakter Fisiologi			
	Elevasi	Ukuran Sel (µm)	Tipe Fermentasi	Gal	Lak	Suk	Tre	Ma n	Sor	4° C	10° C	45° C	NaCl 18%
PGI 1	Cembung	0,3- 1,1	Heteroferment atif	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
PGI 2	Datar	0,2- 1,7	Heteroferment atif	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
PGI 3	Datar	0,5- 1,9	Heteroferment atif	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
PGI 4	Datar	0,4- 1,6	Heteroferment atif	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
PGI 5	Cembung	0,4- 1,6	Heteroferment atif	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
SGI 1	Cembung	0,5- 2,3	Heteroferment atif	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
SGI 2	Datar	0,3- 2,1	Heteroferment atif	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
SGI 3	Datar	0,3- 1,3	Heteroferment atif	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
SGI 4	Cembung	0,4- 1,3	Heteroferment atif	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
SRI 1	Datar	0,6- 1,7	Heteroferment atif	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
SRI 2	Cembung	0,6- 2,2	Heteroferment atif	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
SRI 3	Datar	0,6- 1,7	Heteroferment atif	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-
SRI 4	Cembung	0,8- 1,9	Heteroferment atif	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-

Keterangan: Gal. Galaktosa; Lak. Laktosa; Suk. Sukrosa; Tre. Trehalosa; Man. Manitol; Sor. Sorbitol; +. Isolat bakteri tumbuh; -. Isolat bakteri tidak tumbuh

### Hasil Analisis Bakteri Asam Laktat dari Feses Luwak Pandan (*P. hermaphroditus*)

Hasil analisis bakteri asam laktat yang diperoleh dalam bentuk dendrogram dengan koefisien  $S_{SM}$  (*Simple Matching Coefficient*) merujuk tiga acuan bakteri untuk 44 isolat bakteri yang dibagi menjadi tiga kluster yaitu kluster A, kluster B, dan kluster C. Isolat bakteri dengan kode isolat SGK 4, SGK 3, SRK 4, SGK 2, SRK 2, SRK 3, SRK 1, PGK 3, PGK 2, PGK 4, SGK 1, PGK 1 dan *L. casei* yang termasuk dalam kluster A dengan indeks similaritas 87,6%. Isolat bakteri dengan kode isolat SRM 4, SRM 2, SRM 1, SRM 5, SRM 6, SGM 6, SGM

5, SGM 1, SGM 4, SGM 2, SGM 3, PGM 7, PGM 6, SRM 3, PGM 4, PGM 5, PGM 3 dan *B. bifidum* termasuk dalam kluster B dengan indeks similaritas 92,2%. Isolat bakteri dengan kode isolat SRI 2, SGI 2, SRI 4, SGI 1, SGI 4, PGI 5, SRI 3, PGI 3, SRI 1, SGI 3, PGI 4, PGI 2, PGI 1, PGM 2, PGM 1 dan *L. brevis* dalam kluster C dengan indeks similaritas 84,5%.

### Pembahasan

#### Karakterisasi morfologi bakteri asam laktat dari feses luwak pandan

Hasil isolasi dan skrining bakteri asam

laktat dari sampel feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*) diambil sebanyak 44 koloni memiliki zona bening. Koloni bakteri asam laktat yang tumbuh memiliki warna putih, bentuk bulat, tepian rata, serta elevasi datar dan cembung. Berdasarkan karakter koloni bakteri tersebut, hasil identifikasi merujuk pada genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Koloni bakteri *Lactobacillus* pada media agar memiliki elevasi koloni cembung dan tepian koloni rata (Holt *et al.*, 1994). *Bifidobacterium* memiliki warna koloni putih, tepian koloni rata, elevasi koloni cembung dan bentuk koloni bulat (Whitman, 2012).

Bentuk sel berdasarkan hasil yang didapatkan berbentuk basil, susunan sel berpasangan dan ukuran sel sekitar 0,2-5,2  $\mu\text{m}$ . *L. brevis* dan *L. casei* memiliki ukuran sekitar 2,0-4,0  $\mu\text{m}$  (Wood & Holzapfel, 1999). Bakteri genus *Lactobacillus* dan genus *Bifidobacterium* memiliki sel berbentuk basil dengan susunan sel tunggal, berpasangan ataupun rantai (Holt *et al.*, 1994). *Lactobacillus* secara umum memiliki ukuran sel sekitar 1,0-10,0  $\mu\text{m}$ . *Bifidobacterium* secara umum memiliki ukuran sel sekitar 1,5-8,0  $\mu\text{m}$ .

### **Karakterisasi biokimia bakteri asam laktat dari feses luwak pandan**

Hasil dari penelitian diperoleh 44 isolat memiliki pewarnaan gram positif berwarna ungu, pewarnaan endospora negatif berwarna merah dan tidak menunjukkan spora berwarna hijau, katalase negatif dan motilitas negatif. Bakteri asam laktat termasuk dalam bakteri gram positif yang memiliki dinding peptidoglikan lebih tebal dari bakteri gram negatif (Falakh & Asri, 2022). Bakteri pada pewarnaan endospora negatif memiliki sel warna merah karena bakteri tidak membentuk spora. Hasil penelitian Suhaeni & Syakur (2016), bakteri asam laktat tidak dapat memecah hidrogen peroksida karena termasuk bakteri katalase negatif. Bakteri asam laktat tidak motil dikarenakan tidak memiliki flagella (Surono, 2016). Berdasarkan kajian Holt *et al.*, (1994), bakteri *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* memiliki gram positif, tidak motil, dan tidak memiliki spora.

Hasil uji tipe fermentasi yang diperoleh, bakteri terdiri dari dua tipe fermentasi, yaitu heterofermentatif dan homofermentatif. Bakteri

genus *Lactobacillus* ada yang homofermentatif dan ada juga yang heterofermentatif (Surono, 2016). Bakteri asam laktat genus *Bifidobacterium* termasuk dalam tipe fermentasi heterofermentatif (Sukrama, 2019).

Hasil penelitian, isolat bakteri memiliki hasil uji sitrat negatif, uji indol negatif, uji of bersifat fermentatif, serta uji pada media TSIA didapatkan bakteri ini memiliki hasil H<sub>2</sub>S yang negatif dan memiliki warna kuning pada permukaan dan bawah media. Bakteri pada uji indol yang memberikan reaksi positif dikarenakan adanya enzim triptofanase yang membentuk lapisan merah pada permukaan media yang diberikan reagen *kovacs*, sedangkan bakteri yang memberikan reaksi negatif ditunjukkan dengan adanya lapisan kuning pada permukaan media (Fallo & Sine, 2016).

Bakteri asam laktat memiliki hasil uji sitrat negatif menunjukkan bakteri tidak menggunakan sitrat tersebut sebagai sumber energi dan karbon (Hairunissam 2019). Penelitian ini juga menunjukkan bakteri asam laktat memiliki warna kuning di bagian permukaan dan bawah tabung pada media TSIA yang berarti bakteri asam laktat mampu memfermentasi karbohidrat. Berdasarkan hasil penelitian Jauharah *et al.* (2020) menyatakan bahwa bakteri *Lactobacillus* pada feses *P. hermaphroditus* termasuk bakteri yang tidak memproduksi H<sub>2</sub>S. Barrow & Feltham (2003) menyatakan bahwa bakteri genus *Lactobacillus* dan genus *Bifidobacterium* dalam uji OF bersifat fermentatif.

Hasil uji gula pada isolat bakteri memiliki kemampuan memfermentasi gula. Isolat bakteri sekitar 100% (44 isolat) mampu memfermentasi gula glukosa, maltosa dan fruktosa, 86% (38 isolat) mampu memfermentasi gula galaktosa, 66% (29 isolat) mampu memfermentasi gula laktosa, 98% (43 isolat) mampu memfermentasi gula sukrosa, 68% (30 isolat) mampu memfermentasi gula trehalosa, 27% (12 isolat) mampu memfermentasi gula manitol, dan 43% (19 isolat) mampu memfermentasi gula sorbitol.

*L. brevis* mampu memfermentasi glukosa, fruktosa, galaktosa, maltosa, laktosa, dan sukrosa. *L. casei* mampu memfermentasi glukosa, fruktosa, galaktosa, maltosa, laktosa, dan manitol. *B. bifidum* mampu memfermentasi glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa, maltosa, trehalosa dan beberapa strain memfermentasi



laktosa (Breed *et al.*, 1957). Hasil penelitian Muzaifa *et al.*, (2019), *L. brevis* tidak dapat memfermentasi inulin, manitol, dan sorbitol. *L. brevis* tidak mampu memfermentasi trehalosa dan *L. casei* mampu memfermentasi glukosa, maltosa, dan sorbitol (Barrow & Feltham, 2003).

### **Karakterisasi fisiologi bakteri asam laktat dari feses luwak pandan**

Hasil penelitian uji pertumbuhan bakteri pada suhu 4°C, 10°C, 37°C, dan 45°C diperoleh hasil isolat bakteri dapat tumbuh pada suhu 4°C-45°C dengan pertumbuhan bakteri paling banyak pada suhu 37°C, sedangkan pertumbuhan bakteri paling sedikit pada suhu 4°C. Hasil pada uji suhu ini didapatkan isolat bakteri 50% (22 isolat) tumbuh pada suhu 4°C, 100% (44 isolat) tumbuh pada suhu 37°C, 90% (40 isolat) tumbuh pada suhu 10°C, dan 98% (43 isolat) tumbuh pada suhu 45°C. Bakteri asam laktat secara umum dapat tumbuh pada suhu 5°C-45°C (Widodo, 2019).

Penelitian Qonita *et al.*, (2018), *Lactobacillus* dapat tumbuh pada suhu 10°C-45°C. Bakteri *Bifidobacterium* tidak dapat tumbuh pada suhu < 20°C ataupun > 46°C (Sukrama, 2019). Bakteri yang tidak tumbuh pada suhu tinggi dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri dikarenakan dapat menyebabkan kerusakan terhadap enzim, sedangkan bakteri yang tidak tumbuh pada suhu rendah dapat menyebabkan aktivitas enzim terhambat (Roni & Herawati, 2012). Berdasarkan hasil penelitian Widiada (2021), *L. brevis* dapat tumbuh pada suhu 10°C, 37°C, dan 45°C. Hasil penelitian Amaliah *et al.*, (2018) menyatakan bahwa *L. casei* dapat tumbuh pada suhu 37°C dan 45°C. Menurut Barrow & Feltham (2003), *L. brevis* dan *L. casei* tidak dapat tumbuh pada suhu 45°C.

Hasil penelitian uji pertumbuhan bakteri pada kadar NaCl 4%, 6,5%, dan 18%. Bakteri yang diperoleh mampu tumbuh semua pada kadar NaCl 4% - 18% yang diperoleh hasil 100% (44 isolat) bakteri tumbuh pada kadar NaCl 4% dan 6,5%, serta 52% (23 isolat) bakteri tumbuh pada kadar NaCl 18%. Bakteri yang tidak tumbuh pada kadar NaCl tinggi dikarenakan dapat mengakibatkan pertumbuhan bakteri tersebut menjadi terhambat (Maligan *et al.*, 2006). Kadar garam NaCl tinggi dapat

menyebabkan air yang terkandung di dalam bakteri keluar, serta menyebabkan sel bakteri tersebut menjadi mengkerut dan juga mati (Qolby, 2023).

*Lactobacillus* dapat tumbuh pada kadar NaCl 6,5% dan 18% (Suro, 2016). NaCl 10% jumlah sel bakteri *Bifidobacterium* rendah (Gandhi & Shah 2015). Hasil penelitian Yaeshima *et al.*, (1991) menyatakan *Bifidobacterium* dapat tumbuh pada kadar NaCl 3,0% dan 4,2%, namun ada juga yang tidak dapat tumbuh pada kadar garam tersebut. Hasil penelitian Widiada (2021), *L. brevis* dapat tumbuh pada kadar NaCl 3,0% dan 6,5%. Penelitian Amaliah *et al.* (2018) menyatakan bahwa *L. casei* dapat tumbuh pada kadar NaCl 4% dan 6,5%. Pertumbuhan *B. bifidum* pada NaCl 10% dapat mengakibatkan bakteri tidak tumbuh ataupun terhambat (Maligan *et al.*, 2006). Hasil penelitian uji pertumbuhan bakteri pada pH 5, 7 dan 9 diperoleh 100 % (44 isolat) bakteri mampu tumbuh pada pH 5-9. Hasil penelitian Widiada (2021), kemampuan bakteri genus *Lactobacillus* dapat tumbuh pada pH 4,5-9,6. Hasil penelitian Hendrati *et al.*, (2017), *Bifidobacterium* tumbuh pada pH 4-9, namun bakteri *Bifidobacterium* tumbuh lebih baik pada pH 7 daripada pH 4, dan pH 9.

### **Hasil analisis bakteri asam laktat dari feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*)**

Hasil identifikasi bakteri asam laktat yang mengacu pada buku identifikasi *Bergeys manual of determinative bacteriology* (Holt *et al.*, 1994). Isolat bakteri diduga sebagai bakteri genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* yang ditunjukkan dengan sekitar 27 isolat bakteri diduga sebagai bakteri genus *Lactobacillus* dan 17 isolat bakteri diduga sebagai bakteri genus *Bifidobacterium*. Hal ini dikarenakan kedua genus bakteri tersebut menunjukkan karakter yang memiliki bentuk sel basil dan susunan sel berpasangan, gram positif, tidak memiliki spora, dan katalase negatif. Bakteri *Lactobacillus* memiliki ukuran sel 1,0-10,0 µm, sedangkan bakteri *Bifidobacterium* memiliki ukuran sel 0,5-8 µm. Berdasarkan hasil analisis similaritas diperoleh bakteri diduga sebagai bakteri *L. brevis*, *L. casei* dan *B. bifidum*.

Bakteri yang diduga sebagai bakteri *L. brevis* yaitu pada isolat SRI 2, SGI 2, SRI 4, SGI 1, SGI 4, PGI 5, SRI 3, PGI 3, SRI 1, SGI

3, PGI 4, PGI 2, PGI 1, PGM 2, PGM 1 dengan indeks similaritas 84,5%. Bakteri yang diduga sebagai bakteri *L. casei* yaitu pada isolat SGK 4, SGK 3, SRK 4, SGK 2, SRK 2, SRK 3, SRK 1, PGK 3, PGK 2, PGK 4, SGK 1 dan PGK 1 dengan indeks similaritas 87,6%. Bakteri yang diduga sebagai bakteri *B. bifidum* yaitu pada isolat SRM 4, SRM 2, SRM 1, SRM 5, SRM 6, SGM 6, SGM 5, SGM 1, SGM 4, SGM 2, SGM 3, PGM 7, PGM 6, SRM 3, PGM 4, PGM 5 dan PGM 3 dengan indeks similaritas 92,2%. Bakteri asam laktat ini dapat diduga sebagai bakteri *L. brevis*, *L. casei* dan *B. bifidum* dikarenakan indeks similaritas  $\geq 70\%$ . Strain bakteri dapat dikelompokkan menjadi satu spesies ketika memiliki indeks similaritas  $\geq 70\%$  (Goodfellow & O'Donnell, 1993).

Isolat bakteri yang diisolasi dan diperoleh dari feses Luwak Pandan (*P. hermaphroditus*) pada rumah warga di Jalan Angkasa Pura pada pagi hari terdapat isolat bakteri diduga sebagai bakteri *L. brevis* dan *B. bifidum*, pada siang hari dan sore hari terdapat isolat bakteri diduga sebagai bakteri *B. bifidum*, pada rumah warga di Desa Kapur terdapat isolat bakteri diduga sebagai bakteri *L. casei*, dan pada rumah warga di Kuala Dua terdapat isolat bakteri diduga sebagai bakteri *L. brevis*. Bakteri genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* terdapat pada feses luwak pandan dikarenakan bakteri genus tersebut merupakan bakteri yang ada pada saluran pencernaan vertebrata (Aini *et al.*, 2021). Hal lain yang mempengaruhi adanya bakteri genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* pada sampel feses luwak pandan (*P. hermaphroditus*) yang diperoleh dari rumah warga dikarenakan adanya faktor pakan yang diberikan berupa pisang kepok.

Pakan atau makanan yang dikonsumsi dapat mempengaruhi adanya bakteri asam laktat dalam saluran pencernaan (Widyadnyana *et al.*, 2015). P isang kepok memiliki kandungan karbohidrat tinggi (Nurhalimah *et al.*, 2019). Kandungan karbohidrat dapat berperan sebagai penyangga di dalam dinding sel bakteri (Ferdaus *et al.*, 2008). Karbohidrat mempengaruhi pertumbuhan bakteri asam laktat dikarenakan karbohidrat menjadi sumber energi bagi bakteri tersebut (Nuraini *et al.*, 2014). Bakteri *L. brevis*, *L. casei* dan *B. bifidum* dit emukan dalam saluran pencernaan (Surono, 2016). Jenis bakteri yang terdapat dalam saluran pencernaan

luwak, yaitu *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Rubiyo & Towaha, 2013).

Bakteri genus *Bifidobacterium* terdapat dalam kotoran, yaitu kotoran sapi (Erwanto & Hastari, 2016). Hasil penelitian Muzaifa *et al.*, (2019), *L. brevis* termasuk salah satu isolat bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi dari feses luwak (*P. hermaphroditus*). Menurut penelitian Azhar (2016) mengenai bakteri asam laktat asal feses orang utan terdapat bakteri *L. casei*. Hasil penelitian Lamendella *et al.*, (2008) mengenai *Bifidobacteria* pada feses babi, kucing, anjing dan kelinci yang termasuk hewan monogastrik, terdapat bakteri *B. bifidum*.

## Kesimpulan

Hubungan similaritas antar bakteri asam laktat diketahui bahwa 15 isolat bakteri memiliki indeks similaritas 84,5% dengan bakteri *L. brevis*, 12 isolat bakteri memiliki indeks similaritas 87,6% dengan bakteri *L. casei*, dan 17 isolat bakteri memiliki indeks similaritas 92,2% dengan bakteri *B. bifidum*.

## Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis sampaikan kepada Ibu Rahmawati, S.Si., M.Sc dan Bapak Firman Saputra, S.Si., M.Sc yang telah memberikan masukan, pengarahan dan semangat dalam proses penelitian dan penyusunan artikel ini.

## Referensi

- Afrianto, E., & Liviawaty, E. (2005). *Pakan Ikan dan Perkembangannya*. Kanisius, Yogyakarta.
- Aini, M., Rahayuni, S., Mardina, V., Quranayati., & Asiah, N. (2021). Bakteri *Lactobacillus* spp dan Peranannya Bagi Kehidupan. *Jurnal Jeumpa*. 8 (2): 614-624. DOI: <https://doi.org/10.33059/jj.v8i2.3154>
- 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: <https://doi.org/10.33096/jffi.v5i1.320>
- Azhar, A. D. (2016). *Analisis Keragaman Filogenetik Bakteri Asam Laktat Asal*

- Feses Orang Utan (Pongo pygmaeus) Berdasarkan Sekuen 16s rRNA*. Universitas Brawijaya, Malang.
- Barrow, G. I., & Feltham, R. K. A. (2003). *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Benson, H. J. (2001). *Microbiological Applications a Laboratory Manual in General Microbiology*. The McGraw-Hill Companies, New York.
- Breed, R. S., & Murray, E. G. D., Smith, N. R. (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The Williams & Wilkins Company, America.
- Cappucino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology a Laboratory Manual*. Pearson Education, San Fransisco.
- Desai, A. (2008). *Strain Identification, Viability and Probiotics Properties of Lactobacillus casei*. Victoria University, Werribee Campus, Australia.
- Erwanto, J., & Hastari, I. T. (2016). *Studi Perbandingan Produksi Biogas Menggunakan Feses Sapi, Cairan Rumen dan Feses Luwak pada CO-Digestion*. Institut teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Falakh, M. F., & Asri, M. T. (2022). Uji Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) Sebagai Antimikroba Terhadap *Salmonella typhi*. *Lentera Bio*. 11 (3): 514-524. DOI: <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n3.p514-524>
- Fallo, G., & Sine, Y. (2016). Isolasi dan Uji Biokimia Bakteri Selulolitik Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes* spp.). *Jurnal Pendidikan Biologi*. 1 (2): 27-29. URL: <https://jurnal.unimor.ac.id/JBE/article/view/501>
- Ferdaus, F., Wijayati, M. O., Retnonigtyas, E. S., & Irawati, W. (2008). Pengaruh pH, Konsentrasi Substrat, Penambahan Kalsium Karbonat dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Asam Laktat dari Kulit Pisang. *Widya Teknik*. 7 (1): 1-14. DOI: <https://doi.org/10.33508/wt.v7i1.1256>
- Gandhi, A., & Shah, N. P. (2015). Effect of Salt Stress on Morphology and Membrane Composition of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, and *Bifidobacterium bifidum*, and their Adhesion to Human Intestinal Epithelial-like CaCo-2 Cells. *Journal of Dairy Science*. 99 (4): 2594-2605. DOI: 10.3168/jds.2015-10718
- Ginting, S. S. B., Suryanto, D., & Desrita. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Potensial Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*. 5 (1): 23-29. DOI: <https://doi.org/10.29103/aa.v5i1.390>
- Goodfellow, M., & O'Donnell, A. G. (1993). *Handbook of New Bacterial Systematics*. Academic Press, London.
- Hadipernata, M., & Nugraha, S. (2012). *Identifikasi Fisik, Kimia dan Mikrobiologi Biji Kopi Luwak Sebagai Dasar Acuan Teknologi Proses Kopi Luwak Artificial*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Hairunissa, R. F. (2019). Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Penghasil Bakteriosin dari Makanan Botok Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis* C) Khas Kalimantan Barat yang memiliki Aktivitas terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 4 (1): 1-8. URL: <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jmfarmasi/article/view/43481>
- Harley, J. P., & Prescott, L. M. (2002). *Laboratory Exercises in Microbiology 5<sup>th</sup> Edition*. Mc Graw-Hill Companies, New York.
- Harley, J. P., & Prescott, L. M. (2005). *Laboratory Exercises in Microbiology 6<sup>th</sup> Edition*. Mc Graw-Hill Companies, New York.
- Hendrati, P. M., Dyah, F. K., Dini, R., & Oedjjono. (2017). Characterization of *Bifidobacteria* from Infant Feces with Different Mode of Birth at Purwokerto, Indonesia. *Biodiversitas*. 18 (3): 1265-1269. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d180352>
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergeys Manual of Determinative*

- Bacterology*. Lippincott Williams dan Wilkins, Philadelphia.
- Jauharah, D. J., Chusniati, S., Arif, M. A. A., Tyasningsih, W., Sarudji, S., Theresia, A., & Estoepangestie. (2020). Isolation and Identification of *Lactobacillus* sp. Bacteria in Asian Palm Civet (*Paradoxurus hermaphroditus*) Feces. *Ecology Environment and Conservation*. 26: 267-270. URL: [http://www.envirobiotechjournals.com/article\\_abstract.php?aid=10931&iid=320&jid=3](http://www.envirobiotechjournals.com/article_abstract.php?aid=10931&iid=320&jid=3)
- Lamendella, R., Domingo, J. W. S., Kelty, C., & Oerther, D. B. (2008). *Bifidobacteria* in Feces and Environmental Waters. *Applied and Environmental Microbiology*. 74 (3): 575-584. DOI: 10.1128/AEM.01221-07
- Lay, B. W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Grafindo Persada, Jakarta.
- Maligan, J. M., Kusnadi, J., & Murtini, E. S. (2006). Studi Viabilitas Bakteri Probiotik *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei* Termobilisasi pada Sistem Emulsi Air dalam Minyak Jagung dan Daya Tahannya pada Perlakuan Lanjutan. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 7 (3): 141-149. URL: <https://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/download/377/740>
- Manalu, R. T., Bahri, S., Melisa., & Sarah, S. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat asal Feses Manusia sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Sainstech Farma*. 13 (1): 55-59. DOI: <https://doi.org/10.37277/sfj.v13i1.525>
- Muwarni, S. (2015). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Veteriner*. UB Press, Malang.
- Muzaifa, M., Hasni, D., Patria, A., Febriani., & Abubakar, A. (2019). Phenotypic Identification of Lactic Acid Bacteria From Civet (*Paradoxurus hermaphroditus*). *International Journal on Advanced Science Engineering Information Technology*. 9 (5): 1681-1686. DOI: <https://doi.org/10.21107/agrointek.v17i1.13841>
- Nuraini, A., Ibrahim, R., & Rianingsih, L. (2014). Pengaruh Penambahan Konsentrasi Sumber Karbohidrat dari Nasi dan Gula Merah yang Berbeda Terhadap Mutu Bekasam Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Sainstek Perikanan*. 10 (1): 19-25. URL: <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/sainstek/article/download/8324/6854>
- Nurhalimah, R., Astija., Kundera, I. N., & Tureni, D. (2019). Uji Kandungan Karbohidrat pada Buah Pisang Kultivar Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) pada Tingkat Kematangan dan Olahan yang Berbeda. *Journal of Biology Science and Education*. 7 (2): 463-468. DOI: <https://doi.org/10.22487/jbse.v7i2.1141>
- Nursulistyarini, F., & Ainy, E. Q. (2014). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Penghasil Antibakteri dari Daun Tanaman Binahong (Anredera cordifolia (Ten. Steenis))*. UIN Sunan Kalijaga, Yogyakarta.
- Qolby, G. S. (2023). *Pemanfaatan Larutan Garam (NaCl) Terhadap Jumlah Bakteri pada Selada Bokor (Lactuca sativa var. crispata)*. Politeknik Kesehatan Bandung, Bandung.
- Qonita, S. B., Johan, V. S., & Rahmayuni. (2018). Identifikasi Genus Bakteri Asam Laktat dari Nira Aren Terfermentasi Spontan. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian*. 5 (1): 1-12. URL: <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFAPERTA/article/view/18900>
- Roni, A., & Herawati, N. (2012). Uji Kandungan Asam Laktat di Dalam Limbah Kubis dengan Menggunakan NaCl dan CaCl<sub>2</sub>. *Berkala Teknik*. 2 (4): 320-333. URL: <https://jurnal.um-palembang.ac.id/berkalateknik/article/view/347>
- Rubiyo., & Towaha, J. (2013). Pengaruh Fermentasi Terhadap Citarasa Kopi Luwak Probiotik. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 4 (2): 175-182. DOI: 10.21082/jtidp.v4n2.2013.p175-182
- Suhaeni., & Syakur, A. (2016). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dangka Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Biogenesis*. 4 (2): 79-83. DOI: <https://doi.org/10.24252/bio.v4i2.2511>

- Sukrama, I. D. M. (2019). *Probiotik Bifidobacteria: Peran Aktif Antagonis Melawan Patogen Enterik Melalui Modulasi Sistem Imun*. PT. Intisari Sains Medis, Denpasar.
- Surono, I. S. (2016). *Probiotik, Mikrobiome dan Pangan Fungsional*. Penerbit Deepublish, Yogyakarta.
- 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. URL: <https://www.ijcmas.com/vol-4-4/Pooja%20Thakkar,%20et%20al.pdf>
- Usman, D., Supriyadi, A., & Kusdiyantini. (2015). Fermentasi Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Feses Luwak dengan Perlakuan Lama Waktu Inkubasi. *Jurnal Biologi*. 4 (3): 31-40. URL: <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19417>
- Whitman, W. B. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. University of Georgia, Athens.
- Widiada, I. D. N. (2021). Karakterisasi Fenotipik Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Susu Kuda Liar Bima. *Jurnal Riset Kesehatan*.13 (2): 304-309. DOI: <https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v13i2.1867>
- Widyadnyana, D. G. A., Sukrama, I. D. M., & Suardana, I. W. (2015). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali sebagai Probiotik melalui Analisis Gen 16S rRNA. *Jurnal Sain Vetriner*. 33 (2): 228-233. DOI: 10.22146/jsv.17923
- Widodo. (2019). *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wood, B. J. B., & Holzapfel, W. H. (1995). *The Genera Lactic Acid Bacteria*. Springer Science Business Media Dordrecht, Surrey.
- Yaeshima, T., Fujisawa, T., & Mitsuoka, T. (1991). Differential Characteristics of *Bifidobacterium longum* and *Bifidobacterium animalis*. *Systematic and Applied Microbiology*. 14 (2): 169-172. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80297-3](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80297-3)