

Isolasi dan Evaluasi Fenotip Bakteri Asam Laktat Asal Makanan Tradisional kecalok

Isolation and Phenotypic Evaluation of Lactic Acid Bacteria from Traditional Food Kecalok

Desi Liani, A. Arsyadi, & Rahmad Lingga*

Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Bangka Belitung, Indonesia

Disubmit: 21 April 2026; Direview: 10 Juni 2026; Disetujui: 18 Juli 2026

*Corresponding Email: linkgarahmad@gmail.com

Abstrak

Kecalok merupakan produk fermentasi tradisional khas Bangka Belitung yang dihasilkan melalui fermentasi spontan oleh mikroorganisme alami, termasuk bakteri asam laktat (BAL). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengevaluasi karakteristik fenotipik BAL yang berasal dari kecalok tradisional sebagai kandidat probiotik. Isolasi dilakukan menggunakan media de Man, Rogosa, and Sharpe Agar (MRSA) yang ditambahkan kalsium karbonat (CaCO_3), kemudian dilanjutkan dengan karakterisasi morfologi, mikroskopis, biokimia, hemolisis, toleransi terhadap pH dan suhu, kemampuan adhesi, aktivitas antimikroba, serta sensitivitas terhadap antibiotik. Sebanyak 14 isolat berhasil diperoleh, kemudian diseleksi berdasarkan karakteristik bakteri asam laktat dan aspek keamanan. Empat isolat memenuhi karakteristik fenotipik utama sebagai BAL dan menunjukkan kemampuan bertahan pada kondisi asam, variasi suhu, aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen, serta kemampuan adhesi yang mendukung potensinya sebagai probiotik. Identifikasi berdasarkan karakter fenotipik mengindikasikan bahwa isolat tersebut termasuk ke dalam genus *Enterococcus* dan *Lactobacillus*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kecalok tradisional merupakan sumber bakteri asam laktat indigenous yang berpotensi dikembangkan sebagai kandidat probiotik dan kultur starter pada produk pangan fermentasi. Namun demikian, identifikasi molekuler masih diperlukan untuk mengonfirmasi identitas isolat secara lebih akurat.

Kata kunci: *Enterococcus*; Karakterisasi Fenotipik; *Lactobacillus*; Pangan Fermentasi; Pangan Fungsional

Abstract

Kecalok is a traditional fermented shrimp product from Bangka Belitung produced through spontaneous fermentation by naturally occurring microorganisms, including lactic acid bacteria (LAB). This study aimed to isolate and phenotypically evaluate LAB isolated from traditional kecalok as potential probiotic candidates. LAB were isolated using de Man, Rogosa, and Sharpe Agar (MRSA) supplemented with calcium carbonate (CaCO_3), followed by morphological, microscopic, biochemical, hemolytic, pH and temperature tolerance, adhesion, antimicrobial activity, and antibiotic susceptibility analyses. A total of 14 isolates were successfully obtained and subsequently screened based on their lactic acid bacterial characteristics and safety profiles. Four isolates fulfilled the primary phenotypic characteristics of LAB and demonstrated tolerance to acidic conditions and various incubation temperatures, antimicrobial activity against pathogenic bacteria, and adhesion ability, indicating their probiotic potential. Phenotypic identification suggested that the selected isolates belonged to the genera *Enterococcus* and *Lactobacillus*. These findings indicate that traditional kecalok represents a promising source of indigenous LAB with potential applications as probiotic candidates and starter cultures for fermented food products. However, molecular identification is still required to confirm the taxonomic identity of the isolates more accurately.

Keywords: *Enterococcus*; Phenotypic Characterization; *Lactobacillus*; Fermented Foods; Functional Foods

How to Cite: Liani, D., Arsyadi, A. & Lingga, R. (2026). Isolasi dan Evaluasi Fenotip Bakteri Asam Laktat Asal Makanan Tradisional kecalok. *Journal of Natural Sciences*. 7(2): 165-177



PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman sumber daya hayati dan budaya yang menghasilkan berbagai pangan fermentasi tradisional, seperti bekasam, rusip, tempoyak, dadih, tempe, dan kecalok (Putri *et al.*, 2017). Fermentasi tidak hanya berfungsi meningkatkan cita rasa, memperpanjang masa simpan, dan memperbaiki nilai gizi pangan, tetapi juga menghasilkan mikroorganisme bermanfaat, terutama bakteri asam laktat (BAL), yang berperan penting dalam proses fermentasi serta memiliki potensi sebagai probiotik (Nurita *et al.*, 2023; Pribadhi *et al.*, 2021).

Kecalok merupakan produk fermentasi tradisional berbahan dasar udang rebon yang diproduksi melalui fermentasi spontan tanpa penambahan kultur starter sehingga melibatkan mikroorganisme indigenous yang berasal dari bahan baku dan lingkungan (Helmi *et al.*, 2022). Selama fermentasi, BAL menghasilkan asam laktat yang menurunkan pH, membentuk cita rasa khas, dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen (Amaliah *et al.*, 2018; Helmi *et al.*, 2022). Selain itu, BAL diketahui berkontribusi dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus dan mendukung kesehatan inang melalui aktivitas probiotiknya (FAO/WHO, 2002).

Beberapa penelitian telah melaporkan isolasi BAL dari berbagai produk fermentasi hasil laut Indonesia, seperti bekasam, rusip, dan cincalok (Lestari *et al.*, 2021; Pribadhi *et al.*, 2021). Namun, evaluasi fenotipik BAL yang diisolasi dari kecalok tradisional masih terbatas. Sebagian besar penelitian hanya berfokus pada isolasi dan identifikasi, sedangkan karakteristik yang berkaitan dengan potensi probiotik, seperti aspek keamanan, toleransi fisiologis, kemampuan adhesi, aktivitas antimikroba, dan sensitivitas terhadap antibiotik, belum dievaluasi secara komprehensif. Padahal, eksplorasi BAL indigenous penting untuk memperoleh strain yang beradaptasi dengan matriks pangan lokal dan berpotensi dikembangkan sebagai kultur starter maupun agen probiotik pada pangan fungsional berbasis biodiversitas mikroba Indonesia.

Menurut pedoman FAO/WHO (2002), kandidat probiotik harus memenuhi persyaratan keamanan, mampu bertahan pada kondisi saluran pencernaan, memiliki kemampuan adhesi, serta menunjukkan aktivitas antimikroba. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengevaluasi secara komprehensif karakteristik fenotipik BAL indigenous yang diisolasi dari kecalok tradisional melalui karakterisasi morfologi, fisiologi, biokimia, aspek keamanan, serta sifat-sifat probiotik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi BAL asal kecalok



sebagai kandidat probiotik dan kultur starter untuk pengembangan pangan fermentasi fungsional.

METODE PENELITIAN

Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel kecalok dibuat dari udang rebon (*Acetes sp.*) melalui fermentasi spontan dengan penambahan garam dan gula selama tiga hari pada suhu ruang (28–30°C) mengacu pada Helmi *et al.* (2022), kemudian digunakan sebagai sumber isolasi bakteri asam laktat (BAL). Kultur *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* digunakan sebagai bakteri indikator pada uji aktivitas antimikroba.

Penelitian dilaksanakan pada Juni–September 2025 di Laboratorium Dasar Terpadu, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Bangka Belitung, menggunakan sampel kecalok yang dibuat di Desa Batu Belubang, Kabupaten Bangka Tengah.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Sebanyak 1 g sampel diencerkan secara bertingkat menggunakan NaCl steril hingga 10^{-9} . Suspensi ditanam pada MRSA yang mengandung 1% CaCO_3 menggunakan metode pour plate dan diinkubasi pada 37°C selama 48 jam. Koloni yang menghasilkan zona bening dimurnikan dan digunakan sebagai isolat BAL untuk karakterisasi lebih lanjut (Subagiyo & Ali, 2011).

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Karakterisasi Makroskopis

Isolat BAL dikarakterisasi berdasarkan morfologi koloni yang meliputi bentuk, warna, tepi, elevasi, dan sifat optik mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Pradhan *et al.*, 2019). Isolat dengan karakteristik berbeda kemudian dimurnikan pada media MRSA.

Karakterisasi Mikroskopis

Tahapan ini dilakukan melalui pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora menggunakan malachite green untuk menentukan sifat Gram, morfologi sel, dan kemampuan pembentukan endospora sesuai metode Sunaryo dan Marwanto (2013) serta Amaliah *et al.* (2018).



Uji Biokimia

Isolat BAL dikarakterisasi secara biokimia melalui uji katalase, motilitas, *Methyl Red* (MR), dan *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Uji katalase dilakukan menggunakan H₂O₂ 3% untuk mendeteksi aktivitas enzim katalase (Ismail *et al.*, 2017). Motilitas diamati pada media *Sulfide Indole Motility* (SIM), sedangkan uji MR dilakukan menggunakan media MR-VP untuk mengevaluasi kemampuan fermentasi yang menghasilkan asam stabil (Kursia *et al.*, 2021). Kemampuan fermentasi karbohidrat, pembentukan gas, dan produksi H₂S diamati menggunakan media TSIA sesuai metode Khair *et al.* (2021).

Uji Hemolisis

Satu ose isolat BAL digoreskan pada media blood agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas hemolisis diamati sebagai α -hemolisis (zona kehijauan), β -hemolisis (zona bening), atau γ -hemolisis (tidak ada perubahan). Koloni dengan β -hemolisis menunjukkan potensi patogenitas (Kiani, 2025).

Uji Potensi Probiotik

Populasi BAL

Populasi BAL ditentukan pada media *de Man, Rogosa, and Sharpe Broth* (MRSB) dan media prebiotik berbasis bungkil inti sawit mengacu pada Azhar *et al.* (2017). Setelah inkubasi, jumlah BAL dihitung menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) pada media MRSA dan dinyatakan sebagai CFU/mL (Fitri, 2023).

Kadar Asam Laktat

Kadar asam laktat ditentukan menggunakan metode titrasi asam-basa (Kurnia *et al.*, 2020). Supernatan kultur dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N menggunakan indikator fenolftalein hingga mencapai titik akhir titrasi, kemudian kadar asam laktat dihitung berdasarkan volume titran yang digunakan.

Uji Adhesi

Kemampuan adhesi BAL sebagai kandidat probiotik diuji secara *in vitro* menggunakan plat *stainless steel* (SS) mengacu pada metode Saraswati (2019) dengan modifikasi. Setelah inkubasi, biofilm yang terbentuk pada permukaan SS dipanen secara

aseptik, kemudian jumlah bakteri yang melekat ditentukan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) pada media MRSA sesuai Han *et al.* (2017).

Uji Fisiologis

Uji toleransi suhu dan pH dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan BAL bertahan pada berbagai kondisi lingkungan. Isolat diinokulasikan ke dalam media MRS broth dan diinkubasi pada variasi suhu (15, 27, 37, dan 45°C) serta variasi pH (2,5; 4; 6; dan 8) sesuai metode Kursia *et al.* (2020) dan Melia *et al.* (2022). Pertumbuhan isolat diamati berdasarkan terbentuknya kekeruhan media setelah inkubasi.

Uji Sensitivitas Antibiotik

Sensitivitas antibiotik isolat BAL terhadap ampicilin, kloramfenikol, dan tetrasiklin diuji menggunakan metode difusi cakram sesuai Puspawati *et al.* (2021). Diameter zona hambat diukur setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk menentukan sensitivitas masing-masing isolat terhadap antibiotik.

Uji Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba BAL terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diuji menggunakan metode difusi sumur sesuai Susanto *et al.* (2012). Kultur bakteri uji diinokulasikan pada media Nutrient Agar, kemudian sumur diisi dengan kultur BAL dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antimikroba ditentukan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur.

Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri diidentifikasi dengan membandingkan karakteristiknya dengan referensi dari *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dan literatur ilmiah terkait.

Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif dengan mengevaluasi hasil isolasi bakteri, karakterisasi fenotipik, uji biokimia dan fisiologis, hemolisis, resistensi antibiotik, aktivitas antimikroba, serta potensi probiotik. Hasil disajikan dalam bentuk tabel, gambar, dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat Asal Kecalok



Sebanyak 14 isolat BAL berhasil diisolasi dari kecalok dan seluruhnya membentuk zona bening pada media MRSA yang mengandung 1% CaCO_3 . Pembentukan zona bening menunjukkan kemampuan isolat menghasilkan asam organik yang melarutkan CaCO_3 , sehingga menjadi indikator awal aktivitas fermentatif BAL. Kemampuan ini menunjukkan bahwa BAL berperan aktif selama fermentasi kecalok melalui produksi asam yang menurunkan pH, menciptakan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi mikroorganisme pembusuk maupun patogen. Hasil ini mendukung laporan Nurhamidah *et al.* (2019) bahwa fermentasi kecalok didominasi oleh BAL penghasil asam yang berpotensi dikembangkan sebagai kandidat probiotik.

Karakteristik Morfologi Isolat BAL

Pengamatan morfologi koloni menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki bentuk bulat (*circular*), tepi rata (*entire*), elevasi cembung (*convex*), dengan ukuran koloni bervariasi dan didominasi warna putih susu hingga putih kekuningan (Prastujati *et al.*, 2022).

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi BAL Asal Kecalok

Kode Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Margin	Elevansi	Ukuran	Warna
K1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Moderate</i>	Putih Kekuningan
K2	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Small</i>	Putih Susu
K3	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Punctiform</i>	Putih Susu
K4	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Small</i>	Putih Susu
K5	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Punctiform</i>	Putih Susu
K6	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Small</i>	Putih Kekuningan
K7	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Small</i>	Putih Susu
K8	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Moderate</i>	Putih Susu
K9	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Small</i>	Putih Susu
K10	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Punctiform</i>	Putih Susu
K11	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Small</i>	Putih Susu
K12	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Punctiform</i>	Putih Kekuningan
K13	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Punctiform</i>	Putih Susu
K14	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>ConveX</i>	<i>Punctiform</i>	Putih Susu

Karakteristik tersebut sesuai dengan morfologi umum BAL yang tumbuh pada media MRS agar. Variasi ukuran dan warna koloni diduga mencerminkan perbedaan kemampuan setiap isolat dalam memanfaatkan nutrisi serta laju pertumbuhan selama inkubasi, sedangkan keseragaman bentuk koloni menunjukkan bahwa isolat memiliki karakter fenotipik yang relatif serupa (Putri *et al.*, 2020). Meskipun karakter morfologi belum dapat digunakan untuk menentukan spesies, pengamatan ini penting sebagai tahap awal seleksi sebelum dilakukan karakterisasi mikroskopis dan biokimia.

Karakteristik Sel BAL

Hasil pewarnaan menunjukkan bahwa seluruh isolat bersifat Gram positif dan tidak membentuk endospora, sedangkan morfologi sel didominasi bentuk kokus dengan dua isolat berbentuk basil.

Tabel 2. Karakteristik Mikroskopis Pewarnaan Gram dan Endospora

Kode Isolat	Bentuk	Morfologi Sel Gram (+/-)	Endospora (+/-)
K1	<i>coccus</i>	+	-
K2	<i>coccus</i>	+	-
K3	<i>coccus</i>	+	-
K4	<i>coccus</i>	+	-
K5	<i>coccus</i>	+	-
K6	<i>coccus</i>	+	-
K7	<i>coccus</i>	+	-
K8	<i>coccus</i>	+	-
K9	<i>coccus</i>	+	-
K10	<i>coccus</i>	+	-
K11	<i>bacil</i>	+	-
K12	<i>coccus</i>	+	-
K13	<i>coccus</i>	+	-
K14	<i>bacil</i>	+	-

Dinding sel Gram positif yang kaya peptidoglikan memungkinkan sel mempertahankan kompleks kristal violet selama proses pewarnaan, sehingga tampak berwarna ungu (Kurnia *et al.*, 2020). Tidak ditemukannya endospora mengindikasikan bahwa isolat merupakan bakteri vegetatif yang aktif melakukan fermentasi, sesuai dengan karakter umum BAL. Karakteristik ini memperkuat hasil isolasi bahwa mikroorganisme yang diperoleh berasal dari kelompok BAL yang berpotensi dimanfaatkan sebagai kandidat probiotik (Madigan *et al.*, 2019).

Karakterisasi Biokimia Isolat BAL

Uji biokimia menunjukkan bahwa isolat K1, K8, K10, K13, dan K14 memiliki karakteristik yang sesuai dengan BAL, yaitu katalase negatif dan methyl red positif.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Isolat BAL Asal Kecak

Kode Isolat	Uji Biokimia						
	Katalase	Motility	MR	Slant	Butt	Gas	H ₂ S
K1	-	+	+	K	K	-	-
K2	+	-	-	K	K	-	-



Kode Isolat	Uji Biokimia						
	Katalase	Motility	MR	TSIA			
				Slant	Butt	Gas	H ₂ S
K3	+	-	-	K	K	-	-
K4	+	-	-	K	K	-	-
K5	+	-	-	K	K	-	-
K6	+	-	-	K	K	-	-
K7	+	-	-	K	K	-	-
K8	-	+	+	K	K	-	-
K9	+	-	-	K	K	-	-
K10	-	+	+	K	K	-	-
K11	+	-	-	K	K	-	-
K12	+	-	-	K	K	-	-
K13	-	+	+	K	K	-	-
K14	-	+	+	K	K	-	-

Hasil katalase negatif menunjukkan bahwa isolat tidak menghasilkan enzim katalase sehingga metabolisme energi lebih didominasi jalur fermentasi dibandingkan respirasi aerob (Utama *et al.*, 2018). Reaksi positif pada uji methyl red mengindikasikan kemampuan menghasilkan asam dalam jumlah cukup untuk menurunkan pH media (Widowati *et al.*, 2021).

Seluruh isolat menunjukkan reaksi K/K pada media TSIA tanpa pembentukan gas maupun H₂S, yang mengindikasikan bahwa isolat tidak memanfaatkan komponen gula pada media tersebut secara optimal (Cappuccino & Welsh, 2017). Berdasarkan hasil karakterisasi biokimia, lima isolat dipilih untuk tahap pengujian potensi probiotik.

Uji Hemolisis

Uji hemolisis menunjukkan bahwa empat isolat (K1, K8, K13, dan K14) bersifat γ -hemolitik, sedangkan isolat K10 menunjukkan β -hemolisis.

Tabel 4. Hasil Uji Hemolisis Isolat BAL pada Media *Blood Agar*

Kode Isolat	Uji Hemolisis	
	Hasil Uji	Keterangan
K1	Gamma	Non Patogen
K8	Gamma	Non Patogen
K10	Beta	Patogen
K13	Gamma	Non Patogen
K14	Gamma	Non Patogen

Tidak adanya aktivitas hemolisis pada keempat isolat menunjukkan bahwa isolat tersebut tidak menghasilkan hemolisin yang mampu melisis eritrosit, sehingga memiliki tingkat keamanan yang lebih baik sebagai kandidat probiotik (Majumder *et al.*, 2022). Sebaliknya, aktivitas β -hemolisis pada isolat K10 mengindikasikan adanya potensi virulensi sehingga isolat tersebut dieliminasi dari tahap pengujian berikutnya. Hasil ini

menunjukkan bahwa uji hemolisis merupakan tahapan penting dalam seleksi probiotik untuk memastikan isolat yang dipilih tidak berpotensi menimbulkan risiko bagi inangnya.

Uji Potensi Isolat BAL Sebagai Probiotik

Populasi Bakteri Asam Laktat

Populasi BAL pada media MRSB maupun media prebiotik menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu tumbuh dengan baik hingga mencapai kisaran 10^6 – 10^8 CFU/mL. Tingginya jumlah sel menunjukkan bahwa isolat memiliki kemampuan beradaptasi terhadap media pertumbuhan dan memanfaatkan sumber karbon yang tersedia untuk menunjang proliferasi.

Tabel 5. Populasi Bakteri Asam Laktat pada Media MRSB dan Prebiotik

Kode Isolat	Jumlah Koloni (CFU/mL)	
	Media MRSB	Media Prebiotik
K1	$2,6 \times 10^6$	$2,2 \times 10^7$
K8	$1,8 \times 10^6$	$4,5 \times 10^8$
K13	$1,6 \times 10^7$	$2,1 \times 10^8$
K14	$2,8 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$

Pertumbuhan yang baik juga mencerminkan aktivitas metabolisme yang optimal selama fermentasi, sehingga mendukung produksi metabolit seperti asam organik yang berperan dalam mempertahankan viabilitas serta aktivitas probiotik (Melia *et al.*, 2022; Astuti *et al.*, 2019). Populasi tersebut telah memenuhi kisaran minimal yang umumnya digunakan sebagai salah satu indikator kandidat probiotik (Azhar *et al.*, 2017).

Kadar Asam Laktat

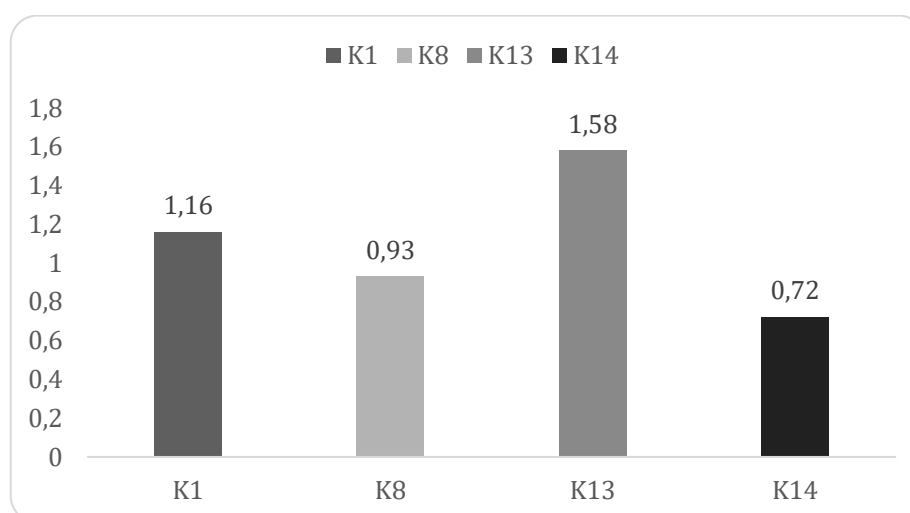
Seluruh isolat menghasilkan asam laktat dengan kadar yang bervariasi pada media MRSB maupun media prebiotik. Perbedaan kadar asam laktat menunjukkan adanya variasi kemampuan metabolisme antarisolat dalam memanfaatkan substrat sebagai sumber energi.

Tabel 6. Total Kadar Asam Laktat dan Perubahan pH Media MRSB dan Media Prebiotik

Kode Isolat	Kadar Asam Laktat (%)	pH Awal	pH Akhir	Δ pH	Kadar Asam Laktat (%)	pH Awal	pH Akhir	Δ pH
		Media MRSB				Media Prebiotik (Bungkil Sawit)		
K1	1,44	6,4	4,08	2,32	0,54	6,0	3,46	2,54
K8	0,54	6,4	3,86	2,54	0,18	6,0	3,23	2,77
K13	0,54	6,4	3,86	2,54	0,36	6,0	3,38	2,62
K14	1,26	6,4	4,05	2,35	0,18	6,0	3,23	2,77

Produksi asam laktat berperan menurunkan pH lingkungan sehingga menghambat pertumbuhan mikroorganisme kompetitor dan meningkatkan stabilitas fermentasi (Abate, 2016; Widowati *et al.*, 2021). Isolat dengan produksi asam yang lebih tinggi menunjukkan aktivitas fermentatif yang lebih baik, sehingga berpotensi memberikan efek antagonistik yang lebih besar terhadap bakteri patogen.

Uji Adhesi Bakteri Asam Laktat



Gambar 1. Persentase Adhesi BAL pada permukaan lempeng *stainless steel*

Seluruh isolat menunjukkan kemampuan melekat pada permukaan *stainless steel* dengan tingkat adhesi yang berbeda, dan isolat K13 memiliki nilai adhesi tertinggi. Perbedaan kemampuan adhesi ini diduga berkaitan dengan variasi sifat permukaan sel, seperti hidrofobisitas, keberadaan protein adhesin, dan produksi eksopolisakarida yang memfasilitasi proses perlekatan. Kemampuan adhesi merupakan salah satu karakter penting kandidat probiotik karena mencerminkan potensi isolat untuk berkolonisasi pada saluran pencernaan, sehingga dapat bertahan lebih lama dan bersaing dengan mikroorganisme patogen dalam memperoleh ruang maupun nutrisi (Putri *et al.*, 2021).

Uji Fisiologis

Tabel 7. Uji Fisiologis Terhadap Isolat BAL Asal Kecalok

Kode Isolat	Uji Fisiologis							
	Suhu				pH			
	15°C	27°C	37°C	45°C	2,5	4	6	8
K1	++	++	++	++	+	+	++	++
K8	++	++	++	+	+	+	++	++
K13	++	++	++	+	+	+	++	++
K14	++	++	++	++	+	+	++	++

Ket: + (Keruh dan sedikit endapan)

++ (Keruh dan banyak endapan)

Hasil uji fisiologis menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu tumbuh pada rentang pH 2,5–8 dan suhu 15–45°C. Kemampuan bertahan pada pH 2,5 mengindikasikan bahwa isolat memiliki mekanisme adaptasi terhadap kondisi asam, seperti mempertahankan keseimbangan pH intraseluler dan menjaga stabilitas membran sel, sehingga tetap dapat melangsungkan metabolisme (Khusnan *et al.*, 2017). Selain itu, kemampuan tumbuh pada berbagai suhu menunjukkan bahwa isolat memiliki toleransi fisiologis yang baik terhadap perubahan lingkungan (Zhang *et al.*, 2017). Karakteristik tersebut merupakan salah satu persyaratan penting bagi kandidat probiotik karena memungkinkan bakteri tetap hidup selama proses pengolahan pangan maupun saat melewati saluran pencernaan.

Uji Sensitivitas Bakteri Asam Laktat (BAL) terhadap Antibiotik

Keempat isolat menunjukkan respons yang berbeda terhadap antibiotik ampisilin, kloramfenikol, dan tetrasiklin. Variasi ini mengindikasikan adanya perbedaan karakter fisiologis antarisolat dalam merespons senyawa antimikroba.

Tabel 8. Sensitivitas Isolat Bakteri Asam Laktat Terhadap Antibiotik

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm) Terhadap Antibiotik					
	Ampisilin		Tetrasiklin		Kloramfenikol	
	X±SD	Ket	X±SD	Ket	X±SD	Ket
K1	19,35 ± 4,64	I	15,97 ± 1,74	R	15,76 ± 1,53	R
K8	15,04 ± 0,21	R	14,49 ± 0,53	R	13,91 ± 0,48	R
K13	12,32 ± 0,90	R	12,35 ± 0,79	R	10,53 ± 0,51	R
K14	25,72 ± 1,24	S	14,61 ± 0,55	R	16,01 ± 1,79	I

Keterangan: Sensitif = ≥ 21 mm; Intermediet = 16-20 mm; Resisten = ≤ 15 mm (Vikola *et al.*, 2006).

X (Rata-Rata)

SD (Standar Deviasi)

Meskipun beberapa isolat menunjukkan sifat resisten, hasil pengujian ini belum dapat memastikan apakah resistensi tersebut bersifat intrinsik atau diperoleh melalui transfer gen. Pada bakteri asam laktat, evaluasi resistensi antibiotik penting dilakukan karena sebagian sifat resistensi dapat merupakan karakter alami, tetapi gen resistensi yang dapat dipindahkan berpotensi menimbulkan risiko keamanan bagi inang maupun mikrobiota usus (Dec *et al.*, 2017). Oleh karena itu, identifikasi molekuler diperlukan untuk memastikan keamanan isolat sebelum dikembangkan sebagai probiotik.

Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat (BAL) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*



Seluruh isolat mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan kategori daya hambat lemah hingga sedang, sedangkan isolat K13 menghasilkan zona hambat terbesar.

Tabel 9. Hasil Uji Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Kode Isolate	Diameter Zona Hambat (mm) Terhadap Bakteri			
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	X±SD	Ket	X±SD	Ket
K1	10,15 ± 0,10	L	11,32 ± 0,15	S
K8	11,10 ± 0,04	S	11,06 ± 0,06	S
K13	11,58 ± 0,18	S	10,83 ± 0,30	L
K14	11,43 ± 0,35	S	10,48 ± 0,27	L

Keterangan: ≤ 5 mm lemah (L); 6-10 mm sedang (S); 11-20 mm kuat (K); ≥ 21 mm sangat kuat (SK) (Susanto, et al., 2012)

Aktivitas antimikroba tersebut menunjukkan bahwa isolat menghasilkan metabolit yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Penghambatan diduga merupakan hasil kerja sinergis asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang menurunkan pH lingkungan serta mengganggu integritas membran sel bakteri target (Pribadhi, 2021). Perbedaan diameter zona hambat antarisolat menunjukkan bahwa kemampuan menghasilkan senyawa antimikroba dipengaruhi oleh karakter metabolisme masing-masing isolat.

Identifikasi Isolat BAL

Tabel 10. Identifikasi Isolat BAL

Karakteristik Makroskopis	K1	K8	K13	K14
Bentuk	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>
Margin	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>
Elevasi	<i>Convex</i>	<i>Convex</i>	<i>Convex</i>	<i>Convex</i>
Ukuran	Moderate	Moderate	Punctiform	Punctiform
Warna	Putih kekuningan	Putih susu	Putih susu	Putih susu
Mikroskopis				
Gram	+	+	+	+
Endospora	-	-	-	-
Bentuk sel	Coccus	Coccus	Coccus	Bacil
Biokimia				
Katalase	-	-	-	-
Motilitas	-	+	-	-
Methyl Red	+	+	+	+
TSIA	K/K	K/K	K/K	K/K
Genus	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>

Identifikasi berdasarkan karakter morfologi, mikroskopis, fisiologis, dan biokimia menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh termasuk ke dalam genus *Enterococcus* dan *Lactobacillus*. Penentuan genus secara fenotipik memberikan gambaran awal mengenai

identitas isolat, namun belum mampu membedakan spesies secara akurat karena beberapa karakter dapat dimiliki oleh lebih dari satu genus BAL. Meskipun demikian, karakteristik yang diperoleh menunjukkan kesesuaian dengan sifat umum kedua genus tersebut yang banyak dilaporkan berasal dari produk fermentasi dan memiliki potensi sebagai probiotik (Rahayu *et al.*, 2019). Oleh karena itu, identifikasi molekuler, seperti analisis gen 16S rRNA, diperlukan untuk mengonfirmasi identitas isolat hingga tingkat spesies.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, Sebanyak 14 isolat bakteri asam laktat (BAL) berhasil diisolasi dari kecalok, dan empat isolat (K1, K8, K13, dan K14) memenuhi kriteria awal sebagai kandidat probiotik berdasarkan karakterisasi morfologi, biokimia, hemolisis, fisiologis, dan aktivitas antimikroba. Berdasarkan identifikasi fenotipik, isolat K1, K8, dan K13 diduga termasuk genus *Enterococcus*, sedangkan isolat K14 diduga termasuk genus *Lactobacillus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kecalok berpotensi menjadi sumber BAL yang dapat dikembangkan sebagai kandidat probiotik, meskipun identifikasi molekuler masih diperlukan untuk mengonfirmasi identitas isolat.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, M., Melia, S., & Juliyarsi, I. (2019) 'Potensi oligosakarida sebagai prebiotik dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri asam laktat', *Jurnal Peternakan Indonesia*, 21(3), pp. 150-158.
- Falakh, R. dan Asri, M.T. (2022) 'Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat penghasil asam dari pangan fermentasi', *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 6(2), pp. 75-83.
- Helmi, S.A., Putri, R., Yuliana, S. dan Rahman, T. (2022). *Dynamic Changes in the Bacterial Community and Metabolic Profile during Fermentation of Low-Salt Shrimp Paste (Terasi)*. *LWT - Food Science and Technology*, 165, pp. 113740.
- Kiani, A., Budi, R. & Sari, M. 2025. Synergistic antimicrobial and probiotic activity of lactic acid bacteria. *Scientific Reports*, 15(3), pp. 1-12.
- Kurnia, M., Amir, H. and Handayani, D. (2020) 'Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari makanan tradisional suku Rejang di Provinsi Bengkulu: "Lemea"', *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 4(1), pp. 25-32.
- Melia, S., Juliyarsi, I., & Kurnia, Y.F. (2022) 'Karakterisasi bakteri asam laktat sebagai kandidat probiotik', *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 7(2), pp. 85-94.
- Pradhan, B., Nayak, S.K., Bhowmick, T.K. & Das, S. 2019. Phenotypic and genotypic identification of bacteria isolated from fermented foods. *Journal of Applied Microbiology*, 127(4), pp. 1134-1145.
- Pribadhi, A.N., Kusdiyantini, E. and Ferniah, R.S. (2021) 'Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi cinalok sebagai penghasil gamma-aminobutyric acid', *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 8(1), pp. 25-32.
- Putri, A.E., Wardhani, D.H. and Santosa, A.I. (2020) 'Probiotik dan peranannya dalam kesehatan saluran pencernaan', *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*, 14(2), pp. 105-112.
- Putri, W.D.R., Hidayat, N., & Wijayanti, R. (2021) 'Karakteristik bakteri asam laktat dan potensi adhesinya sebagai kandidat probiotik', *Jurnal Teknologi Pangan*, 15(2), pp. 85-93.
- Rahayu, E.S., Utami, T., & Raharjo, S. (2019) 'Lactic acid bacteria in fermented fish products', *Food Research*, 3(5), pp. 589-596.



- Stefanska, I., Kwiecien, E., Piasecka, K. J., Garbowska, M., Binek, M., and Rzewuska, M. (2021). Antimicrobial Susceptibility of Lactic Acid Bacteria Strains of Potential Use as Feed Additives - The Basic Safety and Usefulness Criterion. *Journal Frontiers in Veterinary Science*, 8 (1), pp. 1-11.
- Syahriza, A., Widyastuti, Y., & Rohmatussolihat, R. (2021) 'Karakterisasi morfologi dan potensi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi tradisional', *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 16(2), pp. 89-97.
- Widowati, S., Misgiyarta, & Winarti, C. (2021) 'Probiotik dan aplikasinya dalam pangan fungsional', *Jurnal Litbang Pertanian*, 40(1), pp. 12-21.

