

## Identification of Lactic Acid Bacteria from Fermented Kimchi Sawi Ansabi (*Brassica juncea* L.) using Phenotypic Similarities

Selly Marselina Teul<sup>1</sup>, Rahmawati<sup>1\*</sup>, Siti Ifadatin<sup>1</sup>

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

### Article History

Received : July 06<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 play a significant role in the fermentation of food, such as kimchi, which is fermented vegetables. Sawi kampung ansabi is a vegetable cultivated by the Dayak people in Kalimantan during the rice farming season which can be fermented into kimchi. Based on phenotypic similarities, the aim of this study was to identify and acquire cultures of lactic acid bacteria on MRSA media (*De Man Rogosa and Sharpe Agar*) enriched 1% CaCO<sub>3</sub> from kimchi sawi ansabi fermented food sawi ansabi. The results of the isolations were used to test 10 isolates of lactic acid bacteria using the MVSP (*Multivariate Statistical Package*) program, the UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average Mean*) method based on the *Simple Matching Coefficient* and *Jaccard Coefficient* to form dendrograms. *Simple Matching Coefficient* analysis resulted 8 isolates suspected to be *Lactobacillus plantarum* with a similarity index of 94.6%, 1 suspected 91.9% to *Lactobacillus dellbrueckii*, and 1 suspected 91.9% to *Pediococcus cerevisiae*. The *Jaccard Coefficient* analysis resulted in 8 isolates suspected of *Lactobacillus plantarum* with a similarity index of 92.6%, 1 isolate suspected 87% to *Lactobacillus dellbrueckii*, and 1 isolate 88% to *Pediococcus cerevisiae*.

**Keywords:** Kimchi ansabi, lactic acid bacteria, *Lactobacillus*, *Pediococcus*.

### Pendahuluan

Sawi ansabi atau sawi kampung merupakan salah satu jenis sawi yang dibudidayakan oleh masyarakat Dayak. Berdasarkan Megawati *et al.* (2020), sawi ansabi umumnya hanya ditanam pada musim tertentu yaitu pada saat musim berladang padi gunung oleh masyarakat Suku Dayak di Kalimantan. Oleh karena itu, sawi ansabi terkadang sulit ditemukan selain pada musim berladang padi gunung. Selain itu, sayuran sawi ini memiliki sifat mudah layu dan busuk pasca panen yang ditandai oleh perubahan fisik sayuran sehingga menyebabkan kualitas sayuran menjadi menurun. Oleh karena itu, diperlukan upaya pengolahan sayuran dengan cara fermentasi sayuran yaitu fermentasi kimchi.

Fermentasi sayuran dapat menambah daya simpan, meningkatkan nilai ekonomi, meningkatkan keanekaragaman produk pangan

serta baik bagi kesehatan (Anggraeni *et al.*, 2021). Kimchi merupakan produk makanan tradisional hasil fermentasi asal Korea Selatan yang terdiri dari campuran antara asinan sayur dan bumbu pedas. Kimchi saat ini digemari oleh masyarakat di Indonesia. Kimchi adalah olahan makanan terkenal dari Korea Selatan yang dihidangkan sebagai lauk pauk di dalam piring kecil pada porsi kecil (Yolanda dan Meitiniarti, 2017). Kimchi menggunakan bahan dasar sayur yang diasinkan dan ditambahkan cabe dan bawang putih sebagai bumbu untuk menambah cita rasa pedas (Azka *et al.*, 2018).

Pengolahan kimchi dalam proses fermentasi diperankan oleh berbagai mikroorganisme. Mikroorganisme yang memiliki peranan dalam fermentasi kimchi adalah bakteri asam laktat. Bahan-bahan yang digunakan dalam fermentasi kimchi mengandung nutrisi bagi bakteri (Yolanda dan Meitiniarti, 2017). Mikroorganisme memerlukan

nutrisi dan kondisi lingkungan sesuai untuk mendukung pertumbuhannya (Amelia *et al.*, 2019). Bakteri asam laktat merupakan bakteri non patogen. Bakteri asam laktat termasuk dalam kategori *foodgrade microorganism* karena tidak bersifat patogen dan aman dikonsumsi (Syukur, 2017). Keberadaan bakteri asam laktat dapat mengawetkan produk makanan (Rahayu dan Utami, 2019).

Hasil kajian Azka *et al.*, (2018), asam laktat yang diproduksi pada kimchi oleh aktivitas bakteri contohnya *Lactobacillus* sehingga apabila dikonsumsi dapat melancarkan sistem pencernaan. Berdasarkan penelitian Shin *et al.*, (2014); Jung *et al.*, (2014), makanan kimchi terdapat beberapa jenis bakteri asam laktat diantaranya genus *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Weissella*. dan *Leuconostoc*. Penelitian terkait kemiripan antar bakteri asam laktat masih kurang. Beberapa kajian hanya sebatas mengisolasi tanpa meninjau segi indeks similaritas antar bakteri asam laktat. Goodfellow dan O'Donnell (1993) menyatakan bahwa apabila suatu strain mikroba memiliki indeks similaritas  $\geq 70\%$  maka dapat dinyatakan sebagai satu spesies.

Indeks similaritas dianalisis berdasarkan karakteristik fenotipik yang kemudian digambarkan pada dendrogram (Chasanah, 2018). Dendrogram menggambarkan pohon hubungan fenotipik dari suatu spesies dengan spesies lainnya melalui perbandingan ciri morfologi spesies (Darmawati *et al.*, 2011). Kemiripan antar bakteri perlu diketahui untuk mengetahui strain dari spesies bakteri dengan karakter spesifik, sehingga akan diperoleh isolat lokal yang dapat digunakan sebagai starter untuk produk fermentasi. Berdasarkan uraian tersebut, klasifikasi numerik fenetik dari bakteri asam laktat hasil isolasi makanan fermentasi kimchi perlu dilakukan untuk menggambarkan tentang kemiripan antar bakteri asam laktat berdasarkan indeks similaritas.

## Bahan dan Metode

### Bahan penelitian

Penelitian ini menggunakan kimchi sawi kampung ansabi (*Brassica juncea* L.) yang difermentasi selama dua hari pada wadah tertutup. Sampel kimchi sawi kampung ansabi kemudian dibawa untuk diteliti di Laboratorium

Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Jurusan Biologi, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.

### Fermentasi kimchi

Sawi ansabi disiapkan dan ditimbang sebanyak 250 gram kemudian dicuci hingga bersih dan dipotong-potong berukuran  $\pm 3$  cm kemudian direndam pada garam 12,5 gram selama 2 jam. Sawi dicuci pada air mengalir sebanyak 2-3 kali, ditiriskan kemudian dibalik dan diremas setiap 30 menit. Bumbu seperti 1 cm jahe, 3 siung bawang putih dihaluskan kemudian dibalurkan pada sawi putih dan ditambahkan bubuk cabe sebanyak 4 gram, gula 5 gram dan air secukupnya. Kimchi difermentasi pada wadah tertutup selama dua hari (Khasbullah *et al.*, 2020).

### Isolasi bakteri asam laktat

Proses isolasi bakteri menggunakan metode pengenceran bertingkat. Sampel kimchi diambil 10 gram dicampurkan dengan 90 ml NaCl, kemudian 1 ml diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan garam fisiologis (NaCl) steril, dihomogenkan sebagai pengenceran pertama ( $10^{-1}$ ) dan dilakukan berulang pada seri pengenceran selanjutnya (Laily *et al.* 2013). Seri pengenceran dibuat sampai  $10^{-6}$  dan diambil 1 ml dari dua seri pengenceran terakhir dipindahkan ke dalam cawan petri ditambahkan media selektif MRSA diperkaya  $\text{CaCO}_3$  1% yang berfungsi untuk penanda produksi asam dihidrolisis membentuk zona bening. Bakteri diinkubasi pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selama 48 jam dan diamati pertumbuhan koloni. Koloni-koloni bakteri yang tumbuh bulat dan putih pada media serta yang terlihat memiliki karakter berbeda dipisahkan dengan cara dikultur pada media selektif MRSA baru sampai diperoleh kultur murni dan dilanjutkan dengan tahap karakterisasi (Yolanda dan Meitiniarti, 2017).

### Karakterisasi isolat bakteri asam laktat

Isolat bakteri dikarakterisasi melalui pengamatan karakter morfologi, biokimia, dan fisiologi. Berdasarkan karakter morfologi bakteri asam laktat diamati bentuk koloni, bentuk sel, susunan sel, ukuran sel, warna koloni, elevasi, tepian, pewarnaan gram dan endospora. Karakterisasi biokimiawi diamati berdasarkan uji

katalase, oksidatif/fermentative (O/F), tipe fermentasi, TSIA, motilitas, indol, sitrat, glukosa, sukrosa, laktosa, fruktosa, trehalosa, manitol, inulin, galaktosa, maltosa, sorbitol. Karakterisasi fisiologis diamati berdasarkan pertumbuhan bakteri pada suhu, pH dan kadar NaCl berbeda.

### Identifikasi bakteri

Bakteri asam laktat diidentifikasi berdasarkan karakter fenotipik terdiri dari pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis seperti pewarnaan gram, biokimia, dan uji fisiologis. Karakter-karakter bakteri asam laktat dicocokkan dengan buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Nurhayati *et al.*, 2011).

### Analisis data

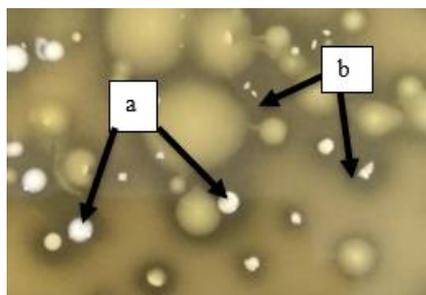
Data dimasukkan pada Microsoft Excel dan dianalisis menggunakan *Multivariate Statistic Package* (MVSP). Similaritas antar isolat ditentukan berdasarkan metode *Simple Matching Coefficient* (SM) dan *Jaccard Coefficient* (SJ). Pengelompokan isolat dilakukan berdasarkan algoritma *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average Mean* (UPGMA). Hasil analisis disajikan dalam bentuk dendrogram (Singh, 2004).

### Hasil dan Pembahasan

#### Hasil isolasi bakteri asam laktat dari makanan fermentasi kimchi sawi kampung ansabi

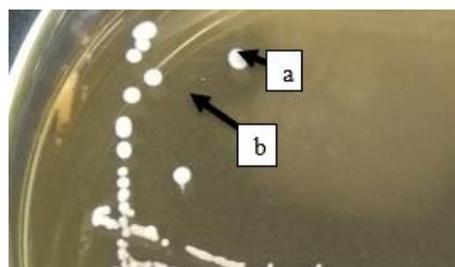
Hasil isolasi diperoleh melalui skrining pengamatan makroskopis bakteri yang tumbuh pada media agar berdasarkan karakter morfologi yang terlihat berbeda. Koloni yang tumbuh

memiliki warna putih berbentuk bulat sebagai bakteri asam laktat. Keberadaan zona bening yang mengelilingi koloni bakteri juga diamati sebagai bagian dalam skrining (Gambar 1).



**Gambar 1.** Hasil isolasi bakteri asam laktat: a. Koloni BAL, b. Zona Bening

Hasil skrining, isolat yang diperoleh sebanyak 10 isolat bakteri asam laktat dengan kode isolat yaitu BLK 1, BLK 2, BLK 3, BLK 4, BLK 5, BLK 6, BLK 7, BLK 8, BLK 9, dan BLK 10 (Gambar 2). Hasil yang telah diperoleh dari isolasi dan skrining bakteri asam laktat dilakukan pemurnian menggunakan metode gores. Biakan murni diperoleh tumbuh pada media sesuai goresan dan membentuk zona bening (Gambar 2).



**Gambar 2.** Koloni Bakteri Asam Laktat Hasil Kultur pada Media MRSA diperkaya CaCO<sub>3</sub> 1% : a. Koloni Bakteri, b. Zona Bening

**Tabel 1.** Karakter Morfologi Bakteri Asam Laktat

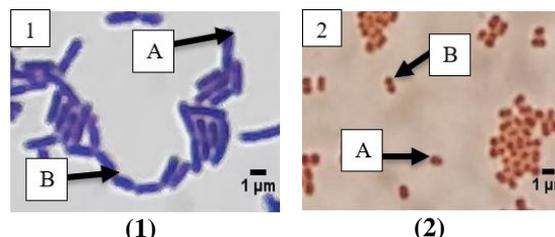
Karakter Uji	Isolat Bakteri									
	BLK 1	BLK 2	BLK 3	BLK 4	BLK 5	BLK 6	BLK 7	BLK 8	BLK 9	BLK 10
Bentuk koloni	bulat	bulat	bulat	bulat	bulat	bulat	bulat	bulat	bulat	bulat
Bentuk sel	<i>bacil</i>	<i>coccus</i>	<i>bacil</i>	<i>bacil</i>	<i>bacil</i>	<i>bacil</i>	<i>bacil</i>	<i>bacil</i>	<i>bacil</i>	<i>bacil</i>
Susunan sel	bpsg	bpsg	bpsg	bpsg	bpsg	bpsg	bpsg	bpsg	bpsg	bpsg
Ukuran sel (µm)	1.13-3.39	0.36-1.15	0.83-2.53	0.97-2.52	1.07-4.1	0.97-2.48	1.38-3.33	1.32-3.42	1.66-3.67	0.74-2.20
Warna koloni	putih	putih	putih	putih	putih	putih	putih	putih	putih	putih
Elevasi	<i>convex</i>	<i>convex</i>	<i>flat</i>	<i>convex</i>	<i>flat</i>	<i>flat</i>	<i>convex</i>	<i>flat</i>	<i>convex</i>	<i>flat</i>
Tepian	rata	rata	rata	rata	rata	rata	rata	rata	rata	rata
Pewarnaan gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Endospora	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-----------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Hasil pengamatan morfologi bakteri asam laktat pada Tabel 1 menunjukkan hasil adanya persamaan dan perbedaan karakter pada 10 isolat bakteri asam laktat. Persamaan karakter morfologi secara makroskopis yaitu bentuk koloni bulat, berwarna putih, dan tepian rata yang merupakan ciri yang menunjukkan isolat termasuk bakteri asam laktat secara morfologi, sedangkan karakter berbeda yaitu elevasi yaitu 5 isolat memiliki elevasi datar (*flat*) dan 5 isolat memiliki elevasi cembung (*convex*).

Hasil pengamatan berdasarkan morfologi secara mikroskopis dari 10 isolat bakteri asam laktat menunjukkan persamaan yaitu pada karakter susunan sel berpasangan, gram positif dan endospora negatif. Pengamatan secara mikroskopis terdapat perbedaan ukuran sel 0,36-4,1 µm (Tabel 1). Berdasarkan pengamatan bentuk sel (Gambar

3) diketahui bahwa bentuk sel dari bakteri asam laktat berbeda yaitu 9 isolat bakteri memiliki bentuk *bacil* termasuk dalam genus *Lactobacillus* dan 1 isolat bakteri memiliki bentuk *coccus* termasuk dalam genus *Pediococcus*.



**Gambar 3.** Pengamatan Mikroskop dengan Perbesaran 100 x 10 pada: (1) Pewarnaan Gram Isolat BLK 6: (A) Bentuk *bacil*, (B) Susunan Berpasangan; (2) Pewarnaan Endospora Isolat BLK 2: (A) Bentuk *coccus*, (B) Susunan Berpasangan

**Tabel 2.** Karakter biokimia bakteri asam laktat

Karakter Uji	Isolat Bakteri									
	BLK 1	BLK 2	BLK 3	BLK 4	BLK 5	BLK 6	BLK 7	BLK 8	BLK 9	BLK 10
Oksidatif/fermentatif	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Tipe fermentasi	HO	HO	HO	HO	HO	HO	HO	HO	HO	HO
Produksi Endapan H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Produksi Gas O <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Motilitas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sukrosa	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Laktosa	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Fruktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+
Inulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galaktosa	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Maltosa	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-

Keterangan : +: positif; -: negatif

Hasil pengamatan karakter biokimia (Tabel 2), hasil uji biokimia dari seluruh karakter uji yaitu terdapat bakteri yang memiliki persamaan dan perbedaan pada karakter biokimia. Hasil berbeda ditunjukkan pada uji

sukrosa, laktosa, mannitol, galaktosa, maltosa dan sorbitol, sedangkan terdapat persamaan karakter pada hasil uji katalase, O/F, produksi H<sub>2</sub>S, motilitas, indol, sitrat, glukosa, fruktosa, dan trehalosa. Karakter tersebut menjadi karakter

yang membedakan antar spesies bakteri asam laktat.

**Tabel 3.** Karakter fisiologis bakteri asam laktat

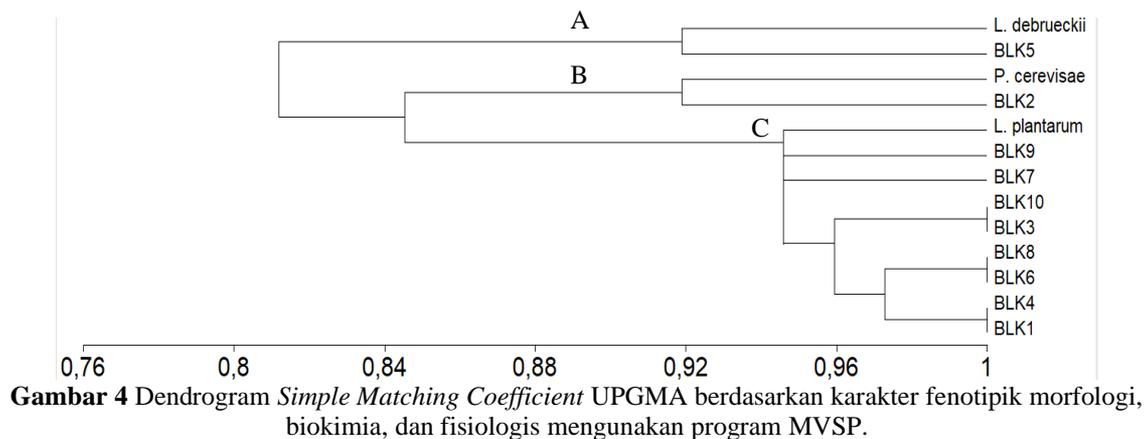
Karakter Uji	Isolat Bakteri									
	BLK 1	BLK 2	BLK 3	BLK 4	BLK 5	BLK 6	BLK 7	BLK 8	BLK 9	BLK 10
Suhu 10°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Suhu 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Suhu 45°C	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
pH 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 4%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 6,5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 18%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan : +: positif; -: negatif

Hasil dari pengamatan karakter fisiologis (Tabel 3) menunjukkan 10 isolat hanya mampu tumbuh dengan rentang suhu 10°C-45°C yang terlihat dari adanya kekeruhan pada media MRSB. Pertumbuhan bakteri paling banyak pada suhu 10°C dan 37°C sedangkan pertumbuhan bakteri paling sedikit pada suhu 45°C. Berdasarkan uji pH menunjukkan hasil bahwa 10 isolat dapat tumbuh pada semua kadar uji pH. Berdasarkan uji NaCl berbeda menunjukkan bahwa 10 isolat dapat tumbuh pada semua kadar uji NaCl (Tabel 3)

### Identifikasi Bakteri Asam Laktat

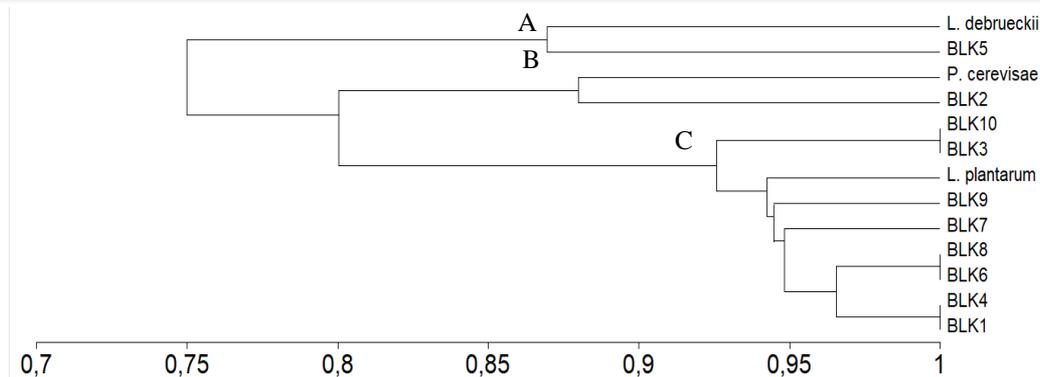
Hasil uji dari morfologi, biokimia, dan fisiologis dilakukan analisis similaritas berdasarkan dua analisis yaitu *Simple Matching Coefficient* (SSM) dan *Jaccard Coefficient* (SJ), tiga bakteri acuan yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, dan *Pediococcus cerevisiae* membentuk dendrogram dengan kluster A, kluster B, dan kluster C sebagai 3 kluster besar.



**Gambar 4** Dendrogram *Simple Matching Coefficient* UPGMA berdasarkan karakter fenotipik morfologi, biokimia, dan fisiologis menggunakan program MVSP.

Hasil analisis SSM diperoleh bahwa kluster A terdiri dari isolat BLK 5 diduga sebagai *L. delbrueckii* memiliki indeks similaritas sebesar 91,9%. Kluster B terdiri dari isolat BLK 2 diduga sebagai *P. cerevisiae* dengan indeks

similaritas 91,9%. Kluster C terdiri dari BLK 1, BLK 4, BLK 6, BLK 8, BLK 3, BLK 10, BLK 7, dan BLK 9 diduga termasuk dalam *L. plantarum* dengan indeks similaritas 94,6%.



**Gambar 5** Dendrogram *Jaccard Coefficient* UPGMA berdasarkan karakter fenotipik morfologi, biokimia, dan fisiologis menggunakan program MVSP.

Hasil analisis SJ menunjukkan terdapat 3 kluster utama. Kluster A terdiri dari isolat bakteri BLK 5 diduga sebagai *L. delbrueckii* dengan indeks similaritas 87%. Kluster B terdiri dari isolat BLK 2 diduga sebagai *P. cerevisiae* dengan indeks similaritas 88%. Kluster C terdiri dari BLK 1, BLK 4, BLK 6, BLK 8, BLK 7, BLK 9, BLK 3, dan BLK 10 diduga sebagai *L. plantarum* dengan indeks similaritas 92,6%.

## Pembahasan

### Isolasi bakteri asam laktat

Isolasi bakteri asam laktat dari fermentasi kimchi sawi kampung ansabi, diperoleh koloni bulat dan putih yang ditandai oleh adanya zona bening (Gambar 1). Bakteri asam laktat menunjukkan tepian rata, elevasi *convex* dan *flat* dan terdapat zona bening dari penambahan  $\text{CaCO}_3$  pada media selektif MRSA (Tabel 1). Hal tersebut sesuai dengan kajian Nur *et al.* (2015) yang menjelaskan bahwa zona bening pada sekitar koloni bakteri asam laktat disebabkan Ca-laktat larut yang terbentuk dari reaksi antara asam laktat dan  $\text{CaCO}_3$ . Sasmita *et al.* (2018) juga mengidentifikasi bakteri asam laktat berdasarkan zona bening dan memperoleh karakter morfologi koloni bakteri asam laktat memiliki bentuk bulat berwarna putih, tepian rata serta elevasi cembung.

### Karakter morfologi bakteri asam laktat

Pengamatan morfologi secara mikroskopis, bentuk sel yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu 9 isolat basil dan 1 isolat coccus yang tersusun secara tunggal, berpasangan, atau rantai, serta memiliki ukuran yang beragam (Tabel 1). Berdasarkan *Bergeys*

*Manual of Determinative Bacteriology*, Holt *et al.* (1994) menyatakan bahwa bakteri asam laktat memiliki bentuk basil contohnya *Lactobacillus*, sedangkan bentuk coccus seperti *Pediococcus* dengan susunan tunggal, berpasangan atau rantai. Ukuran genus *Lactobacillus* pada umumnya kisaran 1-10  $\mu\text{m}$ , sedangkan genus *Pediococcus* memiliki ukuran 1-2  $\mu\text{m}$ .

Hasil uji pewarnaan gram seluruh isolat gram positif berwarna ungu, dan hasil uji pewarnaan endospora seluruh isolat adalah negatif yang ditandai oleh warna merah (Tabel 1). Berdasarkan Wood dan Holzapfel (1995), hal ini sesuai dengan karakteristik secara umum yaitu memiliki gram positif, tidak memiliki endospora. Dinding sel yang tersusun dari peptidoglikan pada gram positif dapat mengikat pewarna primer kristal violet dengan baik yang memberikan warna ungu, sedangkan pada gram negatif memiliki ciri yaitu dinding sel yang sebagian besar tersusun dari lipid sehingga kurang dapat mempertahankan warna saat dibilas dengan alkohol dan menyebabkan sarinin sebagai zat pewarna kedua mewarnai sel bakteri menjadi merah.

Pewarnaan endospora menggunakan pewarna malakit hijau karena kemampuannya mengikat dinding sel dan dinding spora relatif lemah dan metode pemanasan untuk menguji permeabilitas spora pada dinding sel (Wardani *et al.*, 2022). Pemanasan menyebabkan dinding spora lebih permeabel terhadap malakit hijau sedangkan ketika apusan telah dingin, dinding spora menjadi kurang permeable kemudian reagen safranin diberikan sebagai pewarna sel vegetatif. Penelitian terkait bakteri asam laktat dilakukan Utama *et al.*, (2018) tentang isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada jus

kubis fermentasi diperoleh *Lactobacillus plantarum* dengan hasil gram positif dan non endospora.

#### **Karakter biokimia bakteri asam laktat**

Uji katalase, motilitas, indol, dan sitrat menunjukkan hasil bahwa semua isolat negatif (Tabel 2). Hal ini sesuai dengan karakteristik bakteri asam laktat menurut Wood dan Holzapfel (1995) yaitu tidak memiliki enzim katalase, non motil, indol negatif, dan tidak menghasilkan sitrat. Berdasarkan Effendi (2020), uji katalase negatif ditandai oleh *object glass* tidak terbentuk gelembung. Uji Indol negatif yang ditandai oleh tidak terbentuk warna merah pada penggunaan asam amino triptofan. Hal ini juga sesuai dengan Lay (1994), yang menunjukkan bahwa indol negatif tidak membentuk senyawa kuinon. menjadi asam piruvat dan indol.

Hasil uji tipe fermentasi dari seluruh isolat menunjukkan bahwa isolat tidak menghasilkan gelembung pada tabung durham sehingga seluruh isolat termasuk dalam tipe homofermentatif (Tabel 2). Kelompok bakteri homofermentatif menghasilkan produk utama fermentasi gula berupa asam laktat, sedangkan kelompok heterofermentatif tidak hanya menghasilkan asam laktat akan tetapi menghasilkan produk asam organik lain seperti asam asetat, gas, etanol dan CO<sub>2</sub>. Menurut Setiarto (2021), tipe fermentasi homofermentatif memiliki produksi asam yang tinggi sekitar 90% atau lebih asam laktat murni sehingga lebih sering digunakan dan dijumpai dalam produk pengawetan makanan. *Pediococcus* termasuk dalam homofermentatif (Holt, 1994). Adapun penelitian yang dilakukan seperti Surbakti dan Hasanah (2019) yang mengidentifikasi bakteri asam laktat pada ketimun nenas dan ketimun cabai menunjukkan tipe homofermentatif pada bakteri asam laktat *Lactobacillus*.

Uji OF menunjukkan hasil bahwa seluruh isolat yang diperoleh bersifat fermentatif (Tabel 2). Menurut Permatasari *et al.*, (2022) bakteri asam laktat memiliki karakteristik bersifat fermentatif disebabkan kemampuan bakteri asam laktat dalam mengkonversi sumber gula utama secara cepat yang membedakan bakteri asam laktat dari bakteri penghasil asam lainnya. Berdasarkan kajian Surbakti dan Hasanah (2019) diperoleh bakteri asam laktat pada fermentasi

acar bersifat fermentatif pada genus *Lactobacillus*.

Uji kemampuan dalam memfermentasi gula menggunakan TSIA menunjukkan hasil bahwa semua isolat dapat memfermentasi gula yang ditandai warna media kuning (*slant*) dan kuning (*butt*). Seluruh isolat tidak memproduksi H<sub>2</sub>S yang ditandai oleh tidak adanya endapan (Tabel 2). Berdasarkan Holt (1994), genus *Lactobacillus* dan *Pediococcus* tidak mampu memproduksi H<sub>2</sub>S, mampu memfermentasi karbohidrat seperti glukosa, laktosa, dan sukrosa. Berdasarkan uji gula-gula, isolat bakteri yang diperoleh memiliki kemampuan fermentasi gula berbeda-beda (Tabel 2). Isolat bakteri diduga termasuk ke dalam *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, dan *Pediococcus cerevisiae*. Berdasarkan Breed *et al.*, (1957), *L. plantarum* mampu memproduksi asam dari gula glukosa, fruktosa, maltosa, laktosa, mannitol, sorbitol, trehalosa sedangkan inulin tidak difermentasi. *L. delbrueckii* mampu memfermentasi glukosa, fruktosa, dan trehalosa. *P. cerevisiae* mampu memfermentasi glukosa, fruktosa, galaktosa dan maltosa, sedangkan mannitol dan inulin negatif. Berdasarkan penelitian Tanasupawat *et al.*, (1992), diperoleh hasil bakteri *L. plantarum* yang mampu memfermentasi fruktosa, galaktosa, glukosa, laktosa, dan trehalosa.

#### **Karakter fisiologis bakteri asam laktat**

Uji kemampuan hidup pada suhu berbeda terdapat 8 isolat bakteri yang hanya mampu hidup pada suhu 10°C dan 37°C, serta terdapat 2 isolat yang memiliki kemampuan hidup sampai suhu 45°C yaitu BLK 5 dan BLK 7 (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh isolat tersebut termasuk dalam golongan bakteri mesofilik. Menurut kajian Lestari *et al.* (2018), bakteri mesofil merupakan golongan bakteri yang mampu tumbuh pada suhu 10-45°C. Berdasarkan Holt *et al.*, (1994) *Lactobacillus* memiliki suhu optimum 30-40°C, sedangkan suhu optimum bagi pertumbuhan *Pediococcus* yaitu 25-40°C. Rahayu (2003) menyatakan kebanyakan strains *L. plantarum* mampu pada suhu tinggi yaitu suhu 45°C. *L. plantarum* dapat tumbuh pada suhu 45°C (Yang *et al.*, 2016). Berdasarkan kajian Vinderola *et al.*, (2019) beberapa genus *Pediococcus* mampu tumbuh pada suhu 45°C bahkan 50°C.

Uji kemampuan hidup pada pH berbeda diperoleh seluruh isolat dapat hidup pada pH 5, pH 7, dan pH 9 (Tabel 3) yang berarti seluruh isolat bakteri adalah bakteri alkali philes yang mampu tumbuh pada kadar pH tinggi. Menurut Sinaga *et al.*, (2022), bakteri alkaliphiles merupakan golongan bakteri yang mampu tumbuh pada pH > 8. *Lactobacillus* dan *Pediococcus* dapat tumbuh pada pH 3.5. Rahayu (2003), terdapat *Pediococcus* pada pH 4.2 dan pH 8.5. Berdasarkan kajian Hui *et al.*, (2012) *P. cerevisiae* tumbuh dengan pH 4,6-4,9 pada fermentasi kimchi. Berdasarkan kajian Yang *et al.*, (2016), *L. plantarum* mampu tumbuh dengan baik dari 3.5 sampai pH 7.

Uji kemampuan bakteri untuk hidup pada kadar NaCl berbeda menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu untuk hidup pada NaCl 4%, NaCl 6,5%, dan NaCl 18% (Tabel 3). Hal tersebut berarti seluruh isolat termasuk dalam golongan obligat halofilik karena mampu tumbuh pada kadar NaCl tinggi. Berdasarkan kajian Adawyah (2023), bakteri obligat halofilik memiliki karakteristik mampu tumbuh dengan baik pada kadar NaCl > 2%. Tanasupawat *et al.* (1992) mengkaji *L. plantarum* dari makanan fermentasi di Thailand menyatakan bahwa *L. plantarum* mampu hidup dengan baik pada NaCl 4% dan NaCl 6%. Menurut Suro (2016) *Lactobacillus* dan *Pediococcus* mampu hidup pada kadar NaCl 6,5% sampai NaCl 18%.

### Identifikasi bakteri asam laktat

Berdasarkan analisis dendrogram menggunakan similaritas *Simple Matching Coefficient* dan *Jaccard Coefficient* membentuk 3 klaster besar. Klaster A terdiri dari isolat BLK 5 bergabung menjadi satu kelompok dengan *L. delbrueckii* memiliki indeks similaritas pada *Simple Matching Coefficient* yaitu sebesar 91,9% dan *Jaccard Coefficient* sebesar 87%. Karakteristik antara BLK 5 memiliki kemiripan dengan *L. delbrueckii* yaitu pada karakter uji gula laktosa, mannitol, galaktosa, maltosa dan sorbitol yang menunjukkan hasil negatif. Klaster B terdiri dari isolat BLK 2 diduga sebagai *P. cerevisiae* dengan indeks similaritas pada *Simple Matching Coefficient* yaitu sebesar 91,9% dan *Jaccard Coefficient* sebesar 88%. Karakteristik yang dimiliki oleh isolat bakteri BLK 2 memiliki kemiripan dengan *P. cerevisiae* yaitu pada bentuk sel *coccus* sehingga membedakan dari

*Lactobacillus* yang memiliki bentuk sel basil. Berdasarkan uji biokimia, isolat BLK 2 dan *P. cerevisiae* memiliki hasil uji negatif pada mannitol dan sorbitol. Klaster C terdiri dari BLK 1, BLK 4, BLK 6, BLK 8, BLK 3, BLK 10, BLK 7, dan BLK 9 bergabung menjadi satu kelompok dengan *L. plantarum* dengan indeks similaritas pada *Simple Matching Coefficient* yaitu sebesar 94,6% dan *Jaccard Coefficient* sebesar 92,6%. Karakter yang dimiliki isolat memiliki kemiripan dengan *Lactobacillus* pada bentuk sel basil sehingga membedakannya dari *P. cerevisiae* yang memiliki bentuk sel *coccus*. Berdasarkan uji biokimia, isolat-isolat bakteri asam laktat memiliki kemiripan tinggi dengan *L. plantarum* pada uji gula laktosa, mannitol, galaktosa, maltosa, dan sorbitol yang menunjukkan hasil positif.

Berdasarkan kedua analisis tersebut (SSM dan SJ) dapat diketahui bahwa isolat bakteri asam laktat memiliki nilai persentase indeks similaritas berbeda diduga sebagai *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, dan *Pediococcus cerevisiae* dengan masing-masing indeks similaritas  $\geq 70\%$ . Indeks similaritas yang dihasilkan antar isolat sangat tinggi akan tetapi isolat-isolat bakteri sudah dapat terpisah menjadi 3 kelompok spesies bakteri berbeda. Hal ini dipengaruhi oleh jumlah dan karakter yang digunakan pada uji untuk analisis similaritas. Nilai indeks similaritas lebih tinggi berdasarkan analisis similaritas *Simple Matching Coefficient* dibandingkan dengan analisis similaritas *Jaccard Coefficient*. Hal ini sesuai dengan Dunn dan Everitt (2012) yang menjelaskan bahwa *Simple Matching Coefficient* memuat nilai positif dan negatif atau karakter yang ada dan tidak pada isolat, sedangkan *Jaccard Coefficient* mengabaikan sifat negatif atau tidak memperhitungkan karakter yang tidak ada oleh isolat.

Isolat hasil fermentasi kimchi sawi kampung ansabi diduga sebagai *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, dan *Pediococcus cerevisiae*. Genus *Pediococcus* juga diisolasi dari makanan fermentasi seperti asinan buah dan sayuran (Rahayu, 2003). *L. delbrueckii* diisolasi dari limbah sayuran kubis menghasilkan antimikroba sehingga makanan dapat bertahan lama dan baik untuk makanan fermentasi (Muhwakhid, 2014). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Ji *et al.*, (2013), terdapat lima strains

*L. plantarum* dari isolasi kimchi Korea. Berdasarkan kajian Jung et al., (2014) memperoleh bahwa *Lactobacillus* merupakan genus yang paling banyak ditemukan pada produk kimchi salah satunya *L. plantarum*.

## Kesimpulan

Penelitian identifikasi bakteri asam laktat dari makanan fermentasi kimchi sawi ansabi diperoleh 10 isolat diantaranya 8 isolat yaitu BLK 1, BLK 3, BLK 4, BLK 6, BLK 7, BLK 8, BLK 9 dan BLK 10 diduga adalah *Lactobacillus plantarum* dengan indeks similaritas *Simple Matching Coefficient* sebesar 94,6% dan *Jaccard Coefficient* sebesar 92,6%, 1 isolat yaitu BLK 5 diduga adalah *Lactobacillus delbrueckii* dengan indeks similaritas *Simple Matching Coefficient* sebesar 91,9% dan *Jaccard Coefficient* sebesar 87%, dan 1 isolat yaitu BLK 2 diduga adalah *Pediococcus cerevisiae* dengan indeks similaritas *Simple Matching Coefficient* sebesar 91,9% dan *Jaccard Coefficient* sebesar 88%.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Rahmawati, S.Si., M.Sc., dan Siti Ifadatin S.Si., M.Si., atas saran dalam penelitian dan proses penulisan artikel ini.

## Referensi

- Adawyah R. (2023). *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Jakarta (ID) : PT. Bumi Aksara.
- Amelia S, Lubis NDA, Balatif. (2019). *Mikroorganisme dan Bahan Pangan*. Pasuruan (ID): CV. Penerbit Qiara Media
- Anggraeni L, Lubis N, Junaedi EC. (2021). Pengaruh Konsentrasi Garam terhadap Produk Fermentasi Sayuran. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 3(6): 891-899. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i6.459>
- Azka ABF, Santriadi MT, Kholis MN. (2018). Pengaruh Konsentrasi Garam dan Lama Fermentasi terhadap Sifat Kimia dan Organoleptik Kimchi. *Agroindustrial Technology Journal*. 2(1): 91-97. DOI: <https://doi.org/10.21111/atj.v2i1.2818>
- Breed RS, EGD Murray, Nathan RS. (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition*, Baltimore, The Williams and Wilkins Company, USA: Waverly Press
- Chasanah E. (2018). Identifikasi Fenotip Bakteri Amilolitik dan Selulolitik Dari Isolat Bekantul dengan Metode Profile Matching Berdasarkan Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology [skripsi]. Malang (ID): Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Darmawati S, Sembiring L, Asmara W, Artama WT. (2011). Klasifikasi Numerik-Fenetik *Salmonella typhi* Asal Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta Berdasarkan Karakterisasi Fenotipik. *Biota*. 16(1): 128-132. DOI:<https://doi.org/10.24002/biota.v16i1.67>
- Dunn G, Everitt BS. (2012). *An Introduction to Mathematical Taxonomy*. Amerika Serikat: Dover Publications
- Effendi I. (2020). *Metode Identifikasi dan Klasifikasi Bakteri*. Pekanbaru (ID): Oceanum Pr.
- Goodfellow M, O'Donnell AG. (1993). *Handbook of New Bacterial Systematics*. London (US): Academic Pr.
- Hasanah BSN. (2015). *Hubungan Kekerabatan dalam Canna Berdasarkan Karakter Morfologi Di Kota Batu* [skripsi]. Malang (ID): Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Williams ST. (1994). *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*. USA: Lippincott William dan Wilkins.
- Hui YH, Evranuz EO, Lopez FNA, Fan L, Hansen AS, Flores MEJ, Rakin M, Schwan RF, Zhou W. (2012). *Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology Second Edition*. New York: CRC Press
- Ji Y, Kim H, Park H, Lee J, Lee H, Shin H, Kim B, Franz CMAP, Holzappel WH. (2013). Functionality and Safety of Lactic Bacterial Strains from Korean Kimchi. *Food Control*. 31. DOI: [10.1016/j.foodcont.2012.10.034](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.10.034)
- Jung JY, Lee SH, Jeon CO. (2014). Kimchi Microflora: History, Current Status and

- Perspectives for Industrial Kimchi Production. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98(6): 2385-2393. DOI: 10.1007/s00253-014-5513-1
- Khasbullah F, Mangiring W, Krisnarini K. (2020). Uji Vitamin C Mutu Organoleptik Kimchi Pakcoy (*Brassica rapa* Subsp. *Chinensis*) terhadap Pengaruh Konsentrasi Garam dan Lama Fermentasi. *Jurnal Wacana Pertanian*. 16(2): 47-55. DOI : <http://dx.doi.org/10.37694/jwp.v14i1.28>
- Laily IN, Utami R, Widowati E. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2(4): 179-184. URL: <https://www.jatp.ift.or.id/index.php/jatp/article/view/167/128>
- Lay BW. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta (ID): Kementerian Perdagangan Republik Indonesia.
- Lestari LA, Harmayani E, Utami T, Sari PM, Syara N. (2018). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Makanan di Bidang Gizi dan Kesehatan*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Pr.
- Megawati, Wardoyo ERP, Rafdinal. (2020). Etnobotani Tumbuhan Pangan Masyarakat Dayak Kanayant di Desa Babane Kecamatan Samalantan Kabupaten Bengkayang Kalimantan Barat. *Protobiont*. 9(2): 142-151. DOI: <http://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v9i2.45522>
- Muhwakhid, B. (2014). Pengaruh Jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) sebagai Aditif terhadap Kualitas Silase Limbah Kubis (*Brassica oleracea*). *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Hlm 138-143.
- Nur F, Hafsan H, Paramitasari. (2015). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berpotensi Probiotik dari Dangke Susu Sapi di Kabupaten Enrengkang. *Jurnal Biotek*. 3(1): 52-66. DOI: <https://doi.org/10.24252/jb.v3i1.1918>
- Nurhayati, Betty SLJ, Harsi DK, Widowati S. (2011). Identifikasi Fenotipik dan Genotipik Bakteri Asam Laktat Asal Fermentasi Spontan Pisang var. Agung Semeru (*Musa paradisiaca* formatypica). *Jurnal Ilmu Dasar*. 12(2): 210-225. URL: <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JID/article/download/69/46/>
- Permatasari I, Turnip M, Kurniatuhadi R. (2022). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat pada Durian Pekawai (*Durio kutejensis* (Hassk.) Becc.). *Agroprimatech*. 6(1): 7-16. DOI: <https://doi.org/10.34012/agroprimatech.v6i1.2987>
- Rahayu ES. (2003). Lactic Acid Bacteria in Fermented Foods of Indonesians Origin. *Agritech*. 23 (2). DOI: <https://doi.org/10.22146/agritech.13515>
- Rahayu ES, Utami T. (2019). *Probiotik dan Gut Microbiota serta Manfaatnya pada Kesehatan*. Yogyakarta (ID): PT Kanisius.
- Sasmita, Halim A, Sapriati AN, Kursia S. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Liur Basa (Limbah Sayur Bayam dan Sawi), *As-Syifaa*. 10(2). DOI: <https://doi.org/10.56711/jifa.v10i2.2339>
- Setiarto RHB. (2021). *Bioteknologi Bakteri Asam Laktat untuk Pengembangan Pangan Fungsional*. Bogor (ID): Guepedia.
- Sinaga J, Afifah AS, Susilowati PE, Oktaviani I, Husna R, Maghfiroh K, Tumanggor WRE, Mahmud A, Nasution NH, Budiatty WOS, Indirawati SM, Tasnim, Indah NNPS. (2022). *Higiene, Sanitasi, dan Keselamatan Kerja*. Medan (ID): Yayasan Kita Menulis.
- Singh G. (2004). *Plant Systematics: an Integrated Approach*. New Hampshire (US): Science Publishers Inc.
- Shin HK, Cho YM, Noh GM, Om AS. (2014). Cancer Preventive Potential of Kimchi Lactic Acid Bacteria (*Weissella cibaria*, *Lactobacillus plantarum*). *Journal of Cancer Prevention*. 19(4): 253-258. DOI: 10.15430/JCP.2014.19.4.253
- Surbakti FH, Hasanah U. (2019). Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Acar Ketimun (*Cucumis sativus* L.) sebagai Agensi Probiotik. *Jurnal Teknologi Pangan dan Kesehatan*. 1(1). DOI:<https://doi.org/10.36441/jtepakes.v1i1.182>
- Surono IS. (2016). *Probiotik, Mikrobiome dan Pangan Fungsional*. Yogyakarta (ID): Penerbit Deepublish.

- Syukur S. (2017). *Bioteknologi Dasar dan Bakteri Asam Laktat Antimikrobia*. Padang (ID): Universitas Andalas.
- Tanasupawat S, Ezaki T, Suzuki KI, Okada S, Komagata K, Kozaki M. (1992). Characterization and Identification of *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus plantarum* Strains from Fermented Foods in Thailand. *The Journal of General and Applied Microbiology*. 38(2). DOI: 10/2323/JGAM.38.121
- Utama CS, Zuprizal, Hanim C, Wihandoyo. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 7(1): 1-6. DOI: 10.17728/JATP.2155
- Vinderola G, Ouwehand A, Salminen S, Wright AV. (2019). *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects Fifth Edition*. New York: CRC Press.
- Wardani KA, Kurniawan, Anita, Sakati NS, Rafika, Sulami N, Nurdin, Syahrir M, Mursalim, Kanan M. (2022). *Teori Mikrobiologi*. Aceh (ID): Yayasan Penerbit Muhammad Zaini.
- Wood, BJB, Holzappel WH. (1995). *The Genera of Lactic Acid Bacteria volume 2*. Springer Science Business Media, New York.
- Yang J, Tan H, Cai Y. (2016). Characteristic of Lactic Acid Bacteria Isolates and their Effect on Silage Fermentation of Fruit Residues. *Journal of Dairy Science*. 99(7). DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10952>
- Yolanda B, Meitiniarti VI. (2017). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Kimchi dan Kemampuannya Menghasilkan Senyawa Anti Bakteri. *Scripta Biologica*. 4(3): 165-169. DOI: <https://doi.org/10.20884/1.sb.2017.4.3.447>