

**ISOLASI DAN SKRINING BAKTERI ASAM LAKTAT
PROTEOLITIK FESES LUWAK PANDAN
(*Paradoxurus hermaphroditus*) KALIMANTAN BARAT**

Rizki Permata Sari Hasibuan, Zulfa Zakiah dan Rahmawati
Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura
Korespondensi : zulfazakiah@gmail.com

Abstract

Article history:

Received 3 March 2023

Accepted 18 July 2023

Published 30 Agustus 2023

The aimed of this study was to obtain lactic acid bacteria in civet feces used for the coffee fermentation process. This research was carried out isolation and screening of microbes specifically for proteolytic lactic acid bacteria. The bacterial isolation process using a selective MRS (*Man Ragosa Sharpe*) Agar medium and a bacterial screening process using Skim Milk Agar medium added with CaCO₃. The results showed that 3 of the 12 isolated bacterial isolates could produce acid and protease: BAL 05, BAL 08, and BAL 09.

Keywords: isolation; lactic acid bacteria (BAL); MRS (Man Ragosa Sharpe); proteolytic; screening.

Pendahuluan

Indonesia memiliki hasil komoditas perkebunan unggulan khususnya kopi yang memiliki nilai ekspor tinggi dan memberikan devisa cukup besar bagi negara. Sekitar 60% dari jumlah produksi kopi nasional diekspor dengan negara tujuan utama yaitu Amerika Serikat, Jerman, dan Jepang (Rahardjo, 2013). Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (2013) menyatakan bahwa terdapat berbagai jenis kopi yang ditanam di Indonesia di antaranya yaitu kopi arabika, kopi robusta, dan kopi liberika. Kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki kafein yang lebih tinggi dibanding kopi arabika. Kadar kafein yang tinggi menyebabkan dampak negatif pada kesehatan yaitu bisa membuat pernafasan cepat, insomnia, meningkatkan stress, tremor dan secara komulatif dapat berkembang menjadi penyakit diabetes serta kemandulan pada pria

(Widyotomo, 2007). Selain jenis kopi di atas, di Indonesia juga berkembang jenis kopi lain yaitu kopi luwak (*Civet coffea*) (Panggabean, 2011).

Kopi luwak merupakan biji kopi robusta yang telah di proses melalui fermentasi singkat di dalam pencernaan hewan luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*). Buah kopi yang dimakan luwak diproses dalam sistem pencernaannya, namun yang dicerna hanyalah kulit buahnya saja, sedangkan biji kopi dikeluarkan bersama kotoran luwak. Terdapat kelenjar fundus di dalam saluran pencernaan hewan luwak, salah satu penyusunnya adalah sel parietal yang mendistribusikan HCl. HCl berfungsi sebagai aktifator enzim-enzim proteolitik dan probiotik. Enzim proteolitik dapat memecah protein pada biji kopi selama proses fermentasi. Proses pencernaan kopi pada hewan luwak dibantu mikroba secara intensif berlangsung pada organ *intestinum* (usus

halus) dan *caecum* (usus buntu). Mikroba yang berperan dalam hidrolisa protein dan karbohidrat pada saluran hewan luwak (Fauzi, 2016).

Kopi luwak memiliki keistimewaan yaitu rendah kafein, rendah kadar asam, rendah lemak dan rendah rasa pahit (Wulandari, 2016). Berdasarkan penelitian Usman (2015), bahwa proses fermentasi berpengaruh terhadap penurunan kadar kafein dari kopi sehingga kopi luwak yang merupakan kopi hasil fermentasi memiliki kadar kafein lebih rendah dan cita rasa yang khas. Menurut hasil penelitian Marcone (2004), peningkatan kualitas citarasa kopi luwak diakibatkan oleh kandungan protein yang rendah dan kandungan lemak yang tinggi dibandingkan kopi biasa. Kandungan protein yang rendah dapat menurunkan rasa pahit, sedangkan kandungan lemak yang tinggi dapat meningkatkan *body* (kekentalan kopi dalam mulut). Kopi luwak sangat terkenal dan sangat mahal harganya karena produksinya sedikit, namun permintaan yang tinggi. Maka semakin besar permintaan kopi luwak, produsen tidak hanya bisa mengharapkan produksi dari hewan luwak liar saja, karenanya kini mulai berkembang usaha budidaya hewan luwak guna memproduksi kopi luwak.

Pemenuhan kebutuhan kopi luwak 100% masih tergantung sepenuhnya dari penggunaan hewan luwak, namun populasinya di alam bebas sudah sangat menurun. Menurut IUCN (Union for Conservation of Nature) luwak termasuk ke dalam daftar *least concern* yang artinya apabila hewan tersebut tidak diperhatikan maka populasi hewan tersebut akan menurun drastis (Dewi, et al., 2019). Pemanfaatan hewan luwak sebagai agen fermentasi dianggap dapat menyiksa, mengancam kelangsungan hidup hewan tersebut, serta kelestariannya di alam (Sinar Tani, 2010). Salah satu cara untuk menghasilkan kopi luwak adalah dengan melakukan fermentasi menggunakan bakteri asam laktat yang diisolasi dari feses luwak.

Keberadaan mikroorganisme terutama bakteri, diduga memiliki peran dalam proses fermentasi di dalam saluran pencernaan hewan

luwak. Salah satu kelompok bakteri yang berperan dalam saluran pencernaan yaitu bakteri proteolitik yang dapat mendegradasi protein sehingga mempengaruhi cita rasa kopi. Penelitian Kristiyanto (2013) penggunaan NOPKOR MZ-15 (campuran beberapa jenis mikroba) mampu menurunkan kadar kafein di dalam kopi dari 0,9% menjadi 0,71%, penurunan kadar kafein sejalan dengan bertambahnya waktu fermentasi dengan waktu optimum fermentasi yaitu pada jam ke 20-24. Penelitian Fauzi (2016) hasil isolasi mikroba dari kotoran luwak diperoleh 25 isolat bakteri dan seluruh isolat yang diidentifikasi merupakan bakteri gram positif, pada uji katalase terdapat 23 isolat yang menunjukkan katalase negatif dan merupakan bakteri asam laktat (BAL). Umumnya bakteri asam laktat tersebut mampu tumbuh baik pada suhu 37°C dan mampu menghasilkan asam dan juga pH berkisar 4,5 – 5,4. Enam isolat BAL mampu memproduksi dekstran, sehingga diduga sebagai genus *Leuconostoc* dan tiga isolat mampu memproduksi amonia sehingga diduga *Streptococcus faecum*. Namun adapula genus *Leuconostoc* yang tidak mampu memproduksi dekstran sehingga diduga dari *Leuconostoc paramesenteroides*. Dari enam isolat yang diduga *Leuconostoc*, selanjutnya dilakukan uji ketahanan terhadap konsentrasi gram yang tinggi dan diperoleh empat isolat yang diduga berasal dari *Leuconostoc mesentroides*. Penelitian Afriyanti (2020) bahwa hasil isolasi dan identifikasi bakteri dari kotoran luwak diketahui 5 jenis isolat yang termasuk bakteri asam laktat diduga genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc* dan *Streptococcus*.

Oleh sebab itu, penelitian ini akan dilakukan isolasi dan skrining mikroba untuk mengetahui bakteri yang berperan di dalam pencernaan hewan luwak yaitu bakteri proteolitik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya bakteri asam laktat dari hasil isolasi dan selaksi bakteri asam laktat yang mampu mendegradasi protein yaitu bakteri proteolitik.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat. Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini meliputi aluminium foil, autoclave, batang pengaduk, blander, bunsen, cawan petri, erlenmeyer, gelas beker, gelas objek, gelas penutup, hot plate, inkubator, jarum ose, kapas, karet, korek api, label name, labu ukur, mikroskop, neraca analitik, oven, pinset, pipet tetes, plastik wayang, rak tabung, sendok, spektrofotometer, spektrofotometri uv-vis, spatula, spuit 1cc, tabung reaksi, vortex, wadah tertutup, dan wrapping.

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu akuades, alkohol 70%, HCl 10%, media *De Man, Ragosa and Sharpe Agar* (MRS-A), media *De Man, Ragosa and Sharpe Broth* (MRS-B), media *Peptone Glukose Yeast* (PGY) Broth, MgO, NaOH 0,1 N, spiritus, skim milk.

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang terbuat dari kaca dicuci terlebih dahulu, dikeringkan, kemudian dibungkus dengan kertas koran dan mulut wadah ditutup dengan kapas. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit (Pelczar, 1998). Jarum ose dan pinset disterilisasi dengan mencelupkan ke dalam alkohol 70% dan melakukan pemijaran menggunakan api Bunsen.

2. Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari kotoran hewan luwak peliharaan (*Paradoxurus hermaphroditus*) di Pontianak, Kalimantan Barat. Sampel dibawa untuk dilakukan isolasi ke Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura, Pontianak.

3. Pembuatan Media

Media MRS-Agar merupakan media selektif yang digunakan untuk isolasi bakteri asam laktat. Media MRS-A ditimbang 6,28 gram kemudian dilarutkan dengan 100ml aquades dan dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk hingga larut. Langkah selanjutnya media tersebut dimasukkan

ke dalam Erlenmeyer 500ml kemudian di sterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

4. Isolasi Bakteri

Sampel berupa kotoran luwak atau feses hewan luwak dibuat suspense kultur bakteri dengan cara ditimbang 5 gram kotoran luwak dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berisi 45 ml akuades steril, lalu digojog hingga homogen. Selanjutnya 1 ml suspense kultur tersebut diencerkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril, di vortex hingga homogen dan dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10^{-8} . Isolasi bakteri dilakukan dengan menginokulasikan 1 ml suspense kultur ke dalam cawan petri steril yang berisi 20 ml media MRS-Agar dan penambahan CaCO_3 1%. Setelah agar memadat, media di inkubasi di dalam inkubator secara anaerobik pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

5. Skrining Bakteri

Isolat BAL yang tumbuh setelah 48 jam inkubasi selanjutnya dilakukan skrining pertama yaitu diamati isolat yang memiliki zona bening, bakteri yang memiliki zona bening berarti bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan asam. Selanjutnya dilakukan skrining kedua yaitu koloni bakteri yang similitas karakter dimurnikan kembali (*re-streaking*) pada media MRS-Agar ditambah CaCO_3 1% dengan metode goresan kuadran lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam sampai diperoleh kultur tunggal/murni. Koloni BAL yang dilakukan kultur diberikan kode isolat BAL 01, BAL 02, BAL 03, dan seterusnya.

6. Pengujian Isolat BAL terhadap Nilai Keasaman pH usus dan pH lambung

Media MRS Broth yang sudah steril disiapkan sebanyak 9 ml pada tabung reaksi dengan pH 2 untuk pH lambung dan pH 8 untuk pH usus. Isolat bakteri setelah diremajakan di media MRS *Broth* diambil sebanyak 1 ml kemudian dipindahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian pH 2 dibuat dengan MRSB ditambah HCl 10% sebanyak 1,75 ml dan pH 8

dibuat dengan MRSB ditambah larutan NaOH 0,1 N sebanyak 2,25 ml. Hasil positif akan ditandai dengan terjadinya pertumbuhan bakteri pada medium (media keruh). Hasil negatif akan menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba pada medium (Apriyani, 2020).

7. Uji Aktivitas Proteolitik

Uji aktivitas proteolitik dilakukan pada media Skim Milk Agar. Media yang sudah steril disiapkan pada cawan petri. Isolat bakteri setelah di remajakan di media MRS-Broth diambil menggunakan tusuk gigi kemudian dititik pada media skim mil agar. Bakteri ditumbuhkan dan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 30°C selama 48 jam. Aktivitas proteolitik ditentukan dari ukuran zona jernih yang terbentuk dari aktivitas degradasi kasein susu skim. Aktivitas pembentukan zona bening dengan diameter koloni bakteri.

Hasil Dan Pembahasan

Berdasarkan hasil isolasi bakteri dari feses hewan luwak pada media selektif MRS-Agar dengan penambahan CaCO₃ didapatkan sebanyak 12 isolat bakteri yang membentuk zona bening di sekitar koloni (Gambar 1), terdiri dari 9 bakteri asam laktat dan 3 tergolong *yeast* (Gambar 2). Bagian sekitar koloni bakteri dan *yeast* sama-sama membentuk zona bening. Bentuk morfologi bakteri dan *yeast* memiliki perbedaan dari segi ukuran, hasil isolasi dominan menunjukkan ukuran *yeast* lebih besar dari ukuran bakteri, selain

itu bakteri tumbuh pada bagian dasar media sedangkan *yeast* tumbuh di permukaan media, morfologi *yeast* berwarna putih, menonjol, bentuk teratur dan permukaannya mengkilap dan licin sedangkan bakteri berwarna krim, bentuk tidak beraturan dan permukaan datar. Karakteristik morfologi 12 isolat bakteri yang telah di isolasi disajikan pada Tabel 1. Hal ini juga sesuai dengan Axelsson (1998) yang menyatakan bahwa bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif, non motil, katalase negatif, tidak membentuk spora, berbentuk kokus atau batang serta menghasilkan asam laktat.

Setelah dilakukan kultur murni pada media MRS-Agar, tiga isolat bakteri asam laktat tidak tumbuh sehingga hanya sembilan isolat yang dilakukan pewarnaan gram. Ketiga isolat diduga termasuk jenis bakteri mikroaerofilik, metode saat melakukan kultur murni kurang sesuai yaitu dengan metode streak dibagian permukaan agar sehingga bakteri tersebut tidak tumbuh saat dikultur. Bakteri jenis mikroaerofilik yaitu bakteri yang kebutuhan oksigennya rendah sehingga saat kultur menggunakan metode tusuk pada agar padat menggunakan tabung. Hasil pewarnaan Gram pada Sembilan isolat bakteri yang diisolasi dari feses luwak adalah 6 jenis isolat positif, yaitu sel bakteri berwarna ungu setelah dilakukan pewarnaan gram yang diduga tergolong bakteri asam laktat (Gambar 2 b) dan 3 isolat berwarna ungu pekat yang diduga tergolong khamir/*yeast* (Gambar 2 d).

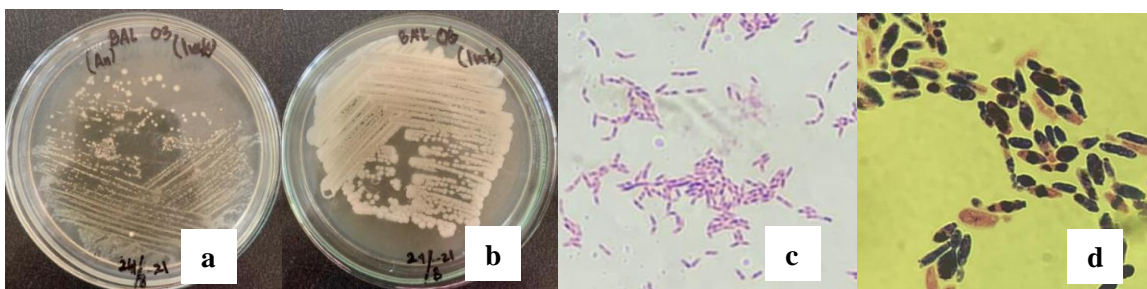


Gambar 1 Pembentukan Zona Bening pada Media MRS-Agar

Tabel 1. Karakter morfologi koloni bakteri bakteri asam laktat pada feses luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*)

No	Kode Isolat (Isolate Code)	Bentuk (Configuration)	Zona Bening (Clear Zone)	Tepian (Margin)	Elevasi (Elevation)	Warna (Color)	Ukuran (cm)	Bentuk Sel	Pewarnaan Gram
1	BAL 01	Tak beraturan (Irregular)	+	Rata (Entire)	Seperti tetasan (Pulvinate)	Krim (Cream)	0,8	Lonjong/Oval	-
2	BAL 02	Tak beraturan (Irregular)	+	Rata (Entire)	Datar (Flat)	Krim (Cream)	1,4	Basil	+
3	BAL 03	Tak beraturan (Irregular)	+	Berombak (Undulate)	Datar (Flat)	Krim (Cream)	1,5	Basil	+
4	BAL 04	Tak beraturan (Irregular)	+	Rata (Entire)	Cembung (Convex)	Putih sampai coklat (White to brown)	1,0	Lonjong/Oval	-
5	BAL 05	Tak beraturan (Irregular)	+	Rata (Entire)	Datar (Flat)	Krim (Cream)	0,9	Basil	+
6	BAL 06	Teratur (Circular)	+	Rata (Entire)	Cembung (Convex)	Putih (White)	0,6	Lonjong/Oval	-
7	BAL 07	Tak beraturan (Irregular)	+	Berombak (Undulate)	Datar (Flat)	Krim (Cream)	0,3	-	-
8	BAL 08	Tak beraturan (Irregular)	+	Berlekuk (Lobate)	Datar (Flat)	Krim (Cream)	2,2	Basil	+
9	BAL 09	Teratur (Circular)	+	Rata (Entire)	Datar (Flat)	Krim (Cream)	0,7	Basil	+
10	BAL 10	Teratur (Circular)	+	Rata (Entire)	Datar (Flat)	Krim (Cream)	0,1	Basil	+
11	BAL 11	Teratur (Circular)	+	Rata (Entire)	Datar (Flat)	Krim (Cream)	1,0	-	-
12	BAL 12	Seperti akar (Rhizoid)	+	Berfilamen (Filament)	Datar (Flat)	Krim (Cream)	1,1	-	-

Keterangan : Zona Bening (+) = Bakteri Asam Laktat
 Pewarnaan Gram (+) = Gram Positif (Ungu)
 Pewarnaan Gram (-) = Gram Negatif (Merah)



Gambar 2 Isolat Bakteri Asam Laktat dan Yeast Hasil Isolasi dari Feses Luwak
 a. Makroskopis BAL, b. Makroskopis Yeast, c. Mikroskopis BAL 1000x, d. Mikroskopis Yeast (1000x)

Hasil uji pewarnaan gram terhadap isolat bakteri dari isolasi feses luwak menghasilkan enam isolat yang memiliki bentuk morfologi sel batang dengan susunan berantai yang diduga merupakan bakteri asam laktat. Sedangkan tiga isolat lainnya memiliki bentuk morfologi sel oval/lonjong yang diduga merupakan *yeast*.

Hasil identifikasi secara morfologi didapatkan enam isolat yang diduga bakteri asam laktat yang berasal dari feses luwak. Selanjutnya dilakukan uji katalase dengan penambahan H₂O₂ 3%. Isolat dapat digolongkan dalam katalase positif jika dari isolat tersebut timbul gelembung-gelembung udara setelah penambahan H₂O₂. Pengujian pH asam dilakukan dengan penambahan HCl 10% dan pH basa dengan penambahan NaOH 0,1N. Isolat yang digolongkan positif yaitu bakteri dapat tumbuh pada keadaan asam atau basah ditandai dengan media menjadi keruh. Aktivitas proteolitik ditandai dengan terbentuk zona bening di sekitar koloni. Hasil Pengujian katalase, pH dan proteolitik dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil uji ketahanan bakteri asam laktat kondisi pH lambung (pH 2) yang disesuaikan dengan penambahan HCl 10% sebanyak 1,75 ml pada media MRS Broth dan pH usus (pH 8) dengan penambahan NaOH 0,1 N sebanyak 2,25 ml selama 24 jam diperoleh keenam isolat dengan kode BAL 02, BAL 03, BAL 05, BAL 08, NAL 09, dan BAL 10 mampu bertahan hidup pada suasana pH 2 (lambung) dan pH 8 (usus) dengan ditandai medium terlihat keruh yang berarti ada pertumbuhan bakteri. Uji ketahanan bakteri asam laktat terhadap kondisi asam merupakan salah satu seleksi probiotik. Kemampuan mikroba probiotik bakteri asam laktat untuk menekan pertumbuhan bakteri pathogen disebabkan karena kemampuannya untuk memproduksi senyawa antimikroba seperti asam laktat dan asam asetat. Akumulasi senyawa tersebut terjadi karena bakteri asam laktat tidak menghasilkan enzim katalase. Pengujian ini dimaksudkan untuk melihat ketahanan BAL dalam saluran pencernaan inang. Bakteri asam laktat diharapkan mampu bertahan pada kondisi asam di lambung yaitu dengan pH sekitar 1,5-2 dan juga diharapkan

dapat bertahan pada kondisi usus dengan pH 8. Bakteri asam laktat mampu bertahan pada pH relatif rendah karena memiliki sistem yang sekaligus mentransport asam laktat dan proton di dalam sitoplasma ke bagian luar sel (Rizal, 2017).

Kebanyakan bakteri tumbuh lebih lambat pada pH rendah, disebabkan karena adanya asam yang dapat merusak dan menurunkan viabilitasnya. Namun, bakteri asam laktat memiliki kemampuan untuk mengatur pH sitoplasma atau intraseluler mereka di sekitar pH netral, walaupun saat berada dalam pH ekstraseluler yang rendah selama pertumbuhan ataupun dalam penyimpanan (Konings et al. 1997). Lin et al. (2006) menyatakan bahwa ketahanan bakteri asam laktat $\geq 50\%$ pada suasana pH lambung dan usus dinyatakan mempunyai ketahanan hidup yang tinggi. Hal ini dapat dilihat dari Tabel 4.2 diatas, bahwa keseluruhan isolat mampu bertahan hidup pada pH 2 dan pH 8. Menurut Kimoto et al. (1999), toleransi terhadap asam merupakan salah satu syarat penting suatu isolat untuk dapat dikategorikan sebagai probiotik. Hal ini disebabkan apabila isolat tersebut masuk ke dalam saluran pencernaan inang, maka isolat harus mampu bertahan dari pH asam lambung yaitu sekitar 2-5. Minellia et al. (2004) menyatakan bahwa salah satu syarat BAL sebagai probiotik ialah mampu bertahan hidup melewati lambung sampai ke usus halus.

Berdasarkan uji kemampuan aktivitas proteolitik dari enam jenis isolat didapat tiga jenis isolat bakteri dengan kode BAL 05, BAL 08 dan BAL 09 yang berpotensi menghasilkan enzim protease ditandai dengan terlihat zona bening di sekitar koloni pada media skim milk agar seperti pada gambar dibawah (Gambar 3).

Hasil penelitian uji proteolitik menunjukkan bahwa isolat yang termasuk bakteri proteolitik adalah BAL 05, BAL 08 dan BAL 09 dengan terlihat zona bening di sekitar koloni bakteri (Gambar 3). Zona bening yang dihasilkan pada media *skim milk* menunjukkan kemampuan kedua isolat tersebut dalam memproduksi enzim protease. Ketiga isolat terpilih inilah yang digunakan sebagai inokulum untuk proses fermentasi biji kopi robusta. Semakin besar zona

jernih yang dihasilkan berarti semakin besar pula kemampuan isolat tersebut untuk menghasilkan enzim protease. Enzim protease memiliki sifat proteolitik yang mampu menghancurkan protein dan kafein memiliki sifat yang mirip dengan protein. Saat proses fermentasi biji kopi dapat mengurangi kadar kafein dan merubah rasa, warna dan aroma pada kopi karena terjadi hidrolisis protein menjadi asam amino bebas

sedangkan kafein memiliki sifat yang sama dengan protein yaitu memiliki gugus amida. Saat proses fermentasi, enzim protease akan mendegradasi lapisan *mucilage* pada permukaan kopi hingga ke sitoplasma yang mengandung kafein dalam keadaan bebas (Budiman, 2021). Jadi, isolasi bakteri dari feses luwak didapatkan tiga jenis isolat bakteri asam laktat yang telah di uji pH dan proteolitik yaitu BAL 05, BAL 08, dan BAL 09.

Tabel 2 Uji Katalase, pH dan Uji Proteolitik pada Bakteri Asam Laktat

No	Isolat	Katalase	Pengujian pH		Proteolitik
			Asam (pH 2)	Basa (pH 8,5)	
1	BAL 2	-	+	+	-
2	BAL 3	-	+	+	-
3	BAL 5	-	+	+	+
4	BAL 8	-	+	+	+
5	BAL 9	-	+	+	+
6	BAL 10	-	+	+	-

Keterangan:

(+) Katalase ditandai dengan adanya gelembung

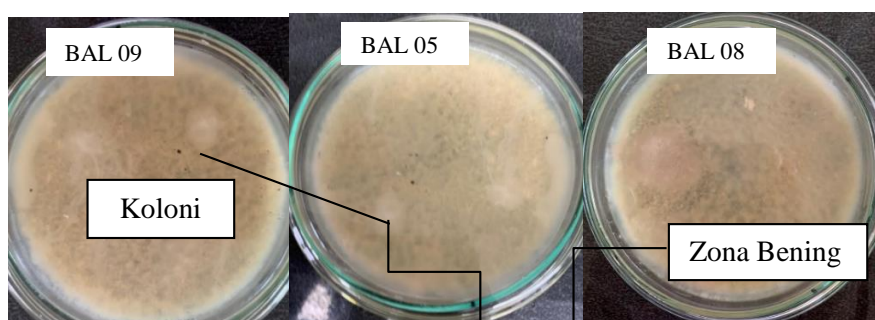
(-) Katalase ditandai dengan tidak adanya gelembung

(+) Asam/Basa ditandai dengan media keruh

(-) Asam/Basa ditandai dengan media bening

(+) Proteolitik ditandai dengan zona bening di sekitar koloni

(-) Proteolitik ditandai dengan tidak ada zona bening di sekitar koloni



Gambar 3. Uji Proteolitik pada Bakteri Asam Laktat

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolasi bakteri asam laktat yang di isolasi dari feses luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) didapatkan tiga jenis isolat bakteri asam laktat yang termasuk bakteri asam laktat penghasil emzin

protease (bakteri proteolitik) yang diberi kode isolat BAL 05, BAL 08, dan BAL 09.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam terlaksananya penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Apriyani R. 2020. Isolasi dan Uji Potensi Asam Laktat Asal Buah Nipah (*Nypa fruticans*) dalam Fermentasi Kopi Gayo [Skripsi]. Banda Aceh: Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Rainry.
- Axelsson, L.T. 1998. Lactic Acid Bacteria Classification and Physicy. Dalam: Lactat Acid Bacteria. Seppo Salminen and Atte Vin Wright, 2nd Ed. Marcel dekker Inc. New York.
- Budiman, I., Farizky, W., Yunardi & Hesti M. 2021. Studi Fermentasi Biji Kopi Menggunakan Enzim Proteolitik, *Serambi Engineering*. 6(4), 2228-2235.
- Dewi, N. M. A. K., Widyastuti, S.K., & Suatha, I. K. 2019. Aktivitas Harian Musang Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) yang Dikandangan. *Indonesia Medicus Veerius*, 8(1), 52-60.
- Fauzi, M & Hidayati, N. W. 2016. Perubahan Karakteristik Kimia Kopi Luwak Robusta In Vitro dengan Variasi Lama Fermentasi dan Dosis Ragi. Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat: Universitas Jember.
- Kimoto, H., Kurisaki, J., Tsuji, N. M., Ohmomo, S., & Okamoto T. 1999. Lactococci as Probiotic Strains Adhesion to Human Enterocyte Like Caco-2 Cells and Tolerance to Low pH and Bile. *Appl Microbiol*. 29, 313-316.
- Konings, W. N., Lolkema, J. S., Bolhuis, H., Van Veen, H. W., Poolman, B, & Driessen A. J. M. 1997. The Role Of Transport Process In Survival Of Lactat Acid Bakteria. *Antonic Leuwenhock*. 71(117-128).
- Kristiyanto, D, Bruto, D. H. P., & Abdullah. 2013. Penurunan Kadar Kafein Kopi Arabika dengan Proses Fermentasi Menggunakan NOPKOR MZ-15. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. 2(4): 170-176.
- Lin, W., Hwang, C. F, Chen, L. W., & Tsen, H. Y. 2006. Viable Counts Charavteristic Evaluation for Commercial Lactic Acid Bacteria Product [Short Communication]. *Journal of Food Mikrobial*. 23(1), 74-81.