



IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI KOTORAN LUWAK LIAR DAN LUWAK PENANGKARAN UNTUK FERMENTASI KOPI

IDENTIFICATION OF LAB FROM WILD AND CAPTIVE COFFEE-FED CIVET FECES FOR ROBUSTA COFFEE FERMENTATION

M Auval Marom^{*1)}, Kukuh Munandar², Indah Rakhmawati Afrida³

**)Corresponding Author*

Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Jember

*Email: armdvran173@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi, dan menganalisis kurva pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) dari feses luwak liar dan penangkaran. Isolasi dilakukan menggunakan media MRSA, kemudian karakterisasi meliputi morfologi sel, pewarnaan Gram, uji katalase, uji produksi gas CO₂, uji pertumbuhan pada berbagai suhu, konsentrasi garam, fermentasi karbohidrat, produksi asam laktat, serta uji arginin. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa seluruh isolat merupakan bakteri Gram positif, katalase negatif, dengan morfologi basil atau kokus. Isolat dari luwak liar menunjukkan aktivitas fermentasi yang lebih tinggi, ketahanan garam lebih stabil, serta kemampuan metabolisme karbohidrat yang lebih luas dibandingkan isolat dari penangkaran. Analisis kurva pertumbuhan menunjukkan bahwa isolat dari luwak liar memiliki fase logaritmik yang lebih cepat dengan jumlah koloni puncak lebih tinggi, namun masa bertahan hidup lebih singkat dibanding isolat dari penangkaran. Berdasarkan hasil identifikasi, isolat dari luwak penangkaran adalah *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides*, sedangkan isolat dari luwak liar adalah *Pediococcus pentosaceus* dan *Lactobacillus fermentum*. Temuan ini menunjukkan potensi BAL dari luwak liar untuk aplikasi fermentasi pangan yang membutuhkan kecepatan adaptasi tinggi.

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat, Isolasi BAL, Kurva Pertumbuhan, Luwak Liar, Luwak Penangkaran.

ABSTRACT

This study aimed to isolate, characterize, and analyze the growth curve of lactic acid bacteria (LAB) from the feces of wild and captive civets. Isolation was performed using MRSA media, followed by characterization including cell morphology, Gram staining, catalase test, CO₂ gas production test, growth at various temperatures, salt concentration tolerance, carbohydrate fermentation, lactic acid production, and arginine test. Characterization results showed that all isolates were Gram-positive, catalase-negative bacteria with either bacillus or coccus morphology. Isolates from wild civets exhibited higher fermentation activity, more stable salt tolerance, and a broader carbohydrate metabolism capacity compared to isolates from captive civets. Growth curve analysis indicated that wild civet isolates experienced a faster logarithmic phase and reached a higher peak colony number, although they had a shorter survival period compared to captive civet isolates. Based on identification results, the isolates from captive civets were *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides*, while the isolates from wild civets were *Pediococcus pentosaceus* and *Lactobacillus fermentum*. These findings highlight the potential of LAB from wild civets for food fermentation applications that require rapid adaptation.

Keywords: Lactic Acid Bacteria, LAB Isolation, Growth Curve, Wild Civet, Captive Civet.

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok mikroorganisme yang memiliki peran penting dalam berbagai industri bioteknologi, terutama di bidang pangan dan kesehatan (Zheng et al., 2020). Kelompok bakteri ini dikenal mampu menghasilkan berbagai senyawa bioaktif seperti bakteriosin, asam organik, dan eksopolisakarida yang memberikan manfaat fungsional (Ayivi & Ibrahim, 2022). Dalam konteks produksi kopi luwak, BAL berperan krusial dalam proses fermentasi alami yang terjadi di saluran pencernaan luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*), dimana mereka berperan dalam modifikasi senyawa prekursor flavor melalui aktivitas enzimatisnya (K.Bangsa Ihsan, 2020).

Beberapa penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi BAL dari feses luwak, antara lain *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, dan *Streptococcus faecium* (Wulansari et al., 2022). Namun, studi komparatif tentang karakteristik BAL dari luwak liar dan penangkaran masih sangat terbatas. Padahal, perbedaan lingkungan dan pola makan antara luwak liar dan penangkaran dapat memengaruhi komposisi dan aktivitas metabolik mikroba pencernaannya.

Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*), baik yang hidup di alam liar maupun di penangkaran, memiliki sistem pencernaan yang sederhana namun efektif dalam memfermentasi bahan makanan yang dikonsumsi. Feses luwak diketahui mengandung berbagai komunitas mikroba, termasuk BAL, yang berperan dalam proses fermentasi alami biji kopi luwak. Studi terhadap mikrobiota feses luwak dapat memberikan wawasan baru mengenai keberagaman dan potensi BAL dari sumber alami ini (Ilmu, 2025)

Produksi kopi luwak yang memanfaatkan proses fermentasi alami dalam saluran pencernaan luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) telah dikenal luas menghasilkan karakteristik sensori khas yang menjadikannya salah satu kopi termahal di dunia. Proses tersebut terjadi akibat aktivitas mikroba, terutama bakteri asam laktat (BAL), yang terdapat dalam sistem pencernaan luwak (Munandar et al., 2022)

Fermentasi in-vitro merupakan teknik yang mereplikasi proses fermentasi alami di luar tubuh hewan dengan memanfaatkan BAL sebagai kultur starter. Pendekatan ini tidak hanya mendukung prinsip keberlanjutan dan konservasi satwa, tetapi juga memungkinkan standarisasi mutu serta memenuhi kebutuhan sertifikasi halal (Munandar et al., 2024).

Proses isolasi dan karakterisasi BAL dari feses luwak dilakukan untuk memperoleh strain-strain bakteri yang memiliki sifat-sifat unggul, seperti kemampuan menghasilkan asam laktat, protease, dan senyawa antimikroba. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa isolat BAL dari feses luwak memiliki aktivitas proteolitik dan antimikroba yang signifikan terhadap patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Karakterisasi fenotipik dan

genotipik isolat BAL penting untuk menentukan potensi aplikasinya dalam industri pangan dan kesehatan(Laila et al., 2018).

Analisis kurva pertumbuhan merupakan metode penting untuk memahami dinamika pertumbuhan mikroorganisme dalam kondisi tertentu. Kurva pertumbuhan BAL dapat menunjukkan fase-fase pertumbuhan, waktu generasi, dan kapasitas adaptasi terhadap perubahan lingkungan, seperti pH dan suhu . Informasi ini sangat berguna dalam mengoptimalkan kondisi kultur untuk produksi massal BAL yang digunakan sebagai inokulan dalam proses fermentasi biji kopi luwak (Risna et al., 2022).

Perbandingan antara BAL yang diisolasi dari feses luwak liar dan penangkaran dapat memberikan gambaran mengenai pengaruh faktor lingkungan terhadap keberagaman dan sifat fungsional mikroba tersebut. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa BAL dari feses luwak memiliki karakteristik morfologi dan biokimia yang khas, seperti bentuk sel bulat atau batang, Gram positif, katalase negatif, serta kemampuan berfermentasi pada pH rendah . Studi komparatif ini penting untuk memahami adaptasi mikroba terhadap kondisi ekologis yang berbeda (Winatha et al., 2022).

Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mengisolasi dan mengidentifikasi BAL dari feses luwak liar dan penangkaran, (2) menganalisis karakteristik fisiologi dan biokimia isolat BAL, (3) serta membandingkan pola kurva pertumbuhan isolat dari kedua sumber,. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan dalam pengembangan starter kultur untuk produksi kopi luwak *in-vitro* yang lebih efisien dan ramah lingkungan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium Biologi Dasar Universitas Muhammadiyah jember, penelitian ini dilakukan pada bulan Desember sampai Maret 2025 dengan kegiatan yaitu penyiapan sampel kotoran luwak, karakterisasi isolat bakteri asam laktat dari kotoran luwak, pengamatan pertumbuhan bakteri asam laktat. Bahan dalam penelitian ini berupa aquades, MRS A, MRS Broth, alkohol 70%, ethanol 96%, safranin, iodin, gentian violet, latmus blue, fructose, agar powder, glukosa, NaCl, maltose, sukrosa, skim milk, H₂O₂ 3%. Alat dalam penelitian ini berupa mikropipet, autoklaf, lemari pendingin, neraca analitik, cawan petri, tabung reaksi, ose, Laminar air flow, blue tip, eppendorf, inkubator, petridish, bunsen, Erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, botol semprot, pipet tetes dan spatula, rak tabung reaksi, mikroskop, kertas kayu, plastic wrap (silk).

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Penelitian ini dilaksanakan dari Desember 2024 hingga Maret 2025 di Laboratorium Biologi Dasar Universitas Muhammadiyah Jember. Pengambilan sampel feses luwak dilakukan di dua lokasi berbeda: (1) kawasan hutan lindung Gunung Argopuro (luwak liar) dan (2) penangkaran luwak di Desa Sukamakmur, Kecamatan Ajung, Jember (luwak penangkaran).

Sampel feses segar dikoleksi secara aseptik menggunakan spatula steril dan dimasukkan ke dalam tabung falcon steril yang telah diberi larutan Ringer's buffer. Sampel kemudian disimpan dalam cool box selama transportasi ke laboratorium. Sebanyak 1 gram sampel feses ditimbang dan dihomogenisasi dalam 9 ml larutan Aquades steril untuk membuat suspensi awal 10^{-1} . Serial dilusi dilakukan hingga 10^{-5} menggunakan teknik aseptik.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi BAL dilakukan dengan metode pour plate menggunakan media MRSA. Sebanyak 1 ml dari setiap tingkat dilusi dituang ke dalam cawan petri steril, kemudian dicampur dengan 15-20 ml media MRSA yang telah didinginkan. Setelah memadat, cawan diinkubasi secara anaerob menggunakan pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang membentuk zona jernih (*halo zone*) dipilih sebagai kandidat BAL dan dimurnikan dengan metode streak plate.

Karakterisasi Isolat BAL

1. Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dilakukan melalui pengamatan morfologi sel dan koloni. Pewarnaan Gram dilakukan untuk menentukan karakter dinding sel isolat. Pengamatan bentuk sel dilakukan dengan mikroskop untuk mengetahui morfologi sel secara detail. Selain itu, karakteristik koloni diamati secara makroskopis meliputi bentuk, tepi, elevasi, warna, dan tekstur permukaan koloni yang tumbuh pada media padat.

2. Uji Biokimia

Uji Biokimia Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dilakukan untuk mengetahui karakter fisiologis dan kemampuan metabolik masing-masing isolat. Uji katalase dilakukan dengan penambahan larutan H_2O_2 3% guna mengamati adanya reaksi pembentukan gelembung sebagai indikator aktivitas enzim katalase. Uji produksi gas CO_2 dari fermentasi glukosa dilakukan dengan menggunakan tabung Durham yang dimasukkan ke dalam media MRS broth. Kemampuan fermentasi berbagai jenis karbohidrat (glukosa, laktosa, sukrosa, dan manitol) diuji menggunakan media OF basal sebagai indikator metabolisme gula spesifik. Selain itu, uji hidrolisis arginin dilakukan menggunakan media MRS arginin broth untuk mengevaluasi kemampuan isolat dalam memecah arginin. Ketahanan terhadap garam diuji pada konsentrasi NaCl 4%, 6,5%, dan 8% untuk mengetahui toleransi osmotik isolat. Pengujian juga dilakukan

terhadap kemampuan tumbuh pada berbagai suhu inkubasi, yaitu 15°C, 37°C, dan 45°C, untuk mengetahui kisaran suhu optimum pertumbuhan isolat BAL.

3. Uji Aktivitas Enzimatik

Uji Aktivitas Enzimatik Isolat BAL dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan isolat dalam memproduksi enzim dan senyawa metabolit utama. Aktivitas proteolitik diuji dengan menggunakan media *skim milk*, yang memungkinkan deteksi kemampuan isolat dalam mendegradasi protein kasein. Aktivitas protease ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni akibat hidrolisis protein. Selain itu, produksi asam laktat sebagai hasil utama fermentasi juga dianalisis. Kuantifikasi asam laktat dilakukan secara titrimetri menggunakan larutan NaOH 0,1 N, di mana volume titran yang dibutuhkan untuk mencapai titik akhir titrasi merefleksikan jumlah asam yang dihasilkan oleh isolat selama fermentasi.

Analisis Kurva Pertumbuhan

Analisis kurva pertumbuhan dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media MRSA. Setiap isolat diinokulasikan secara aseptik ke dalam cawan petri berisi MRSA, lalu diinkubasi pada suhu 37°C. Jumlah koloni dihitung setiap 6 jam selama 72 jam menggunakan colony counter. Data jumlah koloni yang diperoleh diplotkan menjadi kurva pertumbuhan bakteri untuk menggambarkan fase lag, fase logaritmik, fase stasioner, dan fase kematian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Awal Isolat BAL

Identifikasi Awal Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dilakukan dengan mengamati karakteristik morfologi koloni dan sel, pewarnaan Gram, serta uji produksi gas CO₂ dan katalase. Tahapan ini bertujuan untuk mengenali sifat dasar isolat yang berasal dari feses luwak liar dan penangkaran. Pengamatan pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui tipe dinding sel, sedangkan bentuk dan susunan sel diamati secara mikroskopis. Uji katalase digunakan untuk memastikan ketidakaktifan enzim katalase, yang merupakan ciri khas BAL. Sementara itu, kemampuan menghasilkan gas CO₂ dalam media fermentatif menjadi indikator awal dari tipe fermentasi yang dilakukan oleh isolat. Seluruh uji awal ini memberikan dasar dalam menyaring isolat yang potensial sebagai bakteri asam laktat. Diperoleh Tabel 1. sebagai berikut:

Tabel 1. Morfologi, Pewarnaan gram, Uji CO₂, dan Uji Katalase

Kode isolat	Bentuk sel	Gram	Uji CO ₂	Uji katalase
Isolat 1 tagkar	Basil (Lonjong)	+	Tidak ada gelembung	-
Isolat 2 tangkar	Bulat (Kokus)	+	Ada gelembung	-
Isolat 1 liar	Kokus (Bulat)	+	Tidak ada gelembung	-
Isolat 2 liar	Basil (Lonjoong)	+	Ada gelembung	-

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh isolat BAL dari feses luwak liar dan penangkaran memiliki karakteristik Gram positif dan negatif terhadap uji katalase. Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh Kaban et al yang mengidentifikasi BAL dari sosis fermentasi tradisional (sucuk) dan melaporkan bahwa isolat yang teridentifikasi sebagai *Lactobacillus* spp. dan *Pediococcus* spp. memiliki karakteristik Gram positif dan tidak menunjukkan aktivitas katalase (Kaban & Kaya, 2008). Karakter ini merupakan ciri umum BAL karena mereka hidup dalam kondisi anaerob fakultatif dan tidak memerlukan enzim katalase untuk menetralkan radikal oksigen. Oleh karena itu, kesesuaian hasil ini memperkuat bahwa isolat yang diperoleh berpotensi sebagai BAL sejati.

Dua isolat dalam penelitian ini menghasilkan gas CO₂, mengindikasikan sifat heterofermentatif. Temuan ini sejalan dengan (El Ahmadi et al., 2025) yang melaporkan bahwa isolat dari susu mentah dengan produksi gas kemungkinan termasuk *Leuconostoc* atau *Weissella*, golongan BAL heterofermentatif. Sebaliknya, isolat tanpa produksi gas cenderung homofermentatif seperti *Lactobacillus acidophilus*. Pola ini mendukung karakter fisiologis BAL dan dapat digunakan sebagai dasar seleksi isolat untuk fermentasi kopi.

Pertumbuhan BAL Pada Suhu Yang Berbeda

Pengamatan terhadap pertumbuhan isolat bakteri asam laktat (BAL) pada berbagai suhu dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan adaptasi fisiologis mikroorganisme terhadap kondisi lingkungan yang berbeda. Uji ini memberikan gambaran mengenai suhu optimum, minimum, dan maksimum yang masih memungkinkan bagi isolat untuk tumbuh. Kemampuan tumbuh pada rentang suhu tertentu merupakan indikator penting dalam seleksi BAL yang potensial untuk aplikasi fermentatif atau probiotik, terutama dalam sistem yang mengalami fluktuasi suhu.

Tabel 2. Pertumbuhan BAL pada Suhu yang Berbeda

Kode isolat	15°C	37°C	45°C
Isolat 1 tagkar	Adanya sedikit endapan gas	Adanya endapan gas	Adanya endapan gas
Isolat 2 tangkar	Tidak ada endapan gas	Adanya endapan gas	Adanya sedikit endapan gas
Isolat 1 liar	Adanya sedikit endapan gas	Adanya endapan gas	Adanya endapan gas
Isolat 2 liar	Adanya endapan gas	Adanya endapan gas	Tidak

Hasil uji menunjukkan bahwa seluruh isolat BAL mampu tumbuh pada rentang suhu 15°C hingga 45°C, meskipun respons pertumbuhan berbeda-beda. Isolat menunjukkan aktivitas metabolik paling kuat pada 37°C, yang sesuai dengan kisaran suhu optimal pertumbuhan BAL mesofilik. Beberapa isolat juga menunjukkan kemampuan tumbuh pada suhu ekstrem (15°C atau 45°C), yang menunjukkan toleransi suhu yang baik. Studi oleh Su et al. (2020), menyatakan bahwa kemampuan BAL beradaptasi terhadap suhu rendah dan tinggi mencerminkan potensi aplikatifnya dalam proses fermentasi di lingkungan dengan fluktuasi suhu.

Produksi Asam pada Media Litmus Milk

Uji produksi asam pada media *litmus milk* dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan isolat dalam memfermentasi laktosa menjadi asam laktat. Proses fermentasi ini menyebabkan penurunan pH pada media, yang ditandai dengan perubahan warna indikator litmus dan koagulasi protein susu. Koagulasi terjadi akibat pengendapan kasein oleh asam yang dihasilkan, sedangkan perubahan warna media mencerminkan intensitas aktivitas fermentatif isolat. Uji ini memberikan informasi awal mengenai potensi isolat dalam aplikasi fermentasi produk berbasis susu.

Tabel 3. Uji Asam pada Media *Litmus Milk*

Kode isolat	Keterangan
Isolat 1 tagkar	++++
Isolat 2 tangkar	+
Isolat 1 liar	++++
Isolat 2 liar	+++

Hasil uji litmus milk menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu memfermentasi laktosa menjadi asam laktat dengan intensitas yang bervariasi, ditandai oleh perubahan warna media dan koagulasi protein. Isolat dengan reaksi ++++ menunjukkan aktivitas fermentatif tinggi, yang mengindikasikan kemampuan produksi asam yang kuat. Hal ini sejalan dengan temuan Guina et al. (2020), bahwa perubahan warna pada media litmus mencerminkan

kemampuan BAL dalam menurunkan pH melalui produksi asam organik. Uji ini relevan sebagai indikator awal dalam seleksi isolat untuk fermentasi susu atau produk olahan lainnya.

Ketahanan terhadap Konsentrasi Garam

Uji ketahanan terhadap konsentrasi garam dilakukan untuk menilai kemampuan isolat dalam bertahan pada kondisi lingkungan dengan tekanan osmotik tinggi. Media yang mengandung konsentrasi NaCl bervariasi digunakan untuk mengamati sejauh mana isolat mampu tumbuh dalam kondisi stres osmotik. Ketahanan terhadap garam merupakan salah satu parameter dalam seleksi bakteri asam laktat (BAL), terutama untuk aplikasi industri pangan fermentasi yang melibatkan lingkungan dengan kadar garam tinggi (Tabel 4.).

Tabel 4. Uji Konsentrasi Garam

Kode isolat	0%	4%	6,5%
Isolat 1 tagkar	+++	++	+++
Isolat 2 tangkar	++	-	+++
Isolat 1 liar	+++	+++	+++
Isolat 2 liar	++	+++	++

Uji ketahanan terhadap konsentrasi garam menunjukkan bahwa isolat BAL memiliki variasi kemampuan bertahan pada tekanan osmotik yang berbeda. Isolat yang mampu tumbuh pada konsentrasi garam 6,5% menunjukkan potensi adaptasi yang baik dalam kondisi stres osmotik, yang relevan untuk aplikasi dalam industri fermentasi pangan yang menggunakan garam sebagai bahan tambahan. Sejalan dengan penelitian oleh Beshkova et al. (2019), kemampuan BAL dalam bertahan pada konsentrasi garam tinggi mengindikasikan bahwa isolat tersebut dapat digunakan dalam produk fermentasi seperti acar atau keju yang mengandung kadar garam tinggi.

Produksi Dekstran dan Sukroosa

Kemampuan isolat (Tabel 5.) dalam menghasilkan dekstran dari substrat sukrosa diuji menggunakan media spesifik yang mendukung sintesis eksopolisakarida. Produksi dekstran merupakan hasil aktivitas enzim dekstransukrase yang mengubah sukrosa menjadi polisakarida rantai panjang. Uji ini penting untuk mengidentifikasi potensi isolat sebagai agen pembentuk biofilm atau pengental alami, yang memiliki aplikasi dalam industri pangan dan bioteknologi.

Tabel 5. Uji Dekstran dan Sukrosa

Kode isolat	Keterangan
Isolat 1 tagkar	++
Isolat 2 tangkar	+
Isolat 1 liar	+++
Isolat 2 liar	++++

Uji produksi dekstran menunjukkan bahwa isolat mampu menghasilkan eksopolisakarida dari substrat sukrosa, dengan intensitas yang berbeda-beda. Isolat yang menghasilkan dekstran lebih banyak menunjukkan potensi sebagai agen pembentuk biofilm atau pengental alami yang bermanfaat dalam industri pangan dan bioteknologi. Hal ini sejalan dengan temuan oleh (Arantes et al., 2020), yang menyatakan bahwa *Lactobacillus* spp. dapat menghasilkan dekstran yang digunakan dalam aplikasi pangan dan farmasi sebagai pengental atau bahan pengemulsi.

Fermentasi Berbagai Karbohidrat

Uji fermentasi dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan metabolik isolat dalam memanfaatkan berbagai jenis karbohidrat sebagai sumber energi. Substrat yang digunakan meliputi fruktosa (*PFY*), sukrosa (*PSY*), glukosa (*PGY*), dan manitol (*PMY*). Proses fermentasi diamati berdasarkan perubahan warna indikator pH pada media, yang menunjukkan produksi asam sebagai hasil utama metabolisme karbohidrat oleh isolat. Hasil uji ini memberikan informasi mengenai spektrum fermentatif isolat dan berkontribusi terhadap karakterisasi fisiologi serta potensi aplikatifnya dalam industri fermentasi (Tabel 6.) .

Tabel 6. Uji Kemampuan Berbagai Karbohidrat

Kode isolat	PFY	PSY	PGY	PMY
Isolat 1 tagkar	++	+++	+++	+++
Isolat 2 tangkar	+	++	++	+
Isolat 1 liar	+++	+++	+++	+++
Isolat 2 liar	+	+++	++	+

Hasil uji fermentasi menunjukkan bahwa isolat dari feses luwak liar memiliki kemampuan fermentasi yang lebih luas dibandingkan dengan isolat dari feses luwak penangkaran. Isolat 1 tagkar dan 1 liar menunjukkan fermentasi yang kuat pada sukrosa, glukosa, dan manitol, dengan perubahan warna indikator pH yang signifikan, yang menandakan produksi asam yang tinggi. Isolat 2 liar juga menunjukkan fermentasi yang baik pada sukrosa dan glukosa, sementara isolat penangkaran lebih terbatas dalam fermentasi manitol dan fruktosa. Hasil ini mengindikasikan bahwa isolat dari feses luwak liar memiliki potensi yang lebih besar dalam aplikasi fermentasi produk berbasis karbohidrat.

Produksi Asam Laktat dan pH

Analisis produksi asam laktat dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan *acidogenic* isolat, yaitu kemampuannya dalam menghasilkan asam laktat sebagai produk utama fermentasi. Produksi asam diukur secara titrimetri dan disertai dengan pengukuran pH akhir medium untuk menentukan tingkat penurunan keasaman. Parameter ini mencerminkan efisiensi fermentasi

laktosa atau karbohidrat lain oleh bakteri asam laktat (BAL), serta potensi isolat dalam aplikasi teknologi pangan yang membutuhkan lingkungan dengan pH rendah untuk pengawetan atau pengembangan rasa (Tabel 7.).

Tabel 7. Produksi Asam Laktat dan pH

Kode isolat	Asam Laktat (%)	pH
Isolat 1 tangkar	0,144%	2,44
Isolat 2 tangkar	0,072%	2,72
Isolat 1 liar	0,0936%	3,35
Isolat 2 liar	0,09%	3,42

Hasil analisis produksi asam laktat menunjukkan bahwa isolat dari feses luwak penangkaran menghasilkan lebih sedikit asam laktat dibandingkan dengan isolat dari feses luwak liar, yang tercermin dari perbedaan persentase asam laktat dan pH akhir media. Penurunan pH yang lebih tajam pada isolat 1 tagkar (pH 2,44) dibandingkan dengan isolat liar (pH 3,35–3,42) mengindikasikan efisiensi fermentasi yang lebih tinggi pada isolat penangkaran. Hasil ini sesuai dengan penelitian oleh Dong et al. (2021) yang mengemukakan bahwa produksi asam laktat dan penurunan pH dalam media fermentasi mencerminkan efektivitas bakteri asam laktat dalam menghasilkan asam, yang penting dalam aplikasi teknologi pangan seperti pengawetan atau pengembangan rasa.

Uji Amonia dan Arginin

Uji ini bertujuan menilai kemampuan isolat BAL dalam mendegradasi arginin melalui jalur arginin deiminase. Proses ini ditunjukkan oleh produksi amonia yang menyebabkan peningkatan pH media. Aktivitas ini penting untuk mengetahui adaptasi isolat terhadap lingkungan asam.

Tabel 8. Uji Amonia dan Arginin

Kode isolat	MRS Arginin Broth	Arginin Broth
Isolat 1 tagkar	Warna kemerahan	Sedikit warna orange
Isolat 2 tangkar	Warna kemerahan	Perubahan warna kuning
Isolat 1 liar	Orange sedikit kemerahan	Perubahan warna kuning sedikit orange
Isolat 2 liar	Warna kemerahan	Perubahan warna kuning Keorangean

Hasil uji amonia dan arginin menunjukkan bahwa isolat dari feses luwak penangkaran menunjukkan perubahan warna yang lebih jelas pada media, dengan isolat 2 tangkar mengalami perubahan warna yang lebih signifikan (kuning) dibandingkan isolat liar. Produksi amonia yang mengindikasikan aktivitas deaminase arginin berperan dalam meningkatkan pH media, yang menunjukkan kemampuan adaptasi terhadap kondisi lingkungan asam. Hal ini sesuai dengan temuan oleh Bernbom et al. (2020), yang mengungkapkan bahwa aktivitas arginin deiminase

oleh BAL dapat menghasilkan amonia, yang berfungsi dalam meningkatkan ketahanan bakteri terhadap lingkungan yang asam.

Identifikasi Genus dan Spesies

Tabel 9. Genus dan Spesies

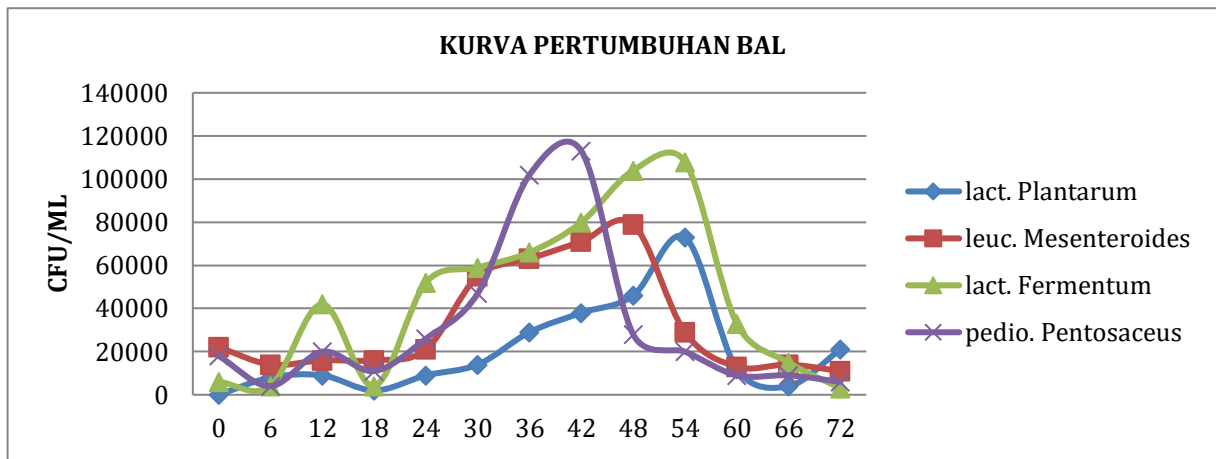
Kode isolat	Genus	Spesies
Isolat 1 tagkar	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Isolat 2 tangkar	<i>Leuconostoc spp.</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Isolat 1 liar	<i>Pediococcus spp.</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
Isolat 2 liar	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>

Identifikasi genus dan spesies isolat dalam penelitian ini menunjukkan adanya keberagaman mikroba, dengan isolat dari feses luwak penangkaran teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides*. Kedua spesies ini sering dikaitkan dengan fermentasi makanan dan memiliki potensi dalam aplikasi probiotik dan pengawetan pangan (Gänzle, 2021). *Lactobacillus plantarum* dikenal memiliki kemampuan adaptasi yang baik dalam berbagai kondisi fermentasi, sedangkan *Leuconostoc mesenteroides* banyak digunakan dalam fermentasi sayuran dan produk susu fermentasi (Harada-Padermo et al., 2020).

Sementara itu, isolat dari feses luwak liar teridentifikasi sebagai *Pediococcus pentosaceus* dan *Lactobacillus fermentum*. *Pediococcus pentosaceus* dikenal sebagai mikroba dengan kemampuan menghasilkan asam laktat dalam lingkungan rendah pH, sedangkan *Lactobacillus fermentum* berperan penting dalam fermentasi makanan yang dapat menghasilkan produk-produk dengan karakteristik organoleptik yang khas (Salazar et al., 2021). Identifikasi ini memberikan dasar yang kuat untuk aplikasi isolat dalam industri fermentasi, khususnya dalam pengembangan produk probiotik dan pengawetan.

Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat

Kurva pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) dari isolat feses luwak liar dan penangkaran menunjukkan pola pertumbuhan yang khas berdasarkan waktu inkubasi selama 72 jam. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah koloni menggunakan colony counter setiap 6 jam, dan data diplotkan menjadi kurva pertumbuhan seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat

Pada periode inkubasi antara jam 0 hingga 6, seluruh isolat menunjukkan fase adaptasi (fase lag), yang tercermin dari jumlah koloni yang relatif rendah dan fluktuatif. Isolat yang berasal dari luwak penangkaran menunjukkan penurunan jumlah koloni yang signifikan pada jam ke-6, sedangkan isolat dari luwak liar, terutama Isolat 2, mempertahankan jumlah koloni yang lebih stabil.

Memasuki jam ke-12 hingga 42, seluruh isolat mengalami peningkatan jumlah koloni yang signifikan, yang menandai fase pertumbuhan logaritmik (fase log). Pada fase ini, isolat dari luwak liar, baik Isolat 1 maupun Isolat 2, menunjukkan laju pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan isolat dari luwak penangkaran. Isolat 2 dari luwak liar mencapai jumlah koloni tertinggi yaitu 113.000 sel koloni pada jam ke-42, sedangkan isolat 2 dari luwak penangkaran hanya mencapai 79.000 sel koloni pada waktu yang sama.

Setelah 48 jam inkubasi, penurunan jumlah koloni terlihat pada seluruh isolat, yang mengindikasikan transisi ke fase stasioner dan fase kematian. Penurunan jumlah koloni lebih tajam terlihat pada isolat dari luwak liar, yang meskipun memiliki laju pertumbuhan yang lebih tinggi, menunjukkan daya tahan yang lebih rendah terhadap kondisi nutrisi terbatas dibandingkan dengan isolat dari luwak penangkaran.

Secara keseluruhan, isolat dari luwak liar menunjukkan kemampuan pertumbuhan yang lebih cepat dan mencapai puncak populasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat dari luwak penangkaran. Hal ini mengindikasikan bahwa kondisi lingkungan alami luwak liar memungkinkan seleksi terhadap bakteri asam laktat (BAL) dengan adaptasi metabolik yang lebih baik. Meskipun demikian, isolat dari luwak liar menunjukkan ketahanan yang lebih rendah pada fase stasioner dibandingkan dengan isolat dari luwak penangkaran, yang memiliki penurunan populasi yang lebih lambat. Secara umum, isolat dari luwak liar memiliki potensi

yang lebih besar untuk aplikasi fermentasi cepat, sementara isolat dari luwak penangkaran lebih stabil untuk aplikasi jangka panjang.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari feses luwak liar dan penangkaran memiliki karakteristik morfologi dan fisiologi yang berbeda. Semua isolat merupakan bakteri Gram positif dan katalase negatif, dengan variasi bentuk sel kokus dan basil. Isolat dari luwak liar menunjukkan kemampuan pertumbuhan yang lebih cepat, ketahanan terhadap konsentrasi garam yang lebih tinggi, dan aktivitas metabolisme karbohidrat yang lebih luas dibandingkan isolat dari luwak penangkaran.

Analisis kurva pertumbuhan menunjukkan bahwa isolat dari luwak liar mengalami fase logaritmik lebih cepat dan mencapai puncak jumlah koloni lebih tinggi, meskipun memiliki daya tahan lebih rendah pada fase stasioner dibandingkan isolat dari penangkaran. Identifikasi genus dan spesies mengungkapkan bahwa isolat dari luwak penangkaran terdiri atas *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides*, sedangkan isolat dari luwak liar terdiri atas *Pediococcus pentosaceus* dan *Lactobacillus fermentum*. Isolat dari luwak liar berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai starter fermentasi dalam industri pangan yang membutuhkan karakteristik fermentasi cepat, sedangkan isolat dari luwak penangkaran lebih cocok untuk aplikasi fermentasi yang membutuhkan stabilitas jangka panjang.

DAFTAR PUSTAKA

- Arantes, A. L., Moreira, J. P. C., Diender, M., Parshina, S. N., Stams, A. J. M., Alves, M. M., Alves, J. I., & Sousa, D. Z. (2020). Enrichment of Anaerobic Syngas-Converting Communities and Isolation of a Novel Carboxydophilic Acetobacterium wieringae Strain JM. *Frontiers in Microbiology*, 11(January). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00058>.
- Ayivi, R. D., & Ibrahim, S. A. (2022). Lactic acid bacteria: an essential probiotic and starter culture for the production of yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(11), 7008–7025. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16076>.
- Corsetti, A., & McFeeters, R. F. (2020). Lactic acid bacteria and fermentation of vegetables. *Food Research International*, 136, 109540.
- Dong, H., Yin, X., Wusigale, Cheng, H., Chojjilsuren, N., Chen, X., & Liang, L. (2021). Antioxidant activity and stability of α -tocopherol, resveratrol and epigallocatechin-3-gallate in mixture and complexation with bovine serum albumin. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 1788–1800. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14804>.

- El Ahmadi, K., Haboubi, K., El Allaoui, H., El Hammoudani, Y., Bouhrim, M., Eto, B., Shahat, A. A., & Herqash, R. N. (2025). Isolation and preliminary screening of lactic acid bacteria for antimicrobial potential from raw milk. *Frontiers in Microbiology*, 16(March), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1565016>.
- Guina, R. P. F., Bartkiene, E., Ucs, V. S., Tarcea, M., Ljubičić, M., Ernelič-Bizjak, M. C., Isoldi, K., El-Kenawy, A., Ferreira, V., Straumite, E., Korzeniowska, M., Vittadini, E., Leal, M., Frez-Munõz, L., Papageorgiou, M., Djekić, I., Ferreira, M., Correia, P., Cardoso, A. P., & Duarte, J. (2020). Study about Food Choice Determinants According to Six Types of Conditioning Motivations in a Sample of 11,960 Participants. *Foods*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/foods9070888>.
- Hammes, W. P., & Hertel, C. (2020). Lactic acid bacteria in fermented foods: Properties and benefits. *Food Research International*, 129, 108738.
- Harada-Paderno, S. dos S., Dias-Faceto, L. S., Selani, M. M., Alvim, I. D., Floh, E. I. S., Macedo, A. F., Bogusz, S., Dias, C. T. dos S., Conti-Silva, A. C., & Vieira, T. M. F. de S. (2020). Umami Ingredient: Flavor enhancer from shiitake (*Lentinula edodes*) byproducts. *Food Research International*, 137(June), 109540. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109540>.
- Ilmu, F. (2025). *VOLUME 10 ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF LACTIC ACID BACTERIA NOMOR 1. 10*, 118–125.
- K.Bangsa Ihsan, Y. N. R. (2018). Research Article Research Article. *Archives of Anesthesiology and Critical Care*, 4(4), 527–534.
- Kaban, G., & Kaya, M. (2008). Identification of lactic acid bacteria and Gram-positive catalase-positive cocci isolated from naturally fermented sausage (Sujuk). *Journal of Food Science*, 73(8). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00906.x>.
- Munandar, K., Afriyanti, D., & Karimah, I. (2022). Isolation And Characteristics Of Lactic Acid Bacteria In Feces Of Jember Local Mongoose. *International Applied Science*, 1(1), 43–47. <https://doi.org/10.32528/ias.v1i1.46>.
- Munandar, K., Anggelya, A. A., & Sukmawati, D. A. (2024). *In-Vitro Fermented Civet Coffee as an Alternative Coffee from the Perspective of Halal and Civet Conservation*. 3(2), 420–424.
- Rahmat, R., Djong Hon Tjong, Almurdi, A., & Wulandari, M. (2018). Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's. *Health Journal*, 5(2), 76–81.
- Risna, Y. K., Sri-Harimurti, S.-H., Wihandoyo, W., & Widodo, W. (2022). Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Itik Lokal Asal Aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 24(1), 1. <https://doi.org/10.25077/jpi.24.1.1-7.2022>.
- Salazar, N., Gueimonde, M., & Sánchez, B. (2021). Lactic acid bacteria in fermented foods: The diversity and functional characteristics. *Journal of Food Science*, 86(1), 42–52.

- Su, Z., Huang, B., Mu, Q., & Wen, D. (2020). Evaluating the Potential Antibiotic Resistance Status in Environment Based on the Trait of Microbial Community. *Frontiers in Microbiology*, 11(October). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575707>.
- Winatha, I. G. P. P., Hendrayana, M. A., Sukrama, I. D. M., & Budayanti, N. N. S. (2022). Karakteristik Bakteri Asam Laktat pada Feses Luwak di Beberapa Wilayah Pulau Bali. *E-Jurnal Medika Udayana*, 11(7), 69. <https://doi.org/10.24843/mu.2022.v11.i7.p11>.
- Wulansari, D. D., Munandar, K., & Eurika, N. (2022). Waktu Fermentasi In-Vitro Pada Kopi Robusta Lokal Jember. *National Multidisciplinary Sciences*, 1(2), 220–228. <https://doi.org/10.32528/nms.v1i2.60>.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>