

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Whey Tahu Sebagai Agen Probiotik

Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Tofu Whey as a Probiotic Agent

Putri Melyana Sari, Rahmad Lingga & Ahmad Arsyadi*

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

Disubmit: 21 April 2026; Direview: 02 Juli 2026; Disetujui: 18 Juli 2026

*Corresponding Email: arsyadi@ubb.ac.id

Abstrak

Whey tahu merupakan limbah cair kaya nutrisi yang berpotensi sebagai sumber bakteri asam laktat (BAL). Namun, karakterisasi BAL asal whey tahu, khususnya terkait potensi probiotiknya, masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengisolasi, mengarakterisasi, dan mengevaluasi potensi probiotik BAL dari whey tahu. Isolasi dilakukan menggunakan media MRSA + CaCO₃ 1%, diikuti uji morfologi, pewarnaan Gram dan endospora, uji biokimia, hemolisis, ketahanan terhadap suhu dan pH, sensitivitas antibiotik, aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, serta uji adhesi. Identifikasi mengacu pada Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Sebanyak 11 isolat diperoleh, kemudian empat isolat dieliminasi berdasarkan uji biokimia dan dua isolat dieliminasi karena bersifat α -hemolitik. Lima isolat teridentifikasi sebagai genus *Lactobacillus* (WT6, WT7, WT8, WT9, dan WT11). Isolat WT6 menunjukkan aktivitas antimikroba tertinggi terhadap *E. coli* ($9,68 \pm 0,50$ mm) dan *S. aureus* ($8,28 \pm 0,64$ mm), sedangkan WT6 dan WT11 menunjukkan kemampuan adhesi terbaik (7,5% dan 4,9%). Temuan ini menunjukkan bahwa WT6 dan WT11 merupakan kandidat probiotik lokal yang potensial untuk dikembangkan pada pangan fungsional berbasis whey tahu.

Kata Kunci : Antimikroba; Isolat Lokal; Karakterisasi; *Lactobacillus*; Whey Tahu

Abstract

Tofu whey is a nutrient-rich liquid by-product with the potential to serve as a source of lactic acid bacteria (LAB). However, the characterization of LAB isolated from tofu whey, particularly regarding their probiotic potential, remains limited. This study aimed to isolate, characterize, and evaluate the probiotic potential of LAB from tofu whey. Isolation was performed using MRS agar supplemented with 1% CaCO₃, followed by morphological observation, Gram and endospore staining, biochemical tests, hemolysis assay, tolerance to temperature and pH, antibiotic susceptibility testing, antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, and an adhesion assay. Identification was conducted based on Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. A total of 11 isolates were obtained, of which four were excluded based on biochemical characteristics and two were excluded due to α -hemolytic activity. Five isolates were identified as belonging to the genus *Lactobacillus* (WT6, WT7, WT8, WT9, and WT11). Isolate WT6 exhibited the highest antimicrobial activity against *E. coli* (9.68 ± 0.50 mm) and *S. aureus* (8.28 ± 0.64 mm), while WT6 and WT11 showed the highest adhesion abilities (7.5% and 4.9%, respectively). These findings indicate that WT6 and WT11 are promising local probiotic candidates for the development of tofu whey-based functional foods.

Keywords: Antimicrobial; Local Isolates; Characterization; *Lactobacillus*; Tofu Whey

How to Cite: Sari, P.M., Lingga, R. & Arsyadi, A. (2026). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Whey Tahu Sebagai Agen Probiotik. *Journal of Natural Sciences*. 7(2): 142-156



PENDAHULUAN

Tahu merupakan produk olahan kedelai yang banyak dikonsumsi di Indonesia dan produksinya terus meningkat seiring berkembangnya industri tahu. Namun, sebagian besar industri masih menggunakan metode konvensional yang menghasilkan limbah padat maupun cair dalam jumlah besar. Limbah cair tahu sering dibuang langsung ke lingkungan tanpa pengolahan yang memadai sehingga berpotensi mencemari perairan (Cahyani *et al.*, 2021; Pangestu *et al.*, 2021). Salah satu bentuknya adalah whey tahu, yaitu cairan sisa koagulasi kedelai yang masih mengandung karbohidrat, protein terlarut, asam organik, vitamin, dan mineral sehingga berpotensi menjadi media pertumbuhan mikroorganisme, khususnya bakteri asam laktat (BAL) (Nurlaela *et al.*, 2016; Supriatna & Hasrini, 2019).

BAL merupakan kelompok bakteri Gram positif, katalase negatif, dan menghasilkan asam laktat sebagai produk utama fermentasi (Arena *et al.*, 2017). BAL banyak dimanfaatkan sebagai probiotik karena mampu menghasilkan berbagai senyawa antimikroba, seperti asam organik dan bakteriosin, yang berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen (Chen *et al.*, 2022), serta berperan dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus dan meningkatkan kesehatan inang (Aritonang *et al.*, 2017). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa substrat berbasis kedelai, termasuk whey tahu, berpotensi mendukung pertumbuhan BAL (Himmah, 2021; Tindjau *et al.*, 2023).

Pemanfaatan whey tahu sebagai sumber BAL memiliki nilai tambah karena bersifat ekonomis, ramah lingkungan, dan sesuai dengan konsep bioteknologi berkelanjutan (Tindjau *et al.*, 2023; Maulidiyah *et al.*, 2024). Selain itu, whey tahu juga dapat dimanfaatkan sebagai substrat fermentasi untuk menghasilkan metabolit bernilai tambah melalui aktivitas BAL (Tindjau *et al.*, 2024), serta berpotensi diaplikasikan sebagai probiotik pada bidang pangan maupun peternakan (Oliveira *et al.*, 2022; Berlina *et al.*, 2023). Namun demikian, penelitian yang mengkaji isolasi dan karakterisasi BAL asal whey tahu secara terpadu meliputi morfologi, fisiologi, biokimia, aktivitas antimikroba, dan kemampuan adhesi sebagai dasar seleksi kandidat probiotik masih terbatas.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi potensi whey tahu sebagai sumber isolat BAL yang memiliki karakteristik kandidat probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi, dan mengevaluasi potensi

probiotik. BAL asal whey tahu melalui pengujian morfologi, fisiologi, biokimia, aktivitas antimikroba, dan kemampuan adhesi sebagai dasar pengembangan probiotik berbasis bahan lokal.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada April–September 2025. Sampel whey tahu diperoleh dari Pabrik Tahu Khas Sumedang Sari Priangan, Desa Kace, Kecamatan Mendo Barat, Kabupaten Bangka, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. Tahap isolasi, karakterisasi, dan pengujian dilakukan di Laboratorium Dasar Terpadu, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Bangka Belitung.

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel whey tahu diambil secara aseptis sebanyak 100 mL menggunakan botol steril, kemudian dibawa ke laboratorium. Sampel diencerkan bertingkat menggunakan larutan NaCl steril sebelum proses isolasi.

Isolasi dan Pemurnian BAL

Isolasi dilakukan dengan metode cawan sebar pada media MRSA yang ditambahkan CaCO_3 1% dan diinkubasi pada 37°C selama 48 jam. Koloni dengan zona bening dimurnikan menggunakan metode gores kuadran hingga diperoleh isolat murni (Amaliah *et al.*, 2018).

Karakterisasi Isolat BAL

Karakterisasi dilakukan secara makroskopis (bentuk, tepi, elevasi, ukuran, warna, dan karakter koloni) serta mikroskopis melalui pewarnaan Gram dan endospora untuk menentukan sifat sel (Amaliah *et al.*, 2018; Somashekaraiah *et al.*, 2019).

Uji Biokimia

Karakterisasi biokimia dilakukan meliputi katalase, motilitas, Methyl Red (MR), dan TSIA. Katalase diuji dengan H_2O_2 , motilitas pada media semi padat, MR untuk fermentasi asam, dan TSIA untuk fermentasi karbohidrat, gas, serta H_2S (Amaliah *et al.*, 2018; Kursia *et al.*, 2021).



Uji Hemolisis

Uji hemolisis dilakukan pada Blood Agar untuk menentukan tipe hemolisis (α , β , γ). Isolat non-hemolitik dipilih untuk pengujian lanjutan (Monika *et al.*, 2017).

Uji Sensitivitas Antibiotik

Uji sensitivitas antibiotik dilakukan menggunakan metode difusi cakram (Kirby-Bauer) pada media MRSA terhadap ampisilin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Zona hambat diukur setelah inkubasi 24 jam pada 37°C dan diinterpretasikan sebagai S, I, atau R (Puspawati *et al.*, 2021).

Uji Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba diuji terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumur. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong (mm) setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan pengujian dilakukan secara duplo (Zhu & Zhang, 2020).

Uji Fisiologis

Uji fisiologis meliputi toleransi suhu (15–45°C) dan pH (2,5–8) selama 48 jam. Pertumbuhan diamati secara kualitatif berdasarkan kekeruhan dan endapan dengan intensitas (+) dan (++) (Kursia *et al.*, 2021; Mansur *et al.*, 2019).

Uji Potensi Probiotik

Populasi BAL dihitung menggunakan metode Total Plate Count (TPC) pada media MRSA dan dinyatakan dalam colony forming unit per milliliter (CFU/mL) (Cappuccino & Welsh, 2017).

$$\text{Populasi BAL (CFU/mL)} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

Kadar asam laktat ditentukan menggunakan metode titrasi asam-basa dengan indikator fenolftalein dan dihitung menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ Asam laktat} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{BM Asam laktat}}{\text{Volume sampel} \times 1000} \times \text{fp} \times 100\%$$

Keterangan : V NaOH=Volume NaOH, N=Normalitas NaOH, BM (Berat Massa) asam laktat = 90,08; fp (Faktor Pengenceran)

Uji Adhesi Bakteri Asam Laktat

Uji adhesi dilakukan menggunakan lempeng *Stainless Steel* dalam media MRSB yang mengandung kultur BAL. Sel yang melekat dihitung dengan metode TPC, dan persentase adhesi dihitung berdasarkan perbandingan populasi awal dan akhir (Han *et al.*, 2017; Saraswati, 2019). Metode ini merupakan model *in vitro* yang tidak sepenuhnya merepresentasikan kondisi saluran pencernaan manusia.

$$\text{Adhesi (\%)} = \frac{K1}{K0} \times 100\%$$

Keterangan: K0 = Kepadatan Populasi Awal (CFU/mL); K1 = Kepadatan Populasi Akhir (CFU/mL)

Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat

Identifikasi dilakukan berdasarkan karakter morfologi, fisiologi, dan biokimia dengan mengacu pada Bergey's Manual of Determinative Bacteriology serta referensi terkait.

Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel, grafik, dan gambar. Setiap pengujian dilakukan secara duplo. Analisis statistik inferensial tidak dilakukan sehingga interpretasi bersifat deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat Asal Whey Tahu

Isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari whey tahu dilakukan menggunakan media de Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA) yang ditambahkan CaCO_3 1%. Setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, diperoleh sebelas isolat, dan beberapa koloni menunjukkan zona bening di sekitarnya. Zona bening tersebut mengindikasikan produksi asam laktat akibat reaksi antara CaCO_3 dan asam laktat yang membentuk kalsium laktat ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_6$).

Perbedaan ukuran zona bening menunjukkan adanya variasi kemampuan produksi asam antar isolat, dimana zona yang lebih besar menunjukkan aktivitas produksi asam yang lebih tinggi. Penambahan CaCO_3 berfungsi sebagai media selektif awal untuk mengidentifikasi isolat penghasil asam laktat melalui pembentukan zona bening. (Ayun *et al.*, 2023).



Karakteristik Morfologi Isolat BAL

Sebanyak sebelas isolat BAL menunjukkan morfologi koloni berbentuk bulat, elevasi cembung, dan tepi rata, dengan warna putih susu hingga krem kekuningan sesuai karakter BAL pada media MRSA.

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi BAL Asal Whey Tahu

Nama Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Elevasi	Margin	Ukuran	Warna
WT1	Circular	Convex	Entire	Small	Putih Susu
WT2	Circular	Convex	Entire	Punctiform	Putih Susu
WT3	Circular	Convex	Entire	Small	Putih Kusam
WT4	Circular	Convex	Entire	Moderate	Putih Susu
WT5	Circular	Convex	Entire	Large	Putih Kusam
WT6	Circular	Convex	Entire	Small	Putih Susu
WT7	Circular	Convex	Entire	Large	Putih Susu
WT8	Circular	Convex	Entire	Punctiform	Putih Kekuningan
WT9	Circular	Convex	Entire	Large	Putih Susu
WT10	Circular	Convex	Entire	Moderate	Putih Kekuningan
WT11	Circular	Convex	Entire	Moderate	Putih Kekuningan

Karakteristik morfologi digunakan sebagai parameter awal seleksi isolat BAL. Perbedaan koloni diduga berkaitan dengan aktivitas metabolik seperti produksi eksopolisakarida yang memengaruhi warna dan tekstur koloni. Oleh karena itu, pengamatan morfologi penting sebagai tahap skrining awal sebelum uji mikroskopis dan biokimia lanjutan (Marco *et al.*, 2017).

Karakterisasi Mikroskopis (Pewarnaan Gram dan Endospora)

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan seluruh isolat bersifat Gram-positif. Bentuk sel bervariasi antara *bacil*, *cocobacil*, dan *coccus*. Semua isolat tidak membentuk endospora.

Tabel 2. Karakterisasi Mikroskopis BAL

Kode Isolat	Morfologi Sel		
	Bentuk	Gram (+/-)	Endospora (+/-)
WT1	<i>Bacil</i>	+	-
WT2	<i>Bacil</i>	+	-
WT3	<i>Bacil</i>	+	-
WT4	<i>Bacil</i>	+	-
WT5	<i>Bacil</i>	+	-
WT6	<i>Bacil</i>	+	-
WT7	<i>Bacil</i>	+	-
WT8	<i>Cocobacil</i>	+	-
WT9	<i>Cocobacil</i>	+	-
WT10	<i>Coccus</i>	+	-
WT11	<i>Bacil</i>	+	-

Sifat Gram-positif menunjukkan adanya lapisan peptidoglikan tebal pada dinding sel (Kurnia *et al.*, 2020). Tidak ditemukannya endospora menegaskan bahwa isolat termasuk bakteri non-sporulasi, sesuai karakter BAL (Panicker *et al.*, 2022).

Karakterisasi Biokimia Isolat BAL

Uji biokimia meliputi katalase, motilitas, MR, dan TSIA. Pengujian ini digunakan untuk melihat karakter fisiologis isolat dalam proses identifikasi bakteri (Cappuccino & Welsh, 2017).

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Isolat BAL

Kode Isolat	Uji Biokimia						
	Katalase	Motilitas	MR	TSIA			
				Slant	Butt	Gas	H ₂ S
WT1	+	+	-	M	K	-	-
WT2	+	-	-	M	K	-	-
WT3	-	-	+	K	K	-	-
WT4	-	-	+	K	K	-	-
WT5	+	-	-	M	K	-	-
WT6	-	-	+	K	K	-	-
WT7	-	-	+	K	K	-	-
WT8	-	-	+	K	K	-	-
WT9	-	-	+	K	K	-	-
WT10	+	+	-	M	K	-	-
WT11	-	-	+	K	K	-	-

Hasil Hasil menunjukkan empat isolat katalase positif, sedangkan tujuh lainnya negatif. Sebagian besar isolat bersifat non-motil dan menunjukkan hasil MR positif. Pada uji TSIA, isolat mampu memfermentasi glukosa, dan sebagian juga sukrosa serta laktosa tanpa menghasilkan gas maupun H₂S. Hasil ini menunjukkan adanya variasi aktivitas metabolik antar isolat, namun masih sesuai dengan karakter umum bakteri asam laktat (Monika *et al.*, 2017). Sebanyak tujuh isolat memiliki karakteristik BAL karena katalase negatif, non-motil, dan tidak menghasilkan H₂S (Aini, 2018; Kajikawa *et al.*, 2018; Cappuccino dan Welsh, 2017).

Uji Hemolisis

Uji hemolisis dilakukan untuk menentukan tingkat keamanan isolat bakteri asam laktat (BAL). Hasil menunjukkan bahwa dua isolat (WT3 dan WT4) bersifat α -hemolisis, sedangkan lima isolat (WT6, WT7, WT8, WT9, dan WT11) menunjukkan γ -hemolisis yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil Uji Hemolisis BAL pada Media Blood Agar

Kode Isolat	Uji Hemolisis	
	Tipe Hemolisis	Patogen
WT3	α (Alfa) hemolisis	Patogen
WT4	α (Alfa) hemolisis	Patogen
WT5	α (Alfa) hemolisis	Non-patogen
WT6	γ (Gamma) hemolisis	Non-patogen
WT7	γ (Gamma) hemolisis	Non-patogen
WT8	γ (Gamma) hemolisis	Non-patogen
WT9	γ (Gamma) hemolisis	Non-patogen
WT11	γ (Gamma) hemolisis	Non-patogen

Uji hemolisis digunakan untuk menilai keamanan isolat. Isolat dengan γ -hemolisis dianggap lebih aman karena tidak menunjukkan aktivitas lisis eritrosit (Rahmdel *et al.* , 2023).

Uji Sensitivitas Antibiotik

Uji sensitivitas antibiotik dilakukan terhadap ampisilin, tetrasiklin, dan kloramfenikol menggunakan metode difusi cakram pada media MRSA dengan pendekatan Kirby-Bauer, kemudian hasilnya diinterpretasikan ke dalam kategori sensitif (S), intermediet (I), dan resisten (R) berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk (Puspawati *et al.* , 2021). Hasil menunjukkan seluruh isolat resisten terhadap kloramfenikol, sedangkan terhadap ampisilin dan tetrasiklin menunjukkan variasi respons antar isolat.

Tabel 5. Sensitivitas Isolat BAL Terhadap Antibiotik

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm) Terhadap Antibiotik					
	Ampisilin		Tetrasiklin		Kloramfenikol	
	X $\pm$ SD (mm)	Ket.	X $\pm$ SD (mm)	Ket.	X $\pm$ SD (mm)	Ket.
WT6	9,82 $\pm$ 0,67	R	8,04 $\pm$ 0,29	R	8,03 $\pm$ 1,74	R
WT7	16,26 $\pm$ 1,84	I	15,17 $\pm$ 2,93	R	8,20 $\pm$ 2,17	R
WT8	18,33 $\pm$ 1,14	I	16,10 $\pm$ 0,10	I	10,86 $\pm$ 0,86	R
WT9	7,33 $\pm$ 1,96	R	6,20 $\pm$ 1,71	R	7,49 $\pm$ 0,95	R
WT11	21,07 $\pm$ 6,65	S	23,09 $\pm$ 6,28	S	12,51 $\pm$ 4,15	R

Pengujian ini digunakan untuk mengevaluasi keamanan isolat sebagai kandidat probiotik. Resistensi terhadap kloramfenikol mengindikasikan adanya mekanisme adaptasi atau inaktivasi antibiotik yang memungkinkan bakteri bertahan pada kondisi selektif, namun tetap perlu diperhatikan terkait potensi risiko transfer gen resistensi.

Variasi respons terhadap ampisilin dan tetrasiklin dipengaruhi oleh karakteristik dinding sel serta faktor genetik masing-masing isolat (Indana *et al.*, 2021). Isolat yang

masih menunjukkan kategori sensitif atau intermediet, khususnya terhadap ampisilin, menunjukkan potensi keamanan yang lebih baik sebagai kandidat probiotik.

Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba diuji terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumur. Metode ini digunakan untuk menguji kemampuan antibakteri berdasarkan pembentukan zona hambat di sekitar sumur. Hasil menunjukkan bahwa isolat BAL mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji dengan diameter zona hambat berkisar antara 3,81–9,68 mm (Tabel 6).

Tabel 6. Hasil Uji Antimikroba BAL

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm) Terhadap Bakteri			
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	X±SD (mm)	Ket.	X±SD (mm)	Ket.
WT6	9,68 ± 0,50	S	8,28 ± 0,64	S
WT7	3,81 ± 0,49	L	7,02 ± 0,70	S
WT8	6,72 ± 0,57	S	6,90 ± 0,39	S
WT9	7,09 ± 0,73	S	6,69 ± 0,59	S
WT11	7,43 ± 0,66	S	6,81 ± 1,13	S

Aktivitas ini menunjukkan potensi BAL dalam menghambat bakteri patogen Gram-positif maupun Gram-negatif (Afriani et al., 2017). Hal ini menunjukkan adanya aktivitas metabolik BAL yang menghasilkan senyawa antimikroba seperti asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang dapat menurunkan pH lingkungan serta merusak membran sel bakteri.

Variasi zona hambat antar isolat menunjukkan perbedaan kemampuan produksi metabolit antimikroba yang bersifat strain-dependent. Oleh karena itu, isolat BAL dari whey tahu berpotensi dikembangkan sebagai agen probiotik maupun pengawet hayati dalam pangan (Nugrahani et al., 2020).

Uji Fisiologis BAL

Uji fisiologis BAL dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bertahan pada variasi suhu dan pH. Hasil menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu tumbuh pada rentang pH 2,5–8 dan suhu 15–45°C, dengan pertumbuhan optimum pada pH 6–8 dan suhu 27–37°C (Tabel 7).

Tabel 7. Uji Fisiologis Isolat BAL

Kode Isolat	Uji Fisiologis							
	Uji pH				Uji Suhu			
	2,5	4	6	8	15°C	27°C	37°C	45°C
WT6	+	+	++	++	+	++	++	+
WT7	+	+	++	++	+	++	++	+
WT8	+	+	++	++	+	++	++	+
WT9	+	+	++	++	+	++	++	++
WT11	+	+	++	++	+	+	++	++

Kemampuan ini menunjukkan bahwa isolat memiliki kemampuan beradaptasi dan bertahan pada berbagai kondisi lingkungan yang mendukung potensinya sebagai kandidat probiotik (Somashekaraiah *et al.*, 2019). Perbedaan intensitas pertumbuhan antar isolat menunjukkan adanya variasi adaptasi fisiologis terhadap tekanan lingkungan seperti keasaman dan suhu.

Ketahanan pada pH rendah serta suhu ekstrem mengindikasikan potensi isolat untuk bertahan dalam kondisi saluran pencernaan dan proses fermentasi. Oleh karena itu, isolat BAL yang diperoleh memiliki potensi sebagai kandidat probiotik dengan adaptasi fisiologis yang baik (Wardani, 2018).

Potensi Probiotik

a) Populasi BAL pada MRSB dan Media Prebiotik

Pertumbuhan Pertumbuhan isolat BAL pada media prebiotik menunjukkan jumlah sel yang lebih tinggi dibandingkan pada media MRSB (Tabel 8). Hal ini menunjukkan bahwa media prebiotik mampu mendukung pertumbuhan dan viabilitas BAL secara optimal. Peningkatan ini diduga berkaitan dengan pemanfaatan karbohidrat kompleks sebagai sumber energi bagi BAL (Triyuzani *et al.*, 2021).

Tabel 8. Populasi BAL pada Media MRSB dan Prebiotik

Kode Isolat	Jumlah Koloni (CFU's/mL)	
	Media MRSB	Media Prebiotik
WT6	$1,2 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$
WT7	$2,0 \times 10^6$	$3,6 \times 10^5$
WT8	$8,5 \times 10^7$	$3,1 \times 10^9$
WT9	$7,1 \times 10^5$	$1,2 \times 10^7$
WT11	$1,5 \times 10^6$	$3,7 \times 10^9$

Kemampuan BAL dalam memanfaatkan prebiotik seperti mannan oligosakarida menunjukkan adanya peningkatan pertumbuhan dan aktivitas metabolik (Goh *et al.*, 2017). Perbedaan populasi antara media MRSB dan prebiotik menunjukkan bahwa jenis

substrat memengaruhi pertumbuhan BAL, dengan beberapa isolat memiliki adaptasi lebih baik terhadap sumber karbon kompleks.

b) Produksi Asam Laktat

Produksi asam laktat oleh isolat BAL lebih tinggi pada media MRSB dibandingkan media prebiotik, namun penurunan pH lebih besar terjadi pada media prebiotik (Tabel 9). Hal ini mengindikasikan adanya kemungkinan produksi asam organik lain selain asam laktat selama fermentasi substrat kompleks (Chen *et al.*, 2022).

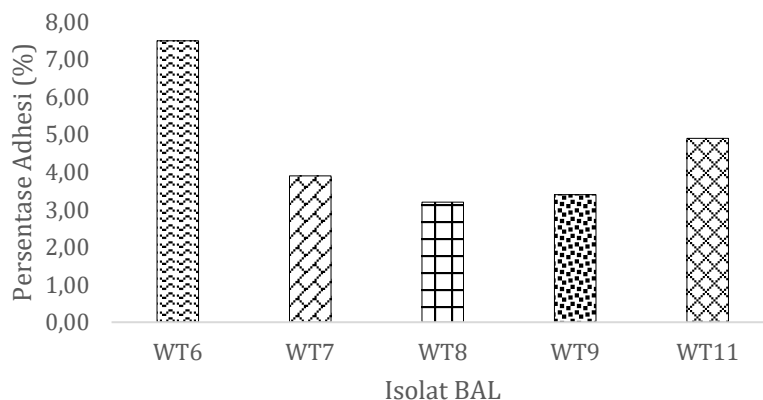
Tabel 9. Produksi Asam Laktat dan Perubahan pH

Kode Isolat	Konsentrasi Asam Laktat (%)		Perubahan pH			
	Media MRSB	Media Prebiotik	pH Akhir (MRSB)	Δ pH (MRSB)	pH Akhir (Prebiotik)	Δ pH (Prebiotik)
WT6	14,41	3,60	4,80	1,20	3,50	1,50
WT7	18,00	1,80	4,05	1,95	2,94	2,06
WT8	14,04	2,88	3,84	2,16	2,80	2,20
WT9	19,46	2,16	3,81	2,19	2,55	2,45
WT11	18,00	3,60	3,83	2,17	2,50	2,50

Perbedaan antara kadar asam laktat dan penurunan pH menunjukkan bahwa aktivitas metabolisme BAL tidak hanya menghasilkan asam laktat, tetapi juga asam organik lain yang berkontribusi terhadap perubahan pH. Meskipun kadar asam laktat pada media prebiotik lebih rendah, nilainya masih memenuhi standar produk fermentasi, sehingga menunjukkan potensi aplikasi pangan fungsional (Sionek *et al.*, 2023).

Uji Adhesi

Uji adhesi menunjukkan adanya variasi kemampuan perlekatan antar isolat BAL. Isolat WT6 menunjukkan nilai adhesi tertinggi sebesar 7,5%, diikuti oleh WT11 (4,9%), WT7 (3,9%), WT9 (3,4%), dan WT8 (3,2%) (Gambar 1). Nilai ini diperoleh berdasarkan perbandingan jumlah sel awal dan sel yang masih melekat setelah inkubasi pada permukaan *Stainless Steel*. Hasil ini menunjukkan kemampuan awal perlekatan isolat BAL sebagai indikator potensi probiotik (Priadi *et al.*, 2020).



Gambar 1. Persentase Adhesi BAL pada Lempeng *Stainless Steel*

Uji adhesi menggunakan model in vitro pada permukaan *Stainless Steel* bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan perlekatan bakteri pada suatu permukaan sebagai gambaran awal kemampuan adhesi. Kemampuan adhesi merupakan salah satu karakter penting BAL sebagai kandidat probiotik karena berhubungan dengan kemampuan kolonisasi pada saluran pencernaan. Tingkat adhesi dipengaruhi oleh karakteristik permukaan sel, seperti hidrofobisitas dan kemampuan agregasi bakteri dalam berinteraksi dengan permukaan substrat (Leksono *et al.*, 2024).

Identifikasi Isolat BAL

Berdasarkan acuan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* serta karakteristik morfologi, biokimia, dan fisiologi yang diamati, isolat BAL yang diperoleh diidentifikasi sebagai genus *Lactobacillus*. Isolat menunjukkan ciri umum BAL seperti Gram-positif, katalase negatif, tidak membentuk spora, non-motil, serta mampu menghasilkan asam. Identifikasi ini dilakukan menggunakan pendekatan fenotipik yang umum digunakan pada skrining awal bakteri asam laktat sebelum analisis molekuler.

Tabel 10. Identifikasi Isolat BAL

Karakteristik	Kode Isolat				
	WT6	WT7	WT8	WT9	WT11
Makroskopis					
Bentuk	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular
Elevasi	Convex	Convex	Convex	Convex	Convex
Margin	Entire	Entire	Entire	Entire	Entire
Ukuran	Small	Large	Punctiform	Large	Moderate
Warna	Putih Susu	Putih Susu	Putih Kekuningan	Putih Susu	Putih Kekuningan
Microskopis					
Gram	+	+	+	+	+
Endospora	-	-	-	-	-



Karakteristik	Kode Isolat				
	WT6	WT7	WT8	WT9	WT11
Bentuk Sel	<i>Bacil</i>	<i>Bacil</i>	<i>Cocobacil</i>	<i>Cocobacil</i>	<i>Bacil</i>
Biokimia					
Katalase	-	-	-	-	-
Motilitas	-	-	-	-	-
Methyl Red	+	+	+	+	+
TSIA	Y/Y	Y/Y	Y/Y	Y/Y	Y/Y
Genus	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>

Konsistensi hasil antar parameter (makroskopis, mikroskopis, dan biokimia) menunjukkan adanya keseragaman karakter yang mendukung klasifikasi isolat pada kelompok bakteri asam laktat. Hasil ini menunjukkan bahwa isolat yang terseleksi (WT6, WT7, WT8, WT9, dan WT11) memiliki kesesuaian karakter dengan genus *Lactobacillus*. Keberadaan sifat-sifat tersebut mendukung potensi isolat sebagai bakteri probiotik yang memiliki kemampuan fermentatif dan aktivitas antimikroba. Dengan demikian, hasil identifikasi ini memperkuat bahwa whey tahu dapat menjadi sumber potensial isolat *Lactobacillus* yang memiliki karakteristik fungsional yang relevan untuk aplikasi pangan fermentasi maupun probiotik.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari whey tahu menunjukkan karakteristik khas bakteri asam laktat dan berpotensi sebagai kandidat probiotik. Isolat yang tergolong dalam genus *Lactobacillus* dengan sifat non-hemolitik memperlihatkan kemampuan bertahan pada berbagai kondisi lingkungan serta memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen. Selain itu, beberapa isolat juga menunjukkan kemampuan adhesi yang baik sebagai salah satu indikator potensi probiotik. Secara keseluruhan, terdapat isolat yang menunjukkan potensi probiotik paling unggul dibandingkan isolat lainnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut.

Untuk pengembangan penelitian selanjutnya, disarankan dilakukan identifikasi molekuler menggunakan metode 16S rRNA untuk memastikan identitas isolat hingga tingkat spesies, serta uji keamanan genetik untuk mendeteksi keberadaan gen virulensi maupun gen resistensi antibiotik. Selain itu, pengujian secara *in vivo* diperlukan untuk mengevaluasi efektivitas dan keamanan isolat dalam sistem biologis yang lebih kompleks. Isolat yang berpotensi juga dapat dikembangkan lebih lanjut dalam bentuk produk pangan fungsional berbasis isolat lokal sebagai aplikasi di bidang bioteknologi pangan.



DAFTAR PUSTAKA

- Aini, F. (2018). Isolasi dan identifikasi *Shigella* sp. penyebab diare pada balita. *BIO-SITE: Biologi dan Sains Terapan*, 4(1), 7–12.
- Afriani, N., Yusmarini, & Pato, U. (2017). Aktivitas antimikroba *Lactobacillus plantarum* 1 yang diisolasi dari industri pengolahan pati sagu terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* FNCC-19 dan *Staphylococcus aureus* FNCC-15. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau*, 4(1), 1–12.
- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah cair rendaman kacang kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253–257.
- Arena, M. P., Capozzi, V., Spano, G., & Fiocco, D. (2017). The potential of lactic acid bacteria to colonize biotic and abiotic surfaces and the investigation of their interactions and mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(7), 2641–2657. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8182-z>
- Aritonang, S. N., Roza, E., Rossi, E., Purwati, E., & Husmaini, H. (2017). Isolation and identification of lactic acid bacteria from okara and evaluation of their potential as candidate probiotics. *Pakistan Journal of Nutrition*, 16, 618–628.
- Ayun, Q., Muthiah, S. N., & Sukmalara, D. (2023). Potensi bakteri asam laktat (BAL) dari jus tempe sebagai kandidat probiotik. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 8(2), 171–177.
- Berlina, I., Putri, D., & Rachmawati, S. (2023). Efficacy of lactic acid bacteria probiotics on feed efficiency and carcass weight in KUB chicken. *Jurnal Medik Veteriner*, 6(2), 101–109.
- Cahyani, M. R., Zuhaila, I. A., Saraswati, T. E., Raharjo, S. B., Pramono, E., Wahyuningsih, S., & Widjonarko, D. M. (2021). Pengolahan limbah tahu dan potensinya. *Proceeding of Chemistry Conferences*, 6, 27–33.
- Cappuccino, J. G., & Welsh, C. (2017). *Microbiology: A laboratory manual* (11th ed.). Pearson Education.
- Chen, J., Pang, H., Wang, L., Ma, C., Wu, G., Liu, Y., Guan, Y., Zhang, M., Qin, G., & Tan, Z. (2022). Bacteriocin-producing lactic acid bacteria strains with antimicrobial activity screened from Bamei pig feces. *Foods*, 11(5), 709. <https://doi.org/10.3390/foods11050709>
- Giyatno, D. C., & Retnaningrum, E. (2020). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida dari buah kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Sains Dasar*, 9(2), 42–49.
- Goh, K. K., Zakaria, M. R., Choo, Y. M., & Phang, L. Y. (2017). Structural characterization and evaluation of prebiotic activity of oil palm kernel cake mannanoligosaccharides. *Journal of Functional Foods*, 30, 48–59.
- Han, Q., Kong, B., Chen, Q., Sun, F., & Zhang, H. (2017). In vitro comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Harbin dry sausages and selected probiotics. *Journal of Functional Foods*, 32, 391–400.
- Harnentis, H., Marlida, Y., Nur, Y. S., Wizna, W., Santi, M. A., Septiani, N., Adzitey, F., & Huda, N. (2020). Novel probiotic lactic acid bacteria isolated from indigenous fermented foods from West Sumatera, Indonesia. *Veterinary World*, 13(9), 1922–1927.
- Himmah, S. N. (2021). *Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari whey tahu serta uji potensi probiotik* (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Indana, K., Effendi, M. H., & Soeharsono, S. (2021). Uji resistensi antibiotik ampicillin pada bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari beberapa peternakan di Surabaya. *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 3(1), 37–43.
- Kursia, S., Imrawati, Ismail, Halim, A., Ramadhani, F., Ramadhani, N., Priska, F., & Hanifah, F. (2021). Identifikasi biokimia dan aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat limbah sayur bayam. *Jurnal Media Farmasi*, 16(1), 27–32.
- Leksono, B. Y., Purwijantiningsih, E., & Wibisono, G. I. B. (2024). Cell Surface and Adherence Properties of Indonesian Indigenous Lactic Acid Bacteria as Probiotic Candidate. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.24002/biota.v9i1.8124>
- Mansur, D. S., Hidayat, M. N., & Irmawaty. (2019). Ketahanan bakteri asam laktat asal saluran pencernaan broiler terhadap pH dan garam empedu. *Jurnal Ilmu dan Industri Peternakan*, 5(1), 27–37.
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., & Smid, E. J. (2017). Health benefits of fermented foods: Microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94–102.
- Maulidiyah, L., Nurjayadi, M., & Safitri, R. (2024). Tofu whey-based media for probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* D4 as a halal starter culture. *Indonesian Journal of Halal Research*, 6(2), 75–83.
- Monika, Savitri, Kumar, V., Kumari, A., Angmo, K., & Bhalla, T. C. (2017). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional pickles of Himachal Pradesh, India. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1945–1952. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2629-1>



- Nurlaela, S., Sunarti, T. C., & Meryandini, A. (2016). Formula media pertumbuhan bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* menggunakan substrat whey tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(2), 31–38.
- Nugrahani, G., Apridamayanti, P., & Sari, R. (2020). Aktivitas antibakteri yogurt hasil fermentasi *Lactobacillus plantarum* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Cerebellum*, 6(2), 55–58. <https://doi.org/10.26418/jc.v6i2.45306>
- Oliveira, L. C., Silva, R., Costa, A., & Gomes, T. (2022). Production of a potentially probiotic product for animal feed and evaluation of some of its probiotic properties. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10004.
- Pangestu, W. P., Sadida, H., & Vitasari, D. (2021). Pengaruh kadar BOD, COD, pH dan TSS pada limbah cair industri tahu dengan metode media filter adsorben alam dan elektrokoagulasi. *Media Ilmiah Teknik Lingkungan (MITL)*, 6(2), 74–80.
- Priadi, G., Setiyoningrum, F., Afiati, F., Irzaldi, R., & Lisdiyanti, P. (2020). Studi in vitro bakteri asam laktat kandidat probiotik dari makanan fermentasi Indonesia. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 31(1), 21–28.
- Puspawati, N. N., Sukarya, I. B. J., Pratiwi, D. P. K., & Hapsari, N. M. I. (2021). Ketahanan isolat bakteri asam laktat indigenous kombucha dan dadih terhadap antibiotik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 10(4), 734–745.
- Putri, A. R., Wibowo, M. S., & Lestari, Y. (2021). Karakteristik bakteri asam laktat dan aktivitas hemolitiknya pada media blood agar. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 345–352.
- Rahmdel, S., Nematollahi, A., Hosseini, H., & Mora, L. (2023). The impacts of acidophilic lactic acid bacteria on food and human health: A review of the current knowledge. *Foods*, 12(15), 2965. <https://doi.org/10.3390/foods12152965>
- Saraswati, A. M. (2019). *Peran outer membrane protein (OMP) 23 kDa bakteri Klebsiella pneumonia sebagai protein hemagglutinin dan adhesin* (Skripsi). Fakultas Kedokteran, Universitas Jember, Jember.
- Sionek, B., Czaczyk, K., & Śliżewska, K. (2023). Influence of pH on growth and metabolite production of *Lactobacillus plantarum* during fermentation. *Journal of Microbiological Research*, 15(2), 120–128.
- Somashekaraiah, R., Shruthi, B., Deepthi, B. V., & Sreenivasa, M. Y. (2019). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented foods. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 17(1), 1–12.
- Supriatna, & Hasrini. (2019). Pengaruh masa simpan whey dan suhu penggumpalan terhadap karakter whey tahu. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(3), 345–352.
- Tindjau, R., Lee, Y. K., Chang, C., & Kim, H. (2023). Growth, substrate, and metabolite changes of probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in soy (tofu) whey. *Fermentation*, 9(12), 1024.
- Tindjau, R., Chua, J.-Y., & Liu, S.-Q. (2024). Utilization of propionic acid bacteria in the biotransformation of soy (tofu) whey: Growth and metabolite changes. *Journal of Food Science*, 89(1), 540–551.
- Trizuyani, N. E., Hendalia, S. E., & Resmi, R. (2021). Pengaruh pemberian ransum mengandung bungkil inti sawit fermentasi dengan *Bacillus cereus* V9 terhadap kualitas fisik daging ayam broiler. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(2), 155–165.
- Wardani, Y. A. (2018). *Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat asal jejenum kelinci (Oryctolagus cuniculus) sebagai kandidat probiotik* (Skripsi). Universitas Brawijaya.
- Widyastuti, Y., Rohmatussolihat, & Febriantosa, A. (2019). Probiotic properties and safety assessment of lactic acid bacteria isolated from Indonesian fermented foods. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 30(1), 1–10.
- Zhu, Y., & Zhang, S. (2020). Antibacterial activity and mechanism of lacidophilin from *Lactobacillus pentosus* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 582349. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582349>