

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROBA PADA SAMPEL MINUMAN YOGHURT DRINK DI ALUN-ALUN SITUBONDO

Ahmad Taufikur Rahman¹⁾, Nurul Avidhah Elhany^{2*)}, Muhammad Thoifur Ibnu Fajar³⁾

^{1,2,3} Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Sains dan Teknologi

Universitas Abdurachman Saleh Situbondo

*Email : nurul_avidhah@unars.ac.id

Abstrak

Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah, yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia. Selain harus bergizi, pangan juga harus bebas dari bahan-bahan berbahaya berupa cemaran kimia, mikroba patogen dan bahan lainnya. Mikroba dapat mencemari pangan melalui air, debu, udara, tanah, alat-alat pengolahan makanan dan sekresi dari usus manusia atau hewan. Yoghurt merupakan hasil fermentasi susu dengan bantuan bakteri asam laktat. Produk ini banyak dijumpai di masyarakat karena besarnya manfaat dan nutrisi yang terkandung di dalamnya. Untuk mengetahui kandungan mikroba baik yang bermanfaat maupun tidak, maka harus dilakukan uji mikrobiologi pada sampel yoghurt drink yang dijual bebas di masyarakat. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode cawan tuang pada media MRSA. Isolasi bakteri dilakukan dengan cara mengencerkan sampel yoghurt sampai pengenceran 10^{-6} . Sampel kemudian dituang 1 ml ke dalam cawan petri yang berisi media MRSA. Kemudian dilakukan inkubasi selama ± 48 jam pada suhu 36°C . Hasil isolasi bakteri kemudian dihitung dan diidentifikasi dengan cara mengamati morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada media MRSA kemudian dilanjutkan dengan uji pewarnaan gram dan pengamatan karakteristik mikroskopik menggunakan mikroskop. Selain itu, juga dilakukan uji motilitas dan biokimia bakteri (uji katalase, uji sitrat, uji nitrat, uji H_2S , Uji MR, Uji VP, Uji Hidrolisi Pati, Uji Urea dan Uji Hemolisis). Hasil identifikasi mikroba pada sampel yoghurt drink di alun-alun Situbondo adalah bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus sp.* Kedua bakteri ini adalah bakteri asam laktat yang berperan dalam proses fermentasi dan tidak bersifat patogen bagi manusia.

Kata kunci: Isolasi, Identifikasi, Mikroba, Yoghurt Drink, Situbondo

Abstract

Food is everything that comes from biological sources and water, both processed and unprocessed, which is intended as food or drink for human consumption. In addition to being nutritious, food must also be free from hazardous materials in the form of chemical contaminants, pathogenic microbes and other materials. Microbes can contaminate food through water, dust, air, soil, food processing equipment and secretions from the intestines of humans or animals. Yoghurt is the result of milk fermentation with the help of lactic acid bacteria. This product is widely found in the community because of the benefits and nutrients contained in it. To find out the microbial content, both beneficial and not, microbiological tests must be carried out on yogurt drink samples that are sold freely in the community. Bacterial isolation is carried out by the pour cup method on MRSA media. Bacterial isolation is carried out by diluting the yogurt sample to a dilution of 10^{-6} . The sample was then poured 1 ml into a Petri dish containing MRSA media. Then incubation was carried out for 48 hours at a temperature of 36°C . The results of bacterial isolation were then counted and identified by observing the morphology of bacterial colonies that grew on

MRSA media then continued with the gram staining test and observation of microscopic characteristics using a microscope. In addition, motility and biochemical tests of bacteria were also carried out (catalase test, citrate test, nitrate test, H₂S test, MR test, VP test, starch hydrolysis test, Urea test and He test). The results of microbial identification in yogurt drink samples in Situbondo square are *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus* sp. Both of these bacteria are lactic acid bacteria that play a role in the fermentation process and are not pathogenic to humans.

Keywords: *Isolation, Identification, Microbes, Youghurt Drink, Situbondo*

PENDAHULUAN

Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah, yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, atau pembuatan makanan atau minuman (UU RI No 7 Tahun 1996). Selain harus bergizi, pangan juga harus bebas dari bahan-bahan berbahaya berupa cemaran kimia, mikroba patogen dan bahan lainnya. Mikroba dapat mencemari pangan melalui air, debu, udara, tanah, alat-alat pengolahan makanan dan sekresi dari usus manusia atau hewan.

Beberapa jenis mikroba umum yang dijumpai pada pangan yaitu bakteri, kapang dan khamir atau yeast. Mikroba juga dibagi 2 berdasarkan fungsinya, yaitu mikroba yang menguntungkan dan merugikan. Bakteri dan khamir yang menguntungkan dan non patogen biasanya dimanfaatkan untuk membuat produk pangan lain yaitu produk pangan fermentasi. Produk pangan fermentasi adalah produk pangan yang diperoleh dengan bantuan dan penambahan mikroba sehingga menjadi suatu produk yang berbeda dengan bahan bakunya. Contoh dari produk pangan ini adalah yoghurt.

Yoghurt merupakan hasil fermentasi susu dengan bantuan bakteri asam laktat. Yoghurt dikenal memiliki manfaat bagi Kesehatan tubuh terutama bagi sistem pencernaan, diantaranya bermanfaat bagi penderita intoleran laktosa yang merupakan gejala malabsorpsi laktosa yang banyak dialami oleh masyarakat. Yoghurt juga mampu menurunkan kolestrol darah, menjaga Kesehatan lambung dan mencegah kanker saluran pencernaan. Berbagai peranan tersebut terutama karena adanya bakteri yang digunakan dalam proses fermentasi yoghurt. Pada yoghurt, kandungan gula akan diubah menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat secara anaerob. Bakteri-bakteri yang biasanya terdapat dalam yoghurt antara lain *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *Streptococcus thermophilus*, *L. acidophilus* dan *Bifidobacterium*.

Oleh karena itu, untuk mengetahui kandungan mikroba baik yang bermanfaat maupun tidak, maka harus dilakukan uji mikrobiologi pada sampel pangan. Pada penelitian kali ini akan dilakukan pengujian secara mikrobiologi pada sampel produk pangan yaitu yoghurt. Sampel tersebut akan dianalisis terkait jenis dan kuantifikasi bakteri yang terkandung di dalamnya.

METODE PENELITIAN

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode cawan tuang pada media de Man Rogosa Sharp Agar (MRSA). Media MRSA merupakan media yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat (Goktope, et al. 2005). Isolasi bakteri dilakukan dengan cara mengencerkan sampel yoghurt sampai pengenceran 10^{-6} . Sampel kemudian dituang 1 ml ke dalam cawan petri yang berisi media MRSA. Kemudian dilakukan inkubasi selama $\pm$ 48 jam pada suhu 36°C . Hasil isolasi bakteri kemudian dihitung dan diidentifikasi dengan cara mengamati morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada media MRSA kemudian dilanjutkan dengan uji pewarnaan gram dan pengamatan karakteristik mikroskopik menggunakan mikroskop (Elhany et al. 2022). Selain itu, juga dilakukan uji motilitas dan biokimia bakteri (uji katalase, uji sitrat, uji nitrat, uji H₂S, Uji MR, Uji VP, Uji Hidrolisi Pati, Uji Urea dan Uji Hemolisis). Identifikasi bakteri dilakukan menggunakan buku Bergey's Manual of Determinative Bacteria dan Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria (3rd Ed) (Elhany, 2023).

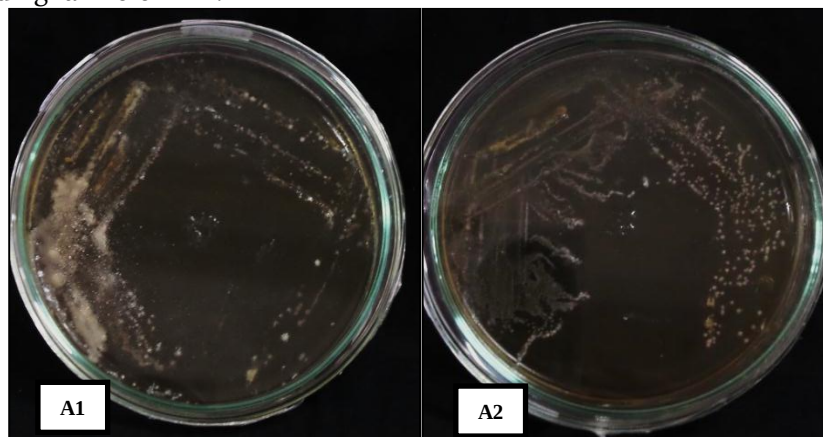
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh perhitungan TPC seperti yang ditunjukkan pada tabel 1. Total mikroba yang terdapat dalam sampel yoghurt adalah 3.89 log cfu/ml pada pengenceran 10^{-1} , 5.42 log cfu/ml pada pengenceran 10^{-3} dan 8.24 log cfu/ml pada pengenceran 10^{-6} . Dari hasil TPC diperoleh dua jenis koloni (A1 dan A2) yang selanjutnya masing-masing dimurnikan pada media MRSA dengan metode streak plate untuk dapat diamati karakter mikroskopiknya.

Tabel 1. Data Jumlah Sel Mikroba Pada Sampel Yoghurt Dengan Metode TPC

Pengenceran	Jumlah Sel (cfu/ml)	Log Jumlah Sel (cfu/ml)
10^{-1}	7.8×10^3	3.89
10^{-3}	2.6×10^5	5.42
10^{-6}	1.7×10^8	8.24

Koloni mikroba A1 dan A2 yang tumbuh di media MRSA (Gambar 1) memiliki karakteristik makroskopik yang hampir serupa (Tabel 2), akan tetapi koloni A1 memiliki warna lebih pekat dibandingkan koloni A2.



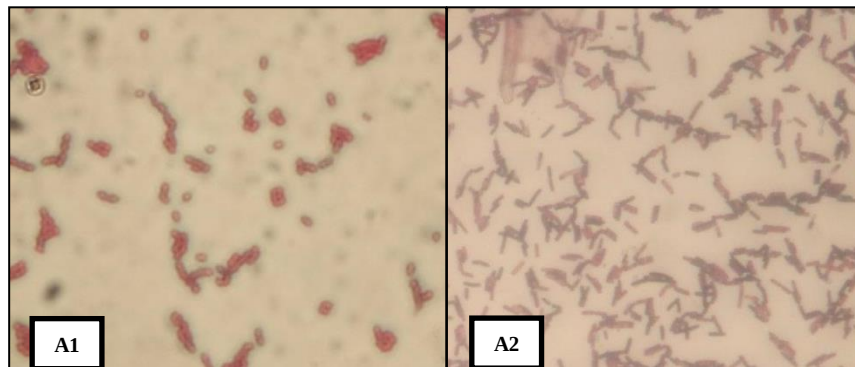
Gambar 1. Koloni A1 dan A2 pada media MRSA hasil isolasi dari sampel yoghurt

Tabel 2. Karakteristik makroskopik koloni bakteri hasil isolasi dari sampel yoghurt pada media MRSA

Kode Koloni	Warna Koloni	Bentuk Koloni	Permukaan Koloni	Tepi Koloni	Elevasi Koloni
A1	Putih susu pekat	bulat	mengkilat	rata	cembung
A2	Putih susu	bulat	mengkilat	rata	cembung

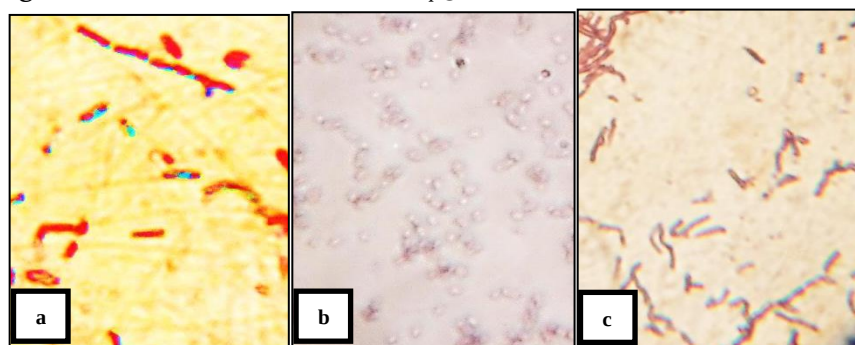
Hasil pewarnaan gram, spora, dan kapsul mikroba dari sampel yoghurt

Hasil pewarnaan gram (gambar 2) menunjukkan bahwa koloni A1 merupakan bakteri gram negative dengan bentuk sel adalah bulat berantai (streptococcus). Akan tetapi berdasarkan Buku Bergeys Manual, bakteri bentuk bulat berantai (streptococcus) adalah gram positif. Adanya perbedaan hasil tersebut dikarenakan usia koloni A1 yang sudah lebih dari 48 jam, sehingga mempengaruhi struktur dinding sel bakteri. Koloni A2 setelah pewarnaan gram diperoleh hasil sel bakteri batang positif.

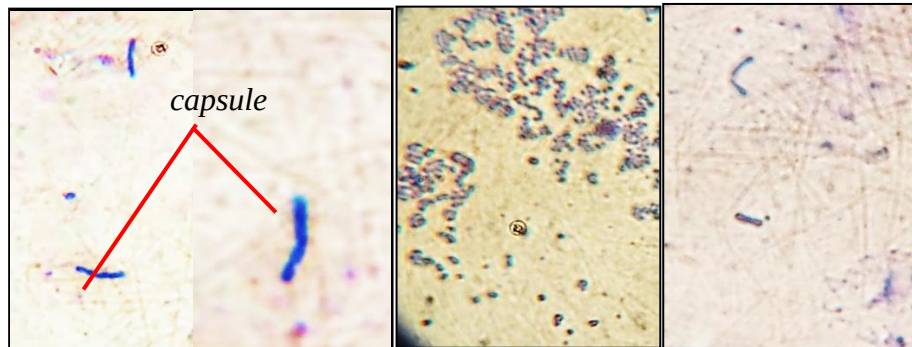


Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram Koloni A1 adalah Gram Negatif dan Kokus Berantai; Koloni A2 adalah Gram Positif dan Batang Tunggal (Perbesaran 1000x)

Pada pewarnaan spora diperoleh hasil bahwa koloni A1 dan A2 tidak menunjukkan adanya spora (Gambar 3) karena tidak ada bagian sel bakteri yang terwarnai malachite green. Pada pewarnaan kapsul diperoleh hasil bahwa koloni A1 dan A2 sama-sama tidak memiliki kapsul (Gambar 4) karena tidak ada bagian sel bakteri yang terwarnai oleh larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.



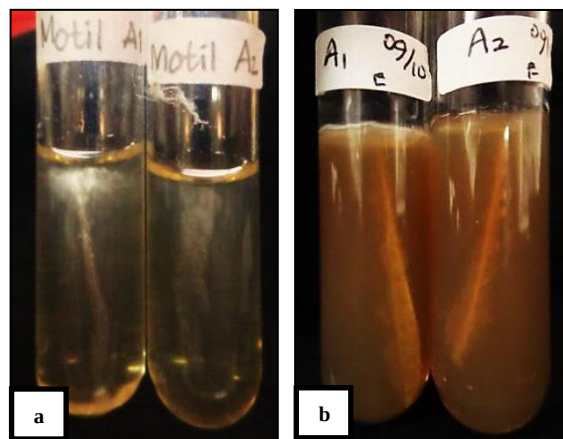
Gambar 3. Hasil Pewarnaan Spora. (a) Kontrol/koloni basil berspora di tengah sel (hijau); (b) koloni A1 tidak berspora; (c) koloni A2 tidak berspora (Perbesaran 1000x)



Gambar 4. Hasil Pewarnaan Kapsul a) Kontrol/bakteri berkapsul (biru); (b) koloni A1 tidak berkapsul; (c) koloni A2 tidak berkapsul (Perbesaran 1000x)

Hasil Uji Motilitas Mikroba Dari Sampel Youghurt

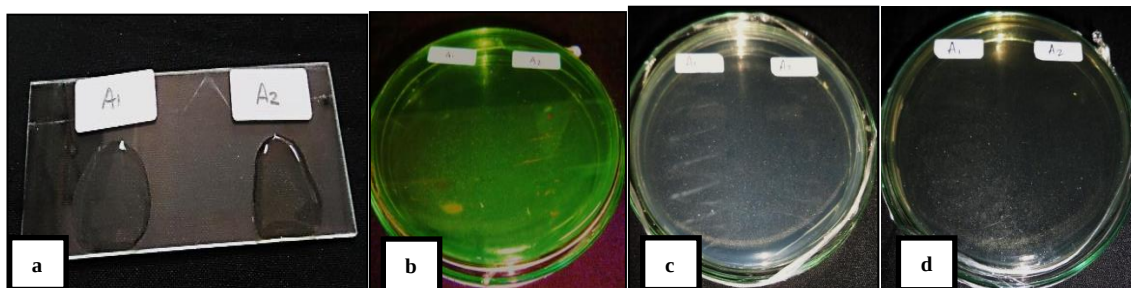
Hasil uji morilitas koloni A1 dan A2 pada media SIM dan MRSA sama-sama menunjukkan bahwa kedua koloni tidak motil (Gambar 5). Hal ini tampak pada pertumbuhan masing-masing koloni hanya pada bagian yang ditusuk jarum inokulasi dan tidak menyebar ke bagian media lainnya.

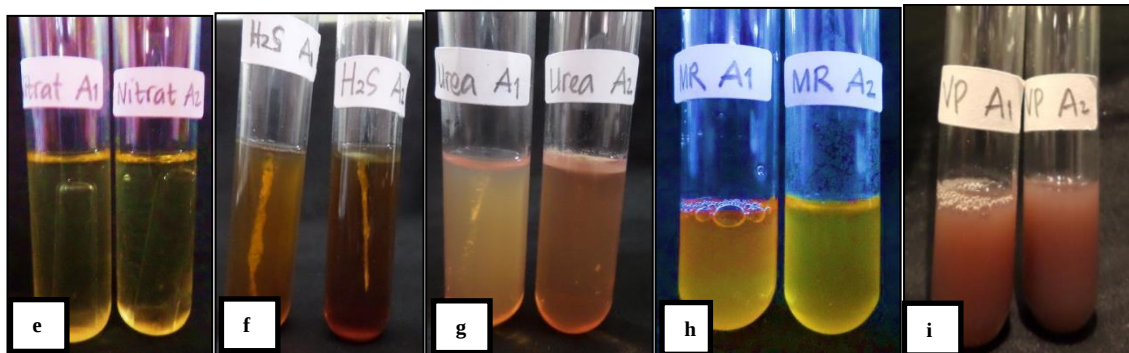


Gambar 5. (a) hasil uji motilitas koloni A1 dan A2 pada *SIM Medium*; (b) Hasil Uji Motilitas A1 dan A2 pada media MRSA

Hasil Uji Biokimia Mikroba Dari Sampel Youghurt

Uji Biokimia koloni hasil isolasi dari sampel yoghurt, dapat dilihat secara keseluruhan pada gambar 6 dan tabel 3.





Gambar 6. (a) hasil uji katalase; (b) hasil uji sitrat; (c) hasil uji hidrolisis pati; (d) hasil uji hemolisis; (e) hasil uji nitrat; (f) hasil uji hydrogen sulfida; (g) hasil uji urea; (h) hasil uji *Methyl Red*; (i) hasil uji *Voges-Proskauer*

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Koloni Mikroba Hasil Isolasi dari Sampel Yoghurt

Uji Biokimia	Koloni A1	Koloni A2
Katalase	-	-
Sitrat	-	-
Hidrolisis Pati	-	-
Hemolisis	-	-
Nitrat	-	-
Hidrogen Sulfida	-	-
MR	+	-
VP	-	-

Hasil uji katalase pada koloni A1 dan A2 menunjukkan tidak terbentuknya gelembung suspensi kultur ditetesi larutan H_2O_2 (Gambar 6a). Hal ini dikarenakan koloni A1 dan A2 tidak memproduksi enzim katalase sehingga tidak mampu mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 .

Hasil uji sitrat koloni A1 dan A2 pada media Simmons Citrate Agar menunjukkan hasil negatif (Gambar 6b). Koloni A1 dan A2 tidak memiliki enzim citrase yang mengubah sitrat menjadi asam oksaloasetik dan asam asetat, sehingga warna media tidak mengalami perubahan warna dari hijau menjadi biru.

Hasil uji hidrolisis pati koloni A1 dan A2 pada media agar pati menunjukkan hasil negatif setelah penambahan iodine (Gambar 6c). Pada uji ini, koloni A1 dan A2 tidak dapat memproduksi enzim amilase yang mengubah pati menjadi glukosa.

Hasil uji hemolisis koloni A1 dan A2 pada media *blood agar* menunjukkan hasil negatif (Gambar 6d). Pada uji ini, koloni A1 dan A2 tidak mampu menghancurkan sel darah, sehingga koloni tidak tumbuh.

Hasil uji nitrat koloni A1 dan A2 pada media *nitrate broth* menunjukkan hasil negatif (Gambar 6e). Hal ini dikarenakan koloni A1 dan A2 tidak memproduksi enzim nitrate reductase yang mengubah NO_3 menjadi gas N_2 , sehingga tidak terbentuk gelembung gas pada tabung Durham.

Hasil uji hydrogen sulfida (H_2S) koloni A1 dan A2 pada media *TSIA* menunjukkan hasil negatif (Gambar 6f). Hal ini dikarenakan koloni A1 dan A2 tidak memproduksi enzim

sistein desulfurase yang mengubah sistein menjadi NH_3 , asam piruvat dan H_2S , sehingga tidak terbentuk perubahan warna menjadi hitam pada media.

Hasil uji urea koloni A1 dan A2 pada media *urea broth* menunjukkan hasil negatif (Gambar 6g). Hal ini dikarenakan koloni A1 dan A2 tidak memproduksi enzim urease yang merombak urea menjadi NH_3 dan CO_2 , sehingga media tidak berubah warna menjadi pink kemerahan.

Hasil uji MR koloni A1 dan A2 pada media *MR-VP* menunjukkan hasil seperti pada gambar (Gambar 6h) setelah diberi indikator metil merah. Koloni A1 dinyatakan positif MR karena mampu merombak glukosa pada media menjadi asam piruvat (hari ke-1) dan selanjutnya dirombak menjadi asam laktat, asam asetat, dan asam format, sehingga pH media menjadi rendah dan menghasilkan warna merah setelah ditetesi indikator metil merah. Sedangkan koloni A2 adalah negative MR karena asam piruvat yang dibentuk dari glukosa pada hari ke-1 diubah menjadi produk dengan pH netral, sehingga tidak berwarna setelah ditetesi indikator metil merah.

Hasil uji VP koloni A1 dan A2 pada media *MR-VP* menunjukkan hasil negatif (Gambar 6i). Hal ini dikarenakan tidak dihasilkan produk hasil metabolisme glukosa berupa asetoin yang akan bereaksi dengan α -naftol dan KOH.

Hasil Identifikasi mikroba hasil isolasi dari sampel yoghurt drink

Berdasarkan hasil uji dan pengamatan secara makroskopik, mikroskopik dan biokimia menunjukkan bahwa mikroba hasil isolasi dari sampel yoghurt adalah *Streptococcus thermophilus* (A1) dan *Lactobacillus bulgaricus* (A2).

Streptococcus thermophilus adalah bakteri gram positif berbentuk bulat, sering dijumpai berbentuk rantai selama pertumbuhannya (Hidayat, 2013). Bakteri ini dapat diklasifikasikan sebagai bakteri homofermentative dan termodurik dengan pH optimum untuk pertumbuhannya sekitar 6,5 (Rahman, 2012). *Streptococcus thermophilus* memiliki beberapa manfaat diantaranya efisien dalam mencerna laktosa, mampu menghancurkan bakteri patogen dan dapat merangsang produksi sitokin yang terlibat dalam sistem kekebalan, serta dapat meningkatkan nilai makanan dengan pembuatan mikronutrien (Wulandari, 2010). Selain itu, *Streptococcus thermophilus* juga mampu merontokkan rotavirus (penyebab utama penyakit diare akut non bakteri pada anak dan bayi) (Michal, 2010).

Lactobacillus sp. Adalah bakteri gram positif berbentuk batang dan tidak membentuk endospore. Dalam susu, *Lactobacillus sp.* Akan mengubah laktosa menjadi asam laktat (Agustine, 2018). Bakteri asam laktat bersifat termodurik dan homofermentative, dengan suhu optimum untuk pertumbuhannya sekitar 45°C . Kondisi optimum untuk pertumbuhannya adalah sedikit asam atau sekitar pH 5,5 (Sani *et al*, 2024).

Streptococcus thermophilus dan *Lactobacillus sp.* Merupakan mikroba yang memakan laktosa dan mengeluarkan asam laktat. Asam laktat tersebut tidak hanya berperan mengawetkan susu, tetapi mendegradasi laktosa sehingga susu bisa dikonsumsi oleh orang intoleran terhadap susu. Proses fermentasi yoghurt berlangsung melalui penguraian protein susu. Sel-sel bakteri menggunakan laktosa dari susu untuk mendapatkan karbon dan energi

dan memecah laktosa tersebut menjadi gula sederhana, yaitu glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim β -galaktosidase. Proses fermentasi akhirnya akan mengubah glukosa menjadi produk akhir asam laktat.

KESIMPULAN

Hasil identifikasi mikroba pada sampel yoghurt drink di alun-alun Situbondo adalah bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus sp.* Kedua bakteri ini adalah bakteri asam laktat yang berperan dalam proses fermentasi dan tidak bersifat patogen bagi manusia.

REFERENSI

- Agustine, L., Yenni Okfrianti, Jumiyati. 2018. Identifikasi Total Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Yoghurt Dengan Variasi Sukrosa Dan Susu, Jurnal Dunia Gizi, 1(2): 79-83
- Elhany, NA, Husnudin, UB. 2022. Uji Sensitivitas Bakteri Tahan Logam Berat Pada Perairan Sungai Driyorejo Gresik. Jurnal Indigenous 5(2):73-78
<https://doi.org/10.33323/indigenous.v5i2.321>
- Elhany, NA, Husnudin, UB. 2023. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tahan Logam Berat pada Perairan Sungai Driyorejo Gresik. Jurnal Biogenic 1(1):28-33
<https://doi.org/10.36841/biogenic.v1i1.2899>
- Hidayat IR, Kusrahayu, Mulyani S. 2013. Total Bakteri Asam Laktat, Nilai pH dan Sifat Organoleptik Drink Yoghurt dari Susu Sapi yang Diperkaya dengan Ekstrak Buah Mangga. Animal Agriculture Journal. 2 (1): 160 – 167
- Ratnasari, D, Elhany,NA, Fajar, MTI. 2023. Uji Kualitas Air Sungai di Desa Sumberkolak Kecamatan Panarukan Kabupaten Situbondo. Jurnal Biogenic 1(2):12-20
<https://doi.org/10.36841/biogenic.v1i2.3749>
- Rahman DH, Tanziha I, Usmiati S. 2012. Formulasi Produk Susu Fermentasi Kering dengan Penambahan Bakteri Probiotik *Lactobacillus casei* dan *Bifidobacterium longum* Jurnal Gizi dan Pangan 7(1):49-5.
- Michal, I. U. 2010. Pengaruh Konsentrasi Starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* Terhadap Kualitas Yoghurt Susu Kambing. (skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim: Malang
- Sani, M.D., Zuraida., Hapid A., Nurdiani, C.U., Lisangan, M.M., Agustine D., Elhany, N.A. 2024. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Padang : CV.Pustaka Inspirasi Minang
- Sasmita, Aliansyah Halim, Aisyah Nur Sapriati, Sukriani Kursia. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Liur Basa (Limbah Sayur Bayam Dan Sawi), As-Syifaa. 10 (2) : 141-151
- Undang – Undang tentang Pangan, Undang – Undang No. 7 Tahun 1996. LN. R.I. No. 99 Th 1996, TLN No. 3656.
- Utama, C.S., Zuprizal, Chusnul Hanim, Wihandoyo. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi, Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 7(1): 1-6
- Wulandari E, Putranto WS. 2010. Karakteristik Stirred Yoghurt Mangga (*Mangifera indica*) dan Apel (*Malus domestica*) selama Penyimpanan. Jurnal Ilmu Ternak 10(1):14-16.