

## Isolasi Dan Identifikasi Fenotipik Bakteri Asam Laktat (BAL) *Indigenous* Asal Air Susu Ibu (ASI)

*Isolation and Identification of Phenotypic Lactic Acid Bacteria (LAB) Indigenous From Breast Milk (ASI)*

Nosa Septiana Anindita<sup>1)</sup>, Dhiah Novalina<sup>2)</sup> dan Andri Nur Sholihah<sup>3)</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

<sup>2</sup> Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

<sup>3</sup> Program Studi D3 Kebidanan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta

\*Korespondensi dengan penulis (anindita.nosa@yahoo.com@yahoo.com)

Artikel ini dikirim pada tanggal 16 November 2018 dan dinyatakan diterima tanggal 31 Desember 2021. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui [www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/tekpangan](http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/tekpangan). eISSN 2597-9892. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

### Abstrak

Saat ini pemanfaatan pangan probiotik berkembang pesat terutama di Indonesia seiring dengan berkembangnya teknologi fermentasi. Sebagian besar isolat probiotik berasal dari luar negeri yang berdampak pada tingginya harga produk pangan probiotik. Air susu ibu merupakan salah satu sumber bakteri asam laktat (BAL), yang berfungsi untuk menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan dan meningkatkan sistem kekebalan. Bakteri asam laktat sebagai probiotik berpeluang hidup pada saluran pencernaan jika berasal dari tubuh manusia. Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian sebagai upaya untuk mendapatkan isolat lokal BAL indigenous asal ASI. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat lokal BAL asal ASI melalui identifikasi fenotipik. Identifikasi fenotipik meliputi morfologi koloni dan sel, Gram, uji katalase, motilitas dan pembentukan spora serta identifikasi biokimia meliputi uji kemampuan tumbuh pada berbagai suhu pertumbuhan, pH rendah, kadar garam dan pembentukan CO<sub>2</sub> dari glukosa. Berdasarkan hasil identifikasi biokimia, dari 38 isolat BAL yang telah berhasil diidentifikasi secara biokimia terdiri atas beberapa genus BAL yaitu *Lactobacillus* (9 isolat), *Pediococcus* (3 isolat) dan *Weisella* (20 isolat).

Kata kunci: ASI, Bakteri Asam Laktat, Identifikasi Fenotipik dan Biokimia

### Abstract

*Currently the use of probiotic food is growing rapidly, especially in Indonesia along with the development of fermentation technology. Most of the probiotic isolates come from abroad which has an impact on the high price of probiotic food products. Mother's milk is one source of lactic acid bacteria (LAB), which serves to maintain the balance of the digestive tract microflora and enhance the immune system. Lactic acid bacteria as probiotics have the chance to live in the digestive tract if they come from the human body. Based on this matter, it is necessary to conduct research as an effort to obtain indigenous BAL isolates from ASI. This study aims to obtain local BAL isolates from ASI through phenotypic identification. Phenotypic identification includes the morphology of colonies and cells, Gram, catalase test, motility and spore formation and biochemical identification including test of the ability to grow at various growth temperatures, low pH, salt content and formation of CO<sub>2</sub> from glucose. Based on biochemical identification results, out of 38 BAL isolates that were successfully identified biochemically consisted of several genera of BAL namely *Lactobacillus* (9 isolates), *Pediococcus* (3 isolates) and *Weisella* (20 isolates).*

Keywords : *Mother's Milk, Lactic Acid Bacteria, Phenotypic and Biochemical Identification*

### Pendahuluan

Konsumsi makanan dan minuman kesehatan saat ini mengalami peningkatan. Hal tersebut disebabkan karena meningkatnya kesadaran mengenai kesehatan saluran pencernaan dan manfaatnya bagi tubuh secara keseluruhan, serta perhatian yang semakin tinggi terhadap nutrisi yang diperoleh dari bahan makanan atau minuman yang dikonsumsi. Masyarakat cenderung lebih selektif dalam memilih dan menentukan jenis makanan dan minuman yang akan dikonsumsi seiring dengan pengetahuan tentang gizi yang meningkat. Salah satu jenis produk makanan dan minuman kesehatan yang berkembang pesat adalah bahan pangan probiotik.

Air susu ibu (ASI) merupakan salah satu sumber bakteri asam laktat, yang berfungsi untuk menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan dan meningkatkan sistem kekebalan. BAL asal ASI memiliki viabilitas tinggi pada saluran pencernaan dan lebih adaptif jika berasal dari tubuh manusia. Penelitian ini merupakan salah satu upaya dalam menyediakan isolat lokal BAL indigenous

asal ASI. Sehingga perlu dilakukan isolasi BAL asal ASI dilakukan untuk memperoleh isolat lokal BAL dan memenuhi syarat *Generally Recognized as Safe* (GRAS) sebagai komponen pangan fungsional. Potensi lokal BAL asal ASI ini diharapkan mempunyai kemampuan adaptasi tinggi terhadap kondisi lokal dan terjamin ketersediaannya.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat lokal BAL asal ASI melalui identifikasi fenotipik dan genotipik. Hipotesis dari penelitian ini bahwa BAL dapat diisolasi dari ASI dan merupakan kandidat probiotik potensial yang akan dibuktikan mulai identifikasi baik fenotipik maupun genotipik diikuti dengan pengujian secara *in vitro*.

Salminen *et al.* (2004) menyatakan bahwa ASI mengandung banyak oligosakarida (FOS) yaitu merupakan suatu karbohidrat yang tidak dicerna dan merupakan makanan bagi bakteri menguntungkan. Boehm dan Stahl (2007) menjelaskan terdapat hubungan erat antara perkembangan flora saluran pencernaan setelah kelahiran dengan konsumsi ASI yang mengandung oligosakarida. Menurut Martin *et al.* (2009), pada awal kelahiran, ketika bayi masih mengkonsumsi ASI mikrobia saluran pencernaan yang mendominasi adalah *Bifidobacteria*. Seiring dengan bertambahnya usia, mikrobia yang mendominasi adalah *Firmicutes* (termasuk genera *Clostridia* dan bakteri asam laktat) dan *Bacteroides*, sedangkan *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* dan *Verrucomicrobia* terdapat dalam jumlah yang lebih rendah.

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang penting dan digunakan di seluruh dunia dalam jumlah besar untuk industri fermentasi pangan. Kontribusi bakteri tersebut pada proses fermentasi terutama meliputi pembentukan asam laktat dari sumber karbon tersedia menghasilkan pengasaman secara cepat pada bahan baku pangan, yang merupakan parameter kritis dalam pengawetan produk. Selain kemampuan dalam pembentukan asam laktat, BAL juga memiliki kemampuan untuk memberikan kontribusi terhadap karakteristik produk seperti flavor, tekstur, dan nilai nutrisi (Hugenholtz *et al.*, 2010).

Bakteri Asam Laktat dan *Bifidobacteria* termasuk dalam kelompok bakteri baik bagi manusia dan umumnya memenuhi status Gras (*Generally Recognized as Safe*) yaitu aman bagi manusia. Kelompok bakteri ini tidak membusukkan protein dan dapat memetabolisme berbagai jenis karbohidrat secara fermentative menjadi asam laktat (Surono, 2004). Pada mulanya BAL terdiri dari empat genus, yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus*. Namun, klasifikasi terbaru menggolongkan BAL ke dalam 12 genus, yaitu *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragagenococcus*, *Vagococcus* dan *Weissella* (Ray and Bhunia, 2008).

Menurut Boehm dan Moro (2008) dalam perkembangannya, asupan makanan bayi berperan penting terhadap mikrobia saluran pencernaannya. Selama masa menyusui, komposisi mikrobia saluran pencernaan berkembang dalam jangka waktu yang singkat dan didominasi oleh *Bifidobacteria*. Bayi yang mengkonsumsi ASI dengan perkiraan sebanyak 800 ml/hari akan mengkonsumsi bakteri komensal sekitar  $10^5$  sampai  $10^7$  koloni. Komposisi bakteri pada feses bayi merefleksikan komposisi bakteri pada ASI.

Dipertegas dengan penelitian Djide (2008) bahwa dalam air susu ibu laktasi ditemukan bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik, yang berpotensi untuk menurunkan kolesterol. Penelitian yang sama juga telah dilakukan oleh Nuraida *et al.* (2007) yang telah mengisolasi beberapa BAL dari ASI. Dari 31 sampel ASI, diperoleh 87 isolat BAL. Beberapa diantaranya menunjukkan ketahanan yang baik terhadap asam dan atau garam empedu. Ketahanan terhadap asam dan garam empedu merupakan prasyarat suatu mikroorganisme dapat digunakan sebagai probiotik karena mengindikasikan kemampuannya bertahan hidup dalam saluran pencernaan.

Hasil penelitian lain juga ditunjukkan oleh Nuraida *et al.* (2011) yang telah melakukan evaluasi secara *in vitro* terhadap kemampuan isolat BAL asal ASI untuk mengasimilasi kolesterol dan mendejonjugasi garam empedu. Hasil pengujian menunjukkan bahwa *Pediococcus pentosaceus* 1-A38 merupakan isolat yang paling potensial untuk digunakan pada pengembangan produk probiotik dengan sifat fungsional spesifik untuk menurunkan kolesterol dengan mekanisme asimilasi dan dekonjugasi garam empedu. Penelitian yang sama juga dilakukan oleh Serrano-Nino *et al.* (2016) yang melakukan isolasi BAL dari ASI yang berumur 4 bulan pasca kelahiran. Isolat BAL terpilih menunjukkan *Lactobacillus fermentum* JCM3 memiliki kemampuan sebagai probiotik.

### **Materi dan Metode**

Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium dan lapangan yang mencakup beberapa aspek penelitian, diantaranya adalah: (1) Pengambilan sampel ASI di salah satu rumah sakit di Yogyakarta, (2) Isolasi BAL dari kultur ASI, (3) Isolat BAL selanjutnya diidentifikasi fenotipik berbasis morfologi

dan biokimia. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Pengolahan Susu dan Telur, Fakultas Peternakan, UGM mulai bulan April hingga November 2018.

### Materi

Bahan dan alat yang digunakan penelitian sampel ASI yang digunakan adalah berumur antara 7 sampai 14 hari pasca kelahiran dengan usia ibu 24 sampai 28 tahun yang berasal dari salah satu rumah sakit di wilayah Yogyakarta. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *de Mann, Rogosa, and Sharpe* (MRS) (Merck, Germany; 52,2 g/l) dengan pH 6,2. Medium MRS untuk bakteri anaerob disuplementasi dengan *L-cystein* HCl 0,5g/l. Medium MRS digunakan dalam keadaan cair maupun padat. Medium padat diperoleh dengan penambahan agar teknis 1,6%. Bahan untuk identifikasi isolat secara seluler meliputi alkohol 70%, akuades, hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 3%, dan pewarna Gram (kristal violet, iodine, aseton, dan safrinin).

### Metode

#### Kultur ASI dan Isolasi bakteri

Bakteri kandidat probiotik diisolasi dari ASI berumur 30 hari. Sampel diambil segera setelah pemerahan, disimpan dalam *cooler box* bersuhu antara 4 s.d. 10°C selama transportasi ke laboratorium. Metode isolasi terbagi atas dua perlakuan, yaitu secara aerob dan anaerob menurut metode Hadadji *et al.* (2005) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 100 µl suspensi homogenat dari masing-masing seri pengenceran kemudian diinokulasikan secara duplo pada medium padat MRS untuk perlakuan aerob dan MRS yang ditambahkan 0,05% *L-cysteine* (MRS-Cys) dan CaCO<sub>3</sub> 1 % untuk perlakuan anaerob.

#### Identifikasi fenotipik berbasis morfologi dan biokimia

Koloni BAL yang tumbuh pada media dipilih masing-masing sebanyak 10 koloni untuk ditumbuhkan dalam tabung yang telah ditambahkan medium cair MRS dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari. Pemurnian dilakukan dengan menggoreskan kultur sel pada medium MRS agar dengan suplementasi *bile salt* hingga diperoleh isolat murni. Masing-masing isolat hasil pemurnian kemudian diidentifikasi pada tingkat seluler meliputi pewarnaan Gram, uji katalase, uji motilitas, pembentukan spora sedangkan identifikasi biokimia meliputi uji kemampuan tumbuh pada suhu 10, 37 dan 45°C, pH rendah (4,4 dan 9,6), kadar garam (6,5 dan 18%), pembentukan CO<sub>2</sub> dari glukosa 10 g/l dan pembentukan NH<sub>3</sub> (Axxelson, 2002).

### Hasil dan Pembahasan

#### Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Kultur air susu ibu (ASI) yang berumur 5 hari sampai 2 bulan sebanyak 8 sampel menggunakan media MRS *broth* (MRSB), yang kemudian diisolasi didapatkan hasil 49 isolat bakteri asam laktat (BAL). Konfirmasi dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media pertumbuhan, *deMan Rogosa Sharpe* (MRS) Agar disuplementasi dengan *L-cysteine* HCl 0,05%, CaCO<sub>3</sub> dan 0,3% *bile salt*. *L-cysteine* HCl 0,05% ditambahkan untuk membuat kondisi anaerob. *L-cysteine* ditambahkan dalam media pertumbuhan untuk menurunkan potensial redoks dan memberikan kondisi anaerob. MRS merupakan media non-selektif yang memungkinkan bakteri selain BAL juga dapat tumbuh. Ray and Bhunia (2008) dan Klare *et al.* (2005) melaporkan bahwa MRS yang diperkaya dengan *L-cysteine* dapat mengoptimalkan pertumbuhan *Bifidobacteria* maupun *Lactobacillus*.

Sifat basa yang dimiliki oleh CaCO<sub>3</sub> akan menetralkan dan melokalisasi produksi asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Penampakan koloni yang dibentuk oleh bakteri asam laktat berupa koloni bundar berwarna putih dengan bentuk elips dan bersifat anaerob fakultatif dengan zona bening yang terbentuk disekeliling koloni. Secara mikroskopik morfologi sel bakteri berbentuk batang dan kokus, bentuk sel kokus mendominasi hampir 50% lebih dari isolat BAL yang berhasil tumbuh. Dari hasil isolasi, diperoleh 49 isolat BAL yang selanjutnya dilakukan karakterisasi fenotipnya.

#### Identifikasi Fenotipik

Identifikasi fenotipik, menunjukkan sebanyak 33 isolat memiliki karakteristik Gram positif, katalase negatif, non motil dan tidak membentuk spora. Hasil penelitian mengindikasikan isolat yang diperoleh merupakan anggota kelompok BAL. Sedangkan 16 isolat lainnya memiliki karakteristik Gram negatif dan katalase positif. Sehingga keenam isolat tersebut diyakini bukan BAL, dan tidak dilanjutkan untuk pengujian selanjutnya. Hasil identifikasi fenotipik dan biokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Identifikasi fenotipik dan biokimia

Kode Isolat	Cat Gram	Bentuk koloni	Bentuk sel	Warna Koloni	Katalase	Motilitas	Spora	Suhu (°C)			pH		Garam (%)		CO <sub>2</sub> dari glukosa
								10	37	45	4,4	9,6	6,5	18	
AS1	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS2	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS3	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS4	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS5	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS6	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS7	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS8	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS9	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS10	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS11	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS12	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS13	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
AS14	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS15	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS16	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS17	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS18	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS19	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS20	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS21	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS22	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS23	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS24	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS25	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS26	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS27	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS28	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS29	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS30	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS31	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS32	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS33	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS34	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS35	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS36	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS37	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS38	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS39	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS40	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS41	+	Bulat	Batang	Putih susu	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AS42	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS43	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS44	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS45	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
AS46	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS47	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										
AS48	+	Bulat	Kokus	Putih susu	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
AS49	-	Bulat	Kokus	Putih susu	+										

Pengujian selanjutnya, dari 49 isolat berdasarkan uji dasar yaitu Cat Gram dan Katalase, diperoleh 33 isolat terseleksi sebagai BAL. Kleerebezem dan Hugenholtz (2003) serta Salminen *et al.* (2004) sebelumnya telah melaporkan bahwa BAL merupakan bakteri Gram positif, non-motil, tidak membentuk spora, katalase negatif, berbentuk batang atau kokus, tahan terhadap kondisi asam, fakultatif anaerob dan memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat sebagai produk utama.

Salah satu karakteristik penting yang digunakan dalam identifikasi BAL yaitu fermentasi glukosa. Berdasarkan proses tersebut BAL dapat dibedakan menjadi dua kelompok besar yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Kelompok BAL yang bersifat homofermentatif akan mengkonversi glukosa menghasilkan produk utama yaitu asam laktat, sedangkan kelompok heterofermentatif akan memfermentasi glukosa menjadi asam laktat, asam asetat, etanol, dan CO<sub>2</sub> (Margolles *et al.*, 2009). Sebanyak 21 isolat, memiliki sifat menghasilkan CO<sub>2</sub> dari glukosa, sehingga isolat-isolat tersebut menggunakan jalur heterofermentatif dalam mengkonversi glukosa. Menurut Axelsson (2002), genus *Oenococcus*, *Leuconostoc*, dan *Weisella* merupakan genus BAL yang bersifat heterofermentatif, sedangkan genus *Lactobacillus* dan *Pediococcus* ada yang bersifat homofermentatif maupun heterofermentatif.

Berdasarkan Tabel 1, isolat ASI yang diidentifikasi hampir memiliki ciri-ciri yang sama namun terdapat beberapa perbedaan isolat berdasarkan uji biokimia terutama pada uji katalase dan oksidase. Sebanyak 33 isolat merupakan bakteri katalase negatif (-) karena tidak ada gelembung gas dan tidak memiliki enzim katalase dan 16 isolat lainnya bersifat katalase positif (+) karena terbentuknya gelembung gelembung gas dan memiliki enzim katalase. Bakteri tersebut menjadi oksidatif karena bakteri mengubah protein dengan bantuan oksigen menjadi asam piruvat sehingga bakteri tersebut memerlukan oksigen untuk melakukan metabolisme dan bakteri ini termasuk bakteri aerob.

Selanjutnya untuk 16 isolat dengan katalase positif tidak dilanjutkan dalam proses identifikasi karena diduga kuat bukan merupakan kelompok BAL. Hasil ini sesuai dengan karakteristik umum dari BAL yaitu bersifat Gram positif dan tidak membentuk spora, hampir semua strain tidak mampu menghasilkan enzim katalase (uji katalase negatif), kebanyakan isolat bersifat fakultatif anaerob serta mampu memfermentasikan laktosa dengan asam laktat sebagai hasil utama (Widodo, 2003).

Semua isolat bakteri tidak motil dikarenakan bakteri tidak memiliki alat gerak flagella. Isolat bakteri tidak menunjukkan motilitas dikarenakan tidak adanya penyebaran pertumbuhan di media SIM dan Oksidase/Fermentasi menunjukkan positif untuk oksidase dan negatif untuk fermentasi karena tidak ada perubahan pada media O/F yang diberi ataupun yang tidak diberi parafin cair. Berdasarkan identifikasi biokimia tersebut diduga isolat yang ditemukan merupakan jenis isolat yang mendekati genus *Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp., dan genus *Weisella* sp.

Pemilihan ini berdasarkan Buchanan and Gibbon, (1974) dalam *Bergey's manual of determinative bacteriology* yang menyatakan bahwa genus *Lactobacillus* mempunyai sifat katalase negatif dan Gram-positif dengan bentuk morfologi basil atau coccobasil. Isolat BAL memiliki kemampuan pertumbuhan pada suhu berbeda yaitu 10, 37 dan 45°C (Tabel 1). Menurut Axelsson (2002), beberapa genus *Lactobacillus* dan *Pediococcus* ada yang mampu tumbuh pada suhu 10, 37 dan 45°C dan beberapa genus tersebut tidak mampu tumbuh tergantung pada spesies begitu juga dengan genus *Weisella*, tergantung dengan spesiesnya.

Selain kemampuan tumbuh pada suhu berbeda, kemampuan tumbuh isolat pada kadar garam 6,5 dan 18% juga digunakan sebagai dasar klasifikasi dalam BAL. Semua isolat memiliki kemampuan tumbuh pada kadar garam 6,5 dan tidak tumbuh pada kadar garam 18%. Menurut Axelsson (2002), genus BAL yang mampu tumbuh pada kadar garam 6,5% diantaranya *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus* dan *Weisella*, sedangkan genus BAL yang mampu tumbuh pada kadar garam 18% yaitu *Tetragenococcus*. Beberapa *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* dan *Pediococcus* ada yang mampu dan tidak mampu tumbuh pada kadar garam 6,5% tergantung dari spesies.

Kemampuan tumbuh pada kondisi asam (pH 4,4) dan basa (pH 9,6) merupakan salah satu dasar klasifikasi genus BAL lainnya. Berdasarkan Tabel 1, 33 isolat mampu tumbuh pada kondisi asam (4,4) dan tidak tumbuh pada kondisi basa (9,6). Menurut Axelsson (2002), genus *Pediococcus* memiliki kemampuan tumbuh pada kondisi asam, genus *Enterococcus* mampu tumbuh baik pada kondisi asam maupun basa. *Aerococcus* dan *Tetragenococcus* mampu tumbuh pada kondisi basa, sedangkan beberapa *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Vagococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* dan *Weisella* ada yang mampu tumbuh pada kondisi asam dan ada yang tidak tergantung dari spesies.

Berdasarkan hasil identifikasi biokimia tersebut, dari 33 isolat BAL yang telah berhasil diidentifikasi secara biokimia terdiri atas beberapa genus BAL yaitu *Lactobacillus* (9 isolat), *Pediococcus* (3 isolat) dan *Weisella* (21 isolat). Identifikasi secara genotipik selanjutnya akan dilakukan untuk memperkuat proses identifikasi isolat hingga ke tingkat spesies.

### Kesimpulan

Bakteri Asam Laktat telah berhasil diisolasi dari ASI dan telah teridentifikasi secara fenotipik dan biokimia. Hasil identifikasi menunjukkan dari 33 isolat BAL yang telah berhasil diisolasi terdiri atas beberapa genus BAL yaitu *Lactobacillus* (9 isolat), *Pediococcus* (3 isolat) dan *Weisella* (21 isolat).

### Daftar Pustaka

- Axelsson, L. 2002. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology, pp. 1-67. In S. Salminen, A. von Wright, and A. Ouwehand (Eds.) Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 3<sup>rd</sup> Edition, New York: Marcel Dekker, Inc.
- Boehm, G and B. Stahl. 2007. Oligosaccharides from Milk. *J. Nutr.*, 137: 847-849.
- Boehm, G and G. Moro. 2008. Structural and Functional Aspects of Prebiotics Used in Infant Nutrition. The Journal of Nutrition Influence of Diet on Infection and Allergy in Infants. *J. Nutr.*, 138: 1818–1828.

- Buchanan, R.E dan N.E. Gibbons. 1974. "*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th edition*". The William & Wilkin Company/Baltimore. USA
- Djide, M. N. dan E. Wahyudin. 2008. Isolasi bakteri asam laktat dari air susu ibu dan potensinya dalam penurunan kadar kolesterol secara in vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol 12 No 3.
- Hadadji, M., R. Benama., N. Saidi., D.E. Henni and M. Kihal. 2005. Identification of cultivable *Bifidobacterium* species isolated from breast-fed infants feces in West-Algeria. *African Journal of Biotechnology*. 4(5): 422-430.
- Hughenoltz, J., W. Sybesma, M.N. Groot, W. Wisselink, V. Ladero, K. Burgess, D. van Sinderen, J.C. Piard, G. Eggink, E.J. Smid, G. Savoy, F. Sesma, T. Jansen, P. Hols, and M. Kleerebezem. 2010. Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of nutraceuticals. *Antonie van Leeuwenhoek* 82: 217-235
- Klare, I., C. Konstabel, S. Muller-Bertling, R.Reissbrodt, G. Huys, M. Vancanneyt, J. Swings, H. Goossens and W. Witte. 2005. Evaluation of new broth media for microdilution antibiotic susceptibility testing of *Lactobacilli*, *Pediococci*, *Lactococci*, and *Bifidobacteria*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71 (12): 8982-8986.
- Kleerebezem, M and J. Hugenholtz. 2003. Metabolic Pathway Engineering in Lactic Acid Bacteria. *Curr. Opin Biotechnol.*, 14 (2): 232-237.
- Margolles, A., B. Mayo and P. Ruas-Madiedo. 2009. Screening, Identification, and Characterization of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Strains, pp 4–24. In Y.K. Lee and S. Salminen (Eds.) *Handbook of Probiotics and Prebiotics 2<sup>nd</sup> Edition*. Hoboken: John Wiley & Sons Inc.
- Martin, R., E. Jimenez., H. Heilig., L. Fernandez., M.L. Marin., E.G. Zoetendal and J.M. Rodriguez. 2009. Isolation of *Bifidobacteria* from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by pcr-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75 (4): 965-969.
- Nuraida, L., Susanti and A.W Hartanti. 2007. Lactic acid bacteria and Bifidobacteria profile of breast milk and their potency as probiotics. 10<sup>th</sup> ASEAN Food Conference. Food for Mankind-Contribution of Science and Technology. 21-23 August. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Nuraida, L., Winarti, S., Hana, dan Prangdimurti, E. 2011. Evaluasi in vitro terhadap kemampuan bakteri asam laktat asal air susu ibu untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongugasi garam empedu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol XXII No. 1.
- Ray, B and A. Bhunia, 2008. *Fundamental of Food Microbiology Fourth ed*. CRC Press. London, New York.
- Salminen, S., A. Von Wright dan A. Ouwehand. 2004. *Lactic Acid Bacteria*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Serrano-Nino J.C., J.R. Solis-Pacheco., J.A. Gutierrez-Padilla., A. Cobian-Garcia., A. Cavazos-Garduno., O. Gonzalez-Reynoso and B.R. Aguilar-Uscanga B.R. 2016. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Human Milk with Potential Probiotic Role. *Journal of Food and Nutrition Research*. 4(3): 170-177.
- Surono, I.S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). TRICK. Jakarta. p 31- 32
- Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Edisi 1. Cetakan 1. Penerbit Lacticia Press. Yogyakarta.