



Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Susu yang berpotensi sebagai Pangan Fungsional: Review Literatur

Isolation and Molecular Identification of Lactic Acid Bacteria from Milk with Potential as Functional Food: Literature Review

Roisu Eny Mudawaroch¹ dan Rinawidiastuti¹

¹Fakultas Pertanian, Universitas, Universitas Muhammadiyah Purworejo

Jl KHA Dahlan 3a Purworejo, Jawa Tengah, Indonesia

Email: roisueny@umpwr.ac.id, rinaewidiastuti@umpwr.ac.id

Korespondensi author: roisueny@umpwr.ac.id

ABSTRACT

Article History:

Accepted : 30-4-2026

Online : 30-4-2026

Keyword:

Identifikasi;

Identification;
Lactic Acid Bacteria;
Milk



Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok mikroorganisme gram positif yang mampu memfermentasikan karbohidrat menjadi asam laktat. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode systematic. Proses tinjauan dilakukan melalui proses seleksi preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses (prisma). Identifikasi bakteri asam laktat dengan langkah isolasi bal, ekstraksi dna genomik, amplifikasi gen, elektroforesis gel agarosa, purifikasi dan sekuensing dna, analisis bioinformatika dan analisis filogenetik. Efektivitas isolasi bakteri asam laktat dari susu meliputi ambiguitas fenotipik (low taxonomic resolution), waktu analisis lama dan intensif tenaga kerja. Transformasi dari identifikasi fenotipik ke meliputi presisi tinggi (high taxonomic resolution), analisis filogenetik dan standarisasi global, efisiensi, stabilitas, dan reproducibility. Potensi bakteri asam laktat sebagai agen pangan fungsional meliputi: ketahanan terhadap saluran pencernaan, aktivitas antimikroba, karakteristik probiotik dan keamanan (GRAS). Kesimpulan yaitu Identifikasi bakteri asam laktat menjadikan isolasi dan identifikasi yang efektif dan presisi tinggi. Isolate bakteri asam laktat sebagai pangan fungsional yaitu ketahanan terhadap saluran pencernaan, aktivitas antimikroba, karakteristik probiotik dan keamanan (GRAS).

Lactic acid bacteria (LAB) are a group of gram-positive microorganisms capable of fermenting carbohydrates into lactic acid. This study was conducted using a systematic method. The observation process was carried out through a selection process of selected reporting items for systematic reviews and meta-analyses (prism). Formation of lactic acid bacteria with steps of lactic acid isolation, genomic DNA extraction, gene amplification, agarose gel electrophoresis, DNA purification and sequencing, bioinformatics analysis and phylogenetic analysis. The effectiveness of lactic acid bacteria isolation from milk includes phenotypic ambiguity (low taxonomic resolution), long analysis time and labor intensity. The transformation from phenotypic to molecular identification includes high precision (high taxonomic resolution), phylogenetic analysis and global standardization, efficiency, stability, and reproducibility. The potential of lactic acid bacteria as functional food agents

includes: resistance to the digestive tract, antimicrobial activity, probiotic characteristics and safety (GRAS). The conclusion is that molecular identification of lactic acid bacteria makes isolation and identification effective and high precision. Isolating lactic acid bacteria as functional foods, namely resistance to the digestive tract, antimicrobial activity, probiotic characteristics and safety (GRAS).

A. PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok mikroorganisme Gram positif yang mampu memfermentasikan karbohidrat menjadi asam laktat [1]. Bakteri asam laktat banyak ditemukan pada bahan pangan, baik pada daging sapi [2], daging ayam [3], BAL juga dapat diperoleh dari berbagai macam susu. Bakteri asam laktat telah diisolasi dari susu sapi [4], susu kuda [5] dan susu kambing [6].

Susu merupakan bahan pangan yang kaya nutrisi dan mengandung mikroorganisme alami termasuk BAL. Nilai gizi susu sapi yaitu protein: 4.5–7.0 g (terdiri dari kasein dan whey protein); lemak: 3.3–5.4 g; karbohidrat (laktosa): 4.4–5.6 g [7]. Nilai gizi susu domba yaitu protein: 3.0–3.9 g (terdiri dari kasein dan whey protein); lemak: 5.0–9.0 g; karbohidrat (laktosa): 4.1–5.9 g [7]. nilai gizi susu kambing yaitu energi: 69 - 70 kkal; protein: 3,1 - 3,6 g (terdiri dari kasein dan whey protein); lemak: 3,5 - 4,5 g (kaya akan asam lemak rantai pendek dan sedang/mct); karbohidrat (laktosa): 4,1 - 4,7 g [8].

Bakteri asam laktat berperan penting dalam fermentasi serta memiliki potensi sebagai probiotik dan agen antimikroba [9], mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui produksi asam organik dan senyawa antimikroba lainnya [10]. Bakteri asam laktat yang tumbuh dalam berbagai bahan pangan dapat dipisahkan dan dapat dipilih sesuai dengan tujuan yang ingin dicapai. Proses memisahkan satu jenis BAL untuk mendapatkan kultur murni disebut dengan identifikasi. Identifikasi bakteri bertujuan untuk mendapatkan starter BAL yang spesifik yang akan digunakan untuk keperluan industri. Identifikasi BAL dilakukan dengan cara konvensional melalui metode morfologi dan biokimia seringkali. Metode konvensional ini kurang akurat karena banyak spesies memiliki karakteristik fenotip yang serupa. Oleh karena itu, diperlukan metode identifikasi yang lebih akurat, yaitu pendekatan berbasis gen 16S rRNA. Gen ini bersifat universal pada bakteri dan memiliki daerah konservatif serta variabel yang memungkinkan identifikasi hingga tingkat spesies [11].

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri yang menghasilkan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat dan banyak dimanfaatkan dalam industri pangan fermentasi [12]. BAL memiliki berbagai manfaat penting, terutama sebagai probiotik yang mampu meningkatkan kesehatan saluran pencernaan dan keseimbangan mikrobiota usus [13]. Selain itu, BAL mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* melalui produksi asam organik, bakteriosin, dan

senyawa antimikroba lainnya [14]. Aktivitas antagonistik BAL juga dilaporkan efektif terhadap *Salmonella enteritidis* dan *Bacillus cereus* [15]. Oleh karena itu, BAL banyak dimanfaatkan sebagai pengawet alami dalam produk pangan karena mampu memperpanjang umur simpan serta meningkatkan keamanan pangan [16].

B. MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode systematic. Teknik analisis data thematic synthesis dilakukan bertujuan untuk mensintesis penelitian kualitatif secara transparan dengan membuat tema baru.

Desain Penelitian

Fokus utama dari metode ini adalah mengumpulkan, mengevaluasi, dan menyintesis data dari hasil-hasil penelitian terdahulu yang relevan dengan isolasi BAL, teknik identifikasi berbasis , serta karakteristik fungsionalnya dalam produk susu.

Strategi Pencarian Literatur

Pencarian literatur dilakukan melalui basis data akademik daring untuk memastikan akses terhadap jurnal yang kredibel dan terbaru. Database: Google Scholar, ScienceDirect, PubMed, SpringerLink, dan ResearchGate. Kata Kunci yang digunakan adalah "Isolasi Bakteri Asam Laktat", "Identifikasi 16S rRNA", "Susu Fermentasi", "Bakteri Asam Laktat", "Pangan Fungsional". Kriteria Inklusi: Menggunakan Artikel penelitian yang diterbitkan pada tahun publikasi 2016–2026 dengan Topik isolasi dan identifikasi Bakteri Asam Laktat dari susu Menggunakan metode (misalnya 16S rRNA). Pencarian literatur dilakukan melalui: PubMed, Scopus dan Google Scholar. dengan menggunakan Kata kunci: "lactic acid bacteria", "isolation", "molecular identification", dan "milk". Kriteria Eksklusi: Artikel Tidak menggunakan sampel susu, Data tidak lengkap

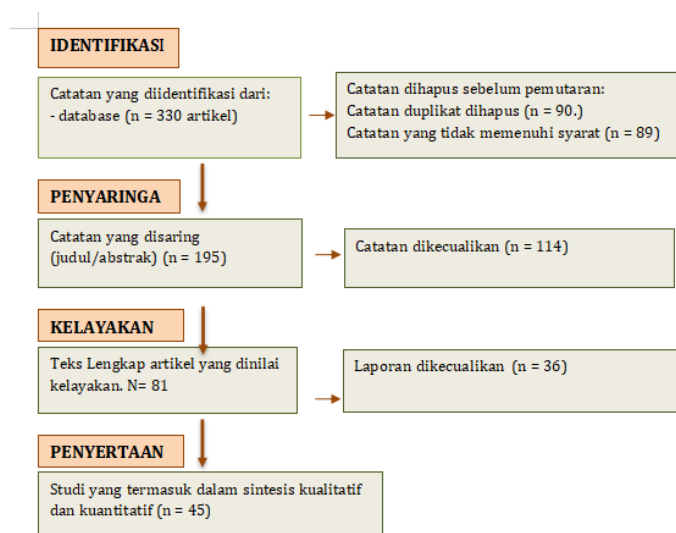
Tahapan Review

Proses tinjauan dilakukan melalui proses seleksi *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Gambar 1). Data yang Identifikasi berdasarkan kata kunci sebanyak 330 artikel. Dari 330 artikel dihilangkan sebanyak 176 artikel karena ada duplikasi. Artikel yang di screening sebanyak 154 berdasarkan judul dan abstrak. Hasil screening artikel yang tidak dipakai sebanyak 120 sehingga didapat 45 artikel Eligibility. Included: Menetapkan literatur final yang akan dianalisis dan disintesis ke dalam pembahasan.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari berbagai literatur dianalisis secara deskriptif kualitatif. Tahapan analisis meliputi:

- Komparasi: Membandingkan berbagai media isolasi dan primer (misalnya primer universal 27F dan 1492R).
- Sintesis: Merangkum temuan mengenai jenis-jenis BAL yang paling dominan ditemukan pada susu serta potensi kesehatannya.
- Evaluasi: Menilai efektivitas metode dibandingkan metode fenotipik konvensional dalam mengidentifikasi strain BAL.



Gambar 1. Proses seleksi *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi

Identifikasi bakteri asam laktat umumnya dilakukan menggunakan analisis gen 16S rRNA karena gen ini dimiliki semua bakteri dan memiliki daerah konservatif serta variabel yang berguna untuk identifikasi taksonomi hingga tingkat spesies. Metode ini lebih akurat dibandingkan identifikasi konvensional berbasis morfologi dan biokimia [17]. Identifikasi BAL umumnya dilakukan menggunakan gen 16S rRNA. Metode ini melibatkan amplifikasi DNA menggunakan PCR, diikuti dengan sekuensing dan analisis menggunakan database seperti BLAST untuk menentukan spesies bakteri [11]. Prosedur identifikasi bakteri asam laktat terdiri dari:

a. Isolasi bakteri asam laktat dari susu

Pengambilan sampel untuk isolasi mikroorganisme harus dilakukan secara aseptis guna mencegah kontaminasi dari lingkungan, peralatan, maupun operator yang dapat memengaruhi komposisi mikroba asli dalam sampel. Pada penelitian mikrobiologi susu, prosedur aseptik sangat penting terutama ketika sampel akan dianalisis menggunakan pendekatan seperti sekuensing gen 16S rRNA, karena

kontaminasi kecil sekalipun dapat menghasilkan bias pada profil komunitas mikroba. Setelah pengambilan, sampel susu umumnya segera disimpan pada suhu dingin sekitar 4 °C untuk memperlambat pertumbuhan mikroorganisme dan mempertahankan kondisi mikrobiota mendekati keadaan awal saat sampling. Penyimpanan pada suhu ini terbukti memengaruhi dinamika jumlah dan komposisi bakteri, namun tetap menjadi standar dalam penelitian karena mampu menekan laju pertumbuhan mikroba dibandingkan suhu yang lebih tinggi. Penyimpanan susu pada 4 °C selama periode tertentu masih memungkinkan analisis komunitas bakteri melalui metode kultur maupun identifikasi berbasis 16S rDNA, sehingga prosedur ini banyak digunakan dalam penelitian mikrobiologi susu modern.

b. Ekstraksi DNA Genomik.

Ekstraksi DNA genomik yaitu DNA genom BAL diekstraksi dari kultur murni menggunakan metode kimiawi maupun kit ekstraksi DNA komersial. Tahapan ini bertujuan memperoleh DNA dengan tingkat kemurnian tinggi yang dapat digunakan sebagai template pada proses PCR. Karena BAL termasuk bakteri gram positif dengan dinding sel peptidoglikan yang tebal, proses lisis umumnya dilakukan menggunakan buffer lisis, enzim lizozim, proteinase K, maupun perlakuan pemanasan untuk menghancurkan dinding sel dan melepaskan DNA genom [18]. Selain itu, metode ekstraksi DNA sangat menentukan keberhasilan analisis berbasis 16S rRNA karena efisiensi lisis memengaruhi kualitas dan kuantitas DNA yang diperoleh, terutama pada bakteri gram positif [19].

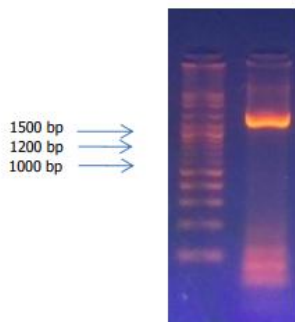
c. Amplifikasi Gen dengan menggunakan PCR.

Identifikasi BAL umumnya menggunakan gen 16S rRNA karena gen ini memiliki daerah konservatif dan variabel yang dapat membedakan hubungan filogenetik antar bakteri. Proses amplifikasi dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) berukuran sekitar 1,5 kilo basa (kb) menggunakan primer universal, misalnya 27F dan 1492R. Primer Forward: Contohnya 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') atau BactF1. Dan Primer Reverse: Contohnya 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') atau UniB1. Reaksi PCR terdiri atas denaturasi awal (95°C), diikuti siklus denaturasi (94°C), annealing penempelan primer (56°C), ekstensi/pemanjangan (72°C), dan ekstensi akhir [20].

d. Elektroforesis Gel Agarosa.

Visualisasi dilakukan dengan Elektroforesis Gel. Langkah ini bertujuan untuk memastikan bahwa proses PCR berhasil menggandakan gen target. Produk PCR dianalisis menggunakan gel agarosa 1–1,5%. Produk PCR dimasukkan ke dalam sumuran gel agarosa dan diberi arus listrik. Keberhasilan ditandai dengan munculnya pita DNA pada panjang tertentu, biasanya sekitar 1400–1500 pasang

basa (bp) untuk gen 16S rRNA lengkap. Fragmen DNA divisualisasikan di bawah sinar UV setelah pewarnaan. Pita DNA sekitar ± 1500 bp menunjukkan amplifikasi gen 16S rRNA berhasil. Hasil DNA elektrophoresis disajikan di Gambar 1



Gambar 1. DNA elektrophoresis [13]

e. Purifikasi dan Sekuensing DNA

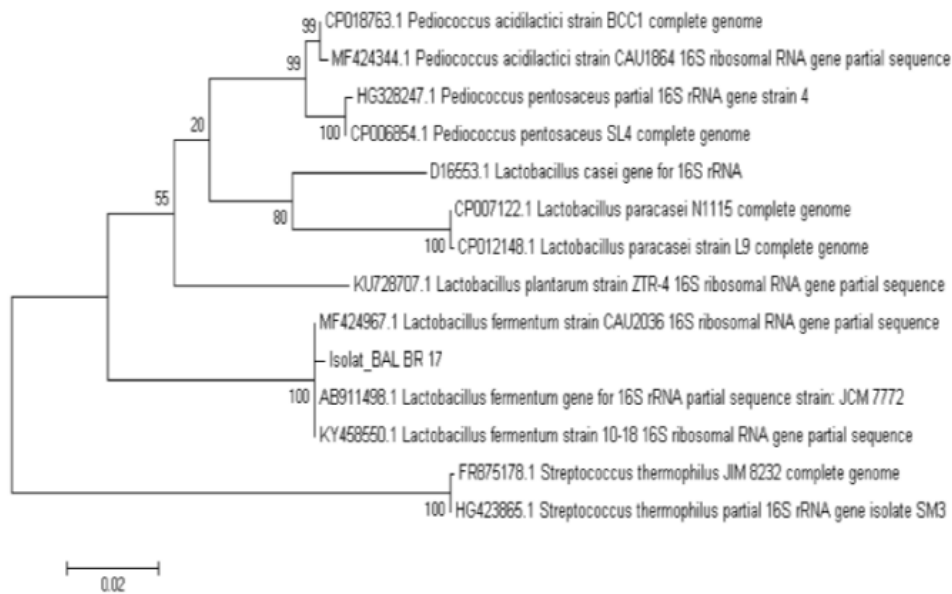
Produk PCR yang berhasil diamplifikasi dipurifikasi untuk menghilangkan primer, nukleotida bebas, dan kontaminan lain sebelum dilakukan proses sekuensing DNA. Sekuensing dilakukan menggunakan metode Sanger sequencing untuk menentukan urutan basa nukleotida gen 16S rRNA. Data urutan basa ini merupakan "sidik jari genetik" dari bakteri tersebut. Sekuensing merupakan suatu pengurutan basa nukleotida pada DNA yang kemudian dari hasil sekuensing diketahui sekuen basa untuk melihat kemiripan atau kecocokan berdasarkan proses BLAST (*Basic Logic Allignment Search Tool*) [11].

f. Analisis Bioinformatika

Hasil sekuensing dibandingkan dengan database GenBank menggunakan program BLAST (*Basic Local Allignment Search Tool*) dari NCBI. Persentase kemiripan sekuens digunakan untuk menentukan identitas bakteri. Kemiripan $\geq 97\%$ umumnya menunjukkan kesamaan tingkat spesies [21]. Selain itu, analisis filogenetik dilakukan menggunakan perangkat lunak seperti MEGA untuk mengetahui hubungan kekerabatan isolat dengan spesies bakteri lain.

g. Analisis Filogenetik

Data ini juga dapat digunakan untuk membuat pohon filogeni guna melihat hubungan kekerabatan antar isolat. Identitas spesies BAL berhasil ditentukan secara genotipik, yang jauh lebih akurat dibandingkan sekadar uji biokimia atau morfologi saja. Analisis filogenetik dilakukan menggunakan perangkat lunak seperti MEGA. Sekuens disejajarkan (*alignment*) dengan beberapa sekuens BAL acuan terdekat untuk melihat hubungan kekerabatan dan evolusinya dalam bentuk diagram pohon [22]. Pohon filogenetik isolat bakteri asam laktat disajikan di Gambar 2.



Gambar 2. Pohon filogenetik isolat bakteri asam laktat [13].

Efektivitas Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Susu

Isolasi BAL dari susu secara konsisten menggunakan media selektif de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) [23]. Susu merupakan media pertumbuhan yang ideal bagi BAL karena kandungan laktosa, protein, dan mikronutrientnya [24]. Pada tahap pengenceran bertingkat dan inkubasi pada kondisi anaerob/mikroaerofilik sangat krusial. Penggunaan kalsium karbonat (CaCO_3) pada media agar terbukti mempermudah identifikasi awal melalui pembentukan *clear zone* (zona bening) sebagai indikasi produksi asam laktat, yang merupakan ciri khas metabolisme BAL.

a. Ambiguitas Fenotipik (*Low Taxonomic Resolution*)

Metode identifikasi konvensional berbasis pada morfologi, pewarnaan Gram, dan uji biokimia memiliki daya diskriminasi yang rendah, terutama pada spesies yang berkerabat dekat. Identifikasi berbasis fenotipik sering menghasilkan misidentifikasi karena keterbatasan dalam membedakan spesies yang secara genetik berbeda tetapi fenotipnya serupa [25]. Selain itu, profil fermentasi karbohidrat yang digunakan dalam sistem seperti API sering bersifat tumpang tindih dan tidak stabil, sehingga menyebabkan ambiguitas taksonomi. API sering bersifat tumpang tindih dan tidak stabil sehingga dapat menimbulkan ambiguitas taksonomi, terutama pada identifikasi bakteri yang berkerabat dekat. Pada identifikasi menggunakan gen 16S rRNA, beberapa spesies memiliki kemiripan sekuens yang sangat tinggi sehingga sulit dibedakan secara akurat hanya berdasarkan satu marker genetik. Selain itu, perubahan nomenklatur dan pembaruan database menyebabkan klasifikasi bakteri sering mengalami revisi, sehingga hasil identifikasi dapat berbeda antar database maupun metode analisis [26]. Karakter

fenotipik BAL sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti pH, suhu, dan media pertumbuhan. Literatur menunjukkan bahwa ekspresi gen tidak selalu terefleksi dalam fenotip, karena bergantung pada kondisi kultur [7]. Isolat yang sama dapat menunjukkan hasil uji biokimia berbeda. Perbedaan ini disebabkan reproduksibilitas BAL yang rendah didalam laboratorium. Pertumbuhan mikrobiologi dapat berubah akibat stress lingkungan, sehingga mengaburkan identifikasi berbasis fenotip [20]. Metode fenotipik tidak cukup sensitif untuk mendeteksi BAL dalam kondisi stres sehingga dapat terjadi kegagalan deteksi [27].

b. Waktu Analisis Lama dan Intensif Tenaga Kerja

Metode konvensional membutuhkan tahapan bertingkat (isolasi, pemurnian, uji biokimia) dan waktu relatif lama (beberapa hari hingga minggu), dan memerlukan banyak media dan interpretasi manual [27]. Interpretasi hasil (misalnya perubahan warna uji fermentasi) bersifat subjektif, meningkatkan potensi human error. Pada metode hasil yang diperoleh lebih cepat, lebih reproducibile, dan dapat dibandingkan secara global melalui database (misalnya GenBank)[28].

Transformasi dari Identifikasi Fenotipik ke

Keterbatasan identifikasi konvensional (uji morfologi, pewarnaan Gram, dan uji biokimia), menyebabkan perubahan cara identifikasi ke arah identifikasi . Identifikasi khususnya menggunakan sekuensing gen 16S rRNA. Identifikasi mempunyai presisi tinggi. Metode identifikasi mampu membedakan spesies yang secara fenotipik sangat mirip. Analisis Filogenetik: dengan menggunakan perangkat lunak seperti BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) dan pembuatan pohon filogenetik memungkinkan peneliti melihat kekerabatan isolat dengan strain standar yang diakui secara internasional di GenBank. Identifikasi lebih efisiensi jika dibanding identifikasi konvensional meskipun biaya operasional lebih tinggi. Hasil yang diperoleh dari identifikasi lebih akurat dan jauh lebih stabil karena informasi genetik tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan pertumbuhan [24]. Terjadi pergeseran paradigma dalam mikrobiologi dari metode konvensional menuju identifikasi berbasis gen 16S rRNA. Pergeseran ini didorong oleh keterbatasan metode fenotipik serta meningkatnya kebutuhan akan akurasi dalam identifikasi mikroba, khususnya pada BAL yang memiliki keragaman tinggi.

a. Presisi Tinggi (*High Taxonomic Resolution*)

Metode identifikasi , khususnya sekuensing gen 16S rRNA, terbukti memiliki akurasi yang jauh lebih tinggi dibanding metode fenotipik. Gen 16S rRNA mengandung daerah konservatif dan variabel, yang memungkinkan diferensiasi antar spesies secara akurat. Teknik ini mampu membedakan bakteri yang secara

fenotipik hampir identik. metode identifikasi lebih dapat diandalkan dan mampu membedakan spesies yang secara fenotipik tidak dapat dibedakan” [29]. Hal ini sangat penting pada BAL, misalnya: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, Kedua spesies tersebut memiliki karakter biokimia yang mirip, tetapi dapat dibedakan secara jelas melalui variasi sekuens genetik [30]. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu disajikan di Tabel 1.

Tabel 1. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu

| Isolate | | Bakteri Asam Laktat | Sumber |
|-------------------|-----------|---|--------|
| Jenis | Asal | | |
| Susu kambing | Nigeria | <i>Weissella cibaria</i> GM 93m3, <i>Weissella confusa</i> GM 92m1, <i>Pediococcus acidilactici</i> GM 18a, <i>Pediococcus pentosaceus</i> GM 23d, <i>Lactiplantibacillus pentosus</i> GM 102s4, <i>Limosilactobacillus fermentum</i> GM 30m1 | [23] |
| Dadih susu kerbau | Indonesia | <i>Lactobacillus plantarum</i> | [41] |
| Susu sapi | | <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Lactococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Leuconostoc</i> spp., <i>Pediococcus</i> spp., <i>Bifidobacteria</i> spp. | [42] |
| Susu sapi | Turkish | <i>Corynebacterium casei</i> ; <i>Enterococcus italicus</i> ; <i>Enterococcus durans</i> ; <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Laktis</i> ; <i>Lactobacillus paracasei</i> ; <i>Staphylococcus succinis</i> ; <i>Streptococcus parauberis</i> ; <i>Streptococcus uberis</i> | [43] |
| Dangke | Indonesia | <i>Enterococcus faecium</i> | [44] |
| Susu kambing | Nigeria | <i>Weissella cibaria</i> GM 93m3; <i>Weissella confusa</i> GM 92m1; <i>Pediococcus acidilactici</i> GM 18a; <i>Pediococcus pentosaceus</i> GM 23d; <i>Lactiplantibacillus pentosus</i> GM 102s4; <i>Limosilactobacillus fermentum</i> GM 30m1 | [45] |

b. Analisis Filogenetik dan Standarisasi Global

Keunggulan utama metode adalah kemampuannya dalam melakukan analisis filogenetik berbasis sekuens DNA. Sekuens gen 16S rRNA dapat dibandingkan menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Data dibandingkan dengan database global seperti GenBank (NCBI). Hasil analisis digunakan untuk membangun pohon filogenetik (*phylogenetic tree*) [31]. Selain identifikasi spesies, analisis sekuens 16S rRNA juga memungkinkan penyusunan pohon filogenetik (*phylogenetic tree*) untuk melihat hubungan evolusioner antar isolat bakteri. Studi dalam jurnal International Journal of Molecular Sciences menjelaskan bahwa identifikasi berbasis 16S rRNA sangat penting untuk memahami keragaman genetik dan hubungan filogenetik BAL, terutama karena tingginya variasi strain pada genus *Lactiplantibacillus*. Analisis filogenetik

dilakukan dengan membandingkan sekuens hasil isolasi dengan strain referensi menggunakan perangkat lunak seperti MEGA dan ClustalW sehingga hubungan kekerabatan antar bakteri dapat divisualisasikan secara ilmiah. Identifikasi memungkinkan analisis hubungan evolusioner antar strain. sangat penting untuk memahami keragaman genetik BAL yang tinggi [32]. Hasil identifikasi menjadi *reproducible* dan dapat diverifikasi secara global, berbeda dengan metode konvensional yang sering bersifat subjektif. Metode identifikasi molekuler memungkinkan standarisasi internasional dalam identifikasi mikroorganisme.

c. Efisiensi, Stabilitas, dan Reproducibility

Meskipun biaya awal metode lebih tinggi, literatur menunjukkan bahwa metode ini lebih efisien dan stabil dalam jangka panjang. Teknik berbasis DNA: lebih cepat dibanding uji biokimia bertingkat, tidak bergantung pada kondisi kultur, memiliki reproducibility tinggi. Selain itu, metode identifikasi: tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti pH, suhu, atau media dapat digunakan pada bakteri yang sulit dikultur. Metode identifikasi genotipik menghasilkan identifikasi yang lebih cepat, lebih andal, dan lebih reproducible dibanding metode fenotipik". Hasil identifikasi lebih konsisten antar laboratorium. Sangat penting untuk industri pangan dan pengembangan probiotik [33].

Potensi Bakteri Asam Laktat sebagai Agen Pangan Fungsional

Isolat BAL yang berhasil diidentifikasi secara dievaluasi potensi fungsionalnya. Kriteria utama pangan fungsional meliputi ketahanan terhadap saluran pencernaan: Isolat harus mampu bertahan pada pH rendah (lambung) dan toleran terhadap garam empedu, aktivitas antimikroba.

Bakteri Asam Laktat (BAL) banyak dimanfaatkan dalam pengembangan pangan fungsional karena mampu menghasilkan berbagai senyawa metabolit bioaktif, seperti asam organik, hidrogen peroksida, diasetil, dan bakteriosin yang bersifat antimikroba. Bakteriosin yang dihasilkan BAL diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sehingga berperan penting dalam meningkatkan keamanan pangan dan menjaga keseimbangan mikrobiota saluran pencernaan. Oleh karena itu, BAL tidak hanya berfungsi sebagai starter fermentasi, tetapi juga sebagai pengawet alami pada berbagai produk pangan fungsional [2].

Pangan fungsional mempunyai karakteristik probiotik yaitu identifikasi memastikan bahwa strain tersebut bukan merupakan patogen oportunistik dan aman dikonsumsi (*Generally Recognized as Safe / GRAS*) [34] [35]. Isolat BAL yang telah diidentifikasi secara (umumnya melalui sekuensing gen 16S rRNA), tahap berikutnya adalah evaluasi sifat fungsional sebagai kandidat probiotik. Tidak semua bakteri asam laktat (BAL) otomatis disebut probiotik; hanya strain tertentu

yang telah terbukti aman dan memberikan manfaat kesehatan yang dapat dikategorikan sebagai probiotik [36].

a. Ketahanan terhadap Saluran Pencernaan

Salah satu kriteria utama probiotik adalah kemampuan bertahan dalam kondisi ekstrem saluran gastrointestinal, terutama: pH rendah ($\pm 2-3$ di lambung) dan konsentrasi garam empedu ($\pm 0,3-3\%$ di usus halus) [37]. Hanya sebagian kecil isolat BAL yang mampu bertahan pada pH 2,0 dan garam empedu tinggi, sehingga lolos sebagai kandidat probiotik [36]. isolat BAL dengan survival rate tinggi pada pH 2-3 dan 0,3% empedu dipilih sebagai kandidat terbaik [38]. Toleransi terhadap asam dan empedu merupakan kriteria wajib seleksi probiotik karena kondisi ini menjadi hambatan utama selama transit di saluran cerna. Kemampuan ini menentukan apakah BAL dapat mencapai usus dalam keadaan hidup dan memberikan efek kesehatan [36].

b. Aktivitas Antimikroba

Bakteri Asam Laktat memiliki kemampuan menghasilkan berbagai metabolit bioaktif, seperti: asam organik (asam laktat, asetat), hidrogen peroksida, bakteriosin [9]. Bakteri Asam Laktat mampu menghambat patogen seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella* melalui produksi senyawa antimikroba. metabolit seperti bakteriosin berperan dalam biopreservasi pangan dan perlindungan mikrobiota usus. Bakteri Asam Laktat menghasilkan berbagai metabolit (termasuk bakteriosin dan asam organik) yang berkontribusi pada modulasi mikrobiota usus dan penghambatan patogen. Aktivitas antimikroba menjadi indikator penting dalam seleksi BAL sebagai agen probiotik dan pengawet alami [39].

c. Karakteristik Probiotik dan Keamanan (GRAS)

Evaluasi probiotik tidak hanya mencakup aspek fungsional, tetapi juga aspek keamanan. Strain probiotik harus bersifat non-patogen, tidak toksik, serta memiliki stabilitas genetik yang baik agar aman digunakan dalam pangan maupun produk kesehatan. Selain itu, strain probiotik umumnya harus memiliki status keamanan seperti *Generally Recognized as Safe* (GRAS). Identifikasi molekuler menggunakan analisis gen 16S rRNA menjadi sangat penting untuk memastikan bahwa strain yang digunakan tidak termasuk bakteri patogen oportunistik. Analisis genetik juga memungkinkan deteksi adanya gen berbahaya, seperti gen virulensi atau resistensi antibiotik yang berpotensi membahayakan konsumen. Oleh karena itu, identifikasi molekuler menjadi dasar penting dalam validasi keamanan strain probiotik sebelum diaplikasikan pada produk pangan fungsional [40].

D. SIMPULAN DAN SARAN

Identifikasi bakteri asam laktat menjadikan isolasi dan identifikasi yang efektif dan presisi tinggi. Isolate bakteri asam laktat sebagai pangan fungsional yaitu ketahanan terhadap saluran pencernaan, aktivitas antimikroba, karakteristik probiotik dan keamanan (GRAS).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan ucapan terima kasih kepada rektor dan Lembaga Penelitian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Purworejo atas hibah Internal TA 2025-2026 periode ke 2. Penulis juga mengucapkan pada rekan-rekan sesama dosen dan mahasiswa atas bantuannya dalam penyusunan artikel ini.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] R. E. Mudawaroch, S. Setiyono, L. M. Yusiati, and E. Suryanto, "Isolation and identification of lactic acid bacteria on boiler chicken," *Elkawnie: Journal of Islamic Science and Technology*, vol. 6, no. 2, pp. 287–301, 2020.
- [2] D. Bhattacharya, P. K. Nanda, M. Pateiro, J. M. Lorenzo, P. Dhar, and A. K. Das, "Lactic acid bacteria and bacteriocins: Novel biotechnological approach for biopreservation of meat and meat products," *Microorganisms*, vol. 10, no. 10, p. 2058, 2022.
- [3] L. Wang et al., "Effects of lactic acid bacteria isolated from Tibetan chickens on the growth performance and gut microbiota of broiler," *Frontiers in Microbiology*, vol. 14, p. 1171074, 2023.
- [4] M. Suphandi, M. Sugata, and T. J. Tan, "Aktivitas antimikroba bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu sapi di Indonesia," *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, pp. 111–119, 2023.
- [5] E. M. Suryani and A. Gaffar, "Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari susu kuda Bima (*Equus sp.*) yang berpotensi sebagai probiotik," *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, vol. 9, no. 2, pp. 102–108, 2024.
- [6] A. Y. Susilowati et al., "Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari susu kambing sebagai bakteri antagonis *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* penyebab foodborne disease," *Jurnal Teknologi Pangan*, vol. 6, no. 2, pp. 24–31, 2022.
- [7] D. Roy, A. Ye, P. J. Moughan, and H. Singh, "Composition, Structure, and Digestive Dynamics of Milk From Different Species—A Review," *Frontiers in Nutrition*, vol. 7, p. 577759, 2020, doi: 10.3389/fnut.2020.577759.
- [8] I. A. Pereira, R. M. Finger, and K. B. de Freitas, "Goat milk: Composition and quality," in *Milk Processing and Dairy Products Industry*, 2025, p. 109.
- [9] Z. Deng, K. Hou, J. Zhao, and H. Wang, "The probiotic properties of lactic acid bacteria and their applications in animal husbandry," *Current Microbiology*, vol. 79, no. 1, p. 22, 2022.
- [10] N. M. S. Dwijastuti, I. G. A. A. S. Dewi, N. P. S. Septiasari, and N. P. Widianari, "Karakterisasi isolat bakteri asam laktat asal urutan sebagai kandidat

- probiotik dengan ketahanan asam dan aktivitas antibakteri,” *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, vol. 16, no. 2, pp. 85–96, 2025.
- [11] G. T. Dzhakibaeva et al., “Molecular-genetic identification of lactic acid bacteria based on 16S rRNA gene sequences,” *Journal of International Scientific Publications*, 2015.
- [12] M. M. Abedin et al., “Lactic acid bacteria in the functional food industry: Biotechnological properties and potential applications,” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 64, no. 29, pp. 10730–10748, 2024.
- [13] R. E. Mudawaroch, S. Setiyono, L. M. Yusiati, and E. Suryanto, “Molecular identification of lactic acid bacteria from broiler chicken meat,” *Agroindustrial Journal*, vol. 10, no. 2, pp. 101–107, 2023.
- [14] M. N. Hamidah, L. Rianingsih, and R. Romadhon, “Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*,” *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, vol. 1, no. 2, pp. 11–21, 2019.
- [15] F. U. Datta et al., “Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat cairan rumen terhadap pertumbuhan *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumur agar,” *Jurnal Kajian Veteriner*, pp. 66–85, 2019.
- [16] A. Zapašnik, B. Sokołowska, and M. Bryła, “Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety,” *Foods*, vol. 11, no. 9, p. 1283, 2022.
- [17] M. N. Li et al., “16S rRNA gene sequencing for bacterial identification and infectious disease diagnosis,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 739, p. 150974, 2024.
- [18] H. Meruvu and S. T. Harsa, “Lactic acid bacteria: Isolation–characterization approaches and industrial applications,” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 63, no. 26, pp. 8337–8356, 2023.
- [19] G. V. M. Pereira et al., “Impact of DNA extraction methods on 16S rRNA-based profiling of bacterial communities in cheese,” *Journal of Microbiological Methods*, vol. 184, p. 106210, 2021, doi: 10.1016/j.mimet.2021.106210.
- [20] D. J. Lane, “16S/23S rRNA sequencing,” in *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, E. Stackebrandt and M. Goodfellow, Eds. New York, NY, USA: John Wiley & Sons, 1991, pp. 115–175.
- [21] N. S. M. Rizal et al., “Advantages and limitations of 16S rRNA next-generation sequencing for pathogen identification in the diagnostic microbiology laboratory: Perspectives from a middle-income country,” *Diagnostics*, vol. 10, no. 10, p. 816, 2020.
- [22] I. Aulia, “Analisis mtDNA berdasarkan profil gen 16S rRNA pada lebah tanpa sengat (Stingless bee) di Kabupaten Lampung Timur,” 2024.
- [23] N. Azizah, F. Widyastuti, M. R. Al-Gifari, and M. R. Pikoli, “Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat (BAL) dari yoghurt kemasan bermerk G,” in *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, vol. 5, no. 1, pp. 1323–1334, 2025.
- [24] M. O. Akinyemi, O. R. Ogunremi, R. A. Adeleke, and C. N. Ezekiel, “Probiotic potentials of lactic acid bacteria and yeasts from raw goat milk in Nigeria,” *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, vol. 16, no. 1, pp. 163–180, 2024.

- [25] A. Sharma, S. Lee, and Y. S. Park, "Molecular typing tools for identifying and characterizing lactic acid bacteria: A review," *Food Science and Biotechnology*, vol. 29, no. 10, pp. 1301–1313, 2020.
- [26] A. Endo, "Update on taxonomy and identification methods of lactic acid bacteria and recent studies toward a reclassification of the genus *Lactobacillus*," *Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria*, vol. 31, no. 1, pp. 3–9, 2020.
- [27] Z. S. Al-Kharousi, "Highlighting lactic acid bacteria in beverages: Diversity, fermentation, challenges, and future perspectives," *Foods*, vol. 14, no. 12, p. 2043, 2025.
- [28] P. M. Kaktcham et al., "Identification and characterization of lactic acid bacteria and yeasts from traditional fermented foods," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 103, pp. 8287–8303, 2019.
- [29] F. P. Douillard and W. M. de Vos, "Functional genomics of lactic acid bacteria: From food to health," *Microbial Cell Factories*, vol. 18, p. 36, 2019.
- [30] Z. Sun et al., "Comparative genomics of the genus *Lactobacillus* reveals robust phylogroups that provide the basis for reclassification," *BMC Genomics*, vol. 16, p. 651, 2015.
- [31] M. Hajigholizadeh, K. Mardani, M. Moradi, and A. Jamshidi, "Molecular detection, phylogenetic analysis, and antibacterial performance of lactic acid bacteria isolated from traditional cheeses, North-West Iran," *Food Science & Nutrition*, vol. 8, no. 11, pp. 6007–6013, 2020.
- [32] M. Skotniczny and P. Satora, "Molecular detection and identification of Plant-Associated *Lactiplantibacillus plantarum*," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 5, p. 4853, 2023.
- [33] A. Zawistowska-Rojek, T. Zaręba, and S. Tyski, "Microbiological testing of probiotic preparations," *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 19, no. 9, p. 5701, 2022.
- [34] P. J. Yeboah, N. D. Wijemanna, A. S. Eddin, L. L. Williams, and S. A. Ibrahim, "Lactic acid bacteria: Review on the potential delivery system as an effective probiotic," 2023.
- [35] D. Amenu and K. Bacha, "Probiotic potential and safety analysis of lactic acid bacteria isolated from Ethiopian traditional fermented foods and beverages," *Annals of Microbiology*, vol. 73, no. 1, p. 37, 2023.
- [36] S. Binda et al., "Criteria to qualify microorganisms as 'probiotic' in foods and dietary supplements," *Frontiers in Microbiology*, vol. 11, p. 1662, 2020.
- [37] M. Colombo, N. P. Castilho, S. D. Todorov, and L. A. Nero, "Beneficial properties of lactic acid bacteria naturally present in dairy production," *BMC Microbiology*, vol. 18, no. 1, p. 219, 2018.
- [38] R. Sharma, B. S. Sanodiya, D. Bagrodia, M. Pandey, A. Sharma, and P. S. Bisen, "Probiotic potential of lactic acid bacteria: Current status and applications," *Food Bioscience*, vol. 46, p. 101558, 2022.
- [39] P. G. Yap, Z. W. Lai, and J. S. Tan, "Bacteriocins from lactic acid bacteria: Purification strategies and applications in food and medical industries: A

- review,” Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, vol. 11, no. 1, p. 51, 2022.
- [40] N. C. Hernández-Delgado et al., “Antioxidant and anti-inflammatory properties of probiotic candidate strains isolated during fermentation of Agave (*Agave angustifolia* Haw),” *Microorganisms*, vol. 9, no. 5, p. 1063, 2021.
- [41] D. Abdullah, S. Poddar, R. P. Rai, E. Purwati, N. P. Dewi, and Y. E. Pratama, “Molecular identification of lactic acid bacteria: An approach to sustainable food security,” *Journal of Public Health Research*, vol. 10, no. 2 Suppl, p. jphr-2021, 2021.
- [42] Y. Taye, T. Degu, H. Fesseha, and M. Mathewos, “Isolation and identification of lactic acid bacteria from cow milk and milk products,” *The Scientific World Journal*, vol. 2021, no. 1, p. 4697445, 2021.
- [43] S. Doğan and G. Ç. Adıgüzel, “Isolation identification and molecular characterization of lactic acid bacteria from raw milk samples collected from Erzurum region,” *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, vol. 13, no. 1, pp. 111–117, 2024.
- [44] R. W. Kadir, R. Malaka, N. Nahariah, W. Wahniyathi, and F. A. Arief, “Isolation and characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional dairy product Dangke cheese using molecular 16S rRNA gene sequence PCR method,” *International Journal of Agriculture and Biosciences*, vol. 14, no. 4, pp. 614–620, 2025.
- [45] T. Ikombayev et al., “Functional properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk and cottage cheese,” *Journal of Agriculture and Food Research*, vol. 21, p. 101822, 2025.