

Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from the Washing Water of Mayas Rice, a Traditional Mountain Rice from East Kalimantan

Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Air Cucian Beras Gunung (Beras Mayas) Khas Kalimantan Timur

Rezti Amanda, Laode Rijai, M. Arifuddin *

Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia

*Email korespondensi : marifuddin@farmasi.unmul.ac.id

Citation: Amanda, R.; Rijai, L.; Arifuddin, M.
Isolation and identification of lactic acid bacteria
from the washing water of Mayas Rice, a tradi-
tional mountain rice from East Kalimantan. J
Riseta Naturafarm 2025, 2(2), 96–104.
<https://doi.org/10.70392/jrn.v2i2.96104>

Academic Editor: Prof. Dr. Abdul Mun'im

Received: 30 May 2025

Revised: 27 July 2025

Accepted: 02 August 2025

Publisher's Note: B-CRETA publisher stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC-BY-NC-SA) 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

ISSN: 3047-5457

Abstract

Rice washing water contains carbohydrates, vitamins, and minerals that serve as potential substrates for the growth of *Lactic Acid Bacteria* (LAB). This study aims to isolate and characterize LAB from the traditional East Kalimantan rice variety Beras Mayas. LAB isolation was performed using De Man Rogosa and Sharpe (MRS) Agar, followed by successive purification to obtain pure cultures. Identification of the isolates involved macroscopic and microscopic observations, Gram staining, and a series of biochemical assays. Three distinct LAB isolates, designated A, B, and C, were obtained. Isolates A and B exhibited circular colonies with yellowish-white pigmentation and undulate margins, suggesting affiliation with the genus *Lactobacillus*. Isolate C formed circular white colonies with entire margins, indicating a possible relationship with the genus *Streptococcus*. Biochemical testing revealed that all three isolates were negative for catalase, gelatin hydrolysis, motility, and indole production. In the Triple Sugar Iron Agar (TSIA) test, all isolates fermented glucose, lactose, and sucrose, producing yellow coloration in both the slant and butt portions of the medium. These results suggest that the isolates are homo-fermentative LAB.

Keywords: *Lactic Acid Bacteria* (LAB), Beras Gunung Washing Water, Identification

Abstrak

Air cucian beras mengandung karbohidrat, vitamin, dan mineral yang berpotensi menjadi sumber nutrisi bagi bakteri asam laktat (BAL). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BAL dari air cucian beras khas Kalimantan Timur (Beras Mayas) serta mengidentifikasi karakteristik dari isolat yang diperoleh. Isolasi BAL dilakukan menggunakan media De Man Rogosa and Sharpe Agar (MRS Agar), diikuti dengan pemurnian hingga diperoleh isolat murni. Identifikasi isolat dilakukan melalui pengamatan makroskopis, mikroskopis, pewarnaan Gram, serta serangkaian uji biokimia. Hasil isolasi menunjukkan terdapat tiga isolat BAL berbeda, yang diberi kode A, B, dan C. Isolat A dan B membentuk koloni

berbentuk bulat dengan warna kekuningan-putih dan tepi berombak (undulate), yang diduga merupakan anggota genus *Lactobacillus*. Sementara itu, isolat C memiliki koloni berbentuk bulat dengan warna putih dan tepi rata (entire), yang diduga termasuk genus *Streptococcus*. Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa ketiga isolat (A, B, dan C) memberikan hasil negatif pada uji katalase, gelatin, motilitas, dan indol. Pada uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), semua isolat mampu memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa, yang ditandai dengan perubahan warna kuning pada bagian slant dan butt. Berdasarkan hasil tersebut, ketiga isolat diklasifikasikan sebagai bakteri homofermentatif.

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat (BAL), Air cucian Beras Gunung, Identifikasi

1. PENDAHULUAN

Beras Mayas dikenal sebagai hasil pertanian organik dan diproduksi dengan pendekatan kearifan lokal yang merupakan beras unggulan dari Kalimantan Timur yang ditanam di lahan kering (gunung) dengan rasa pulen, aroma harum, tanpa pewarna dan tidak mudah basi. Sumber air cucian beras mengandung senyawa organik dan mineral, serta memiliki kandungan protein, vitamin, dan karbohidrat. Kandungan air cucian beras memiliki potensi besar dalam mikrobiologi, khususnya sebagai sumber makanan bagi mikroba seperti kelompok bakteri asam laktat. Bakteri ini dikenal karena kemampuannya mengubah karbohidrat menjadi berbagai jenis asam organik, termasuk asam laktat yang memiliki berbagai aplikasi dalam industri makanan, kesehatan, dan lingkungan [1].

Isolasi mikroorganisme adalah proses dimana mikroorganisme diambil dari lingkungannya untuk kemudian dibiakkan dalam medium tertentu. Prinsip dasar dari isolasi mikroba adalah untuk memisahkan satu jenis mikroba dari campuran mikroba lainnya yang ada dalam lingkungan tersebut. Tujuannya adalah untuk melakukan seleksi terhadap mikroorganisme tertentu yang diinginkan dari lingkungan, dan menumbuhkannya dalam kondisi murni dalam medium yang sesuai [2].

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme alami yang dapat ditemukan pada berbagai substrat. Senyawa metabolit yang dihasilkan oleh BAL telah terbukti aman, dan bahkan sering digunakan sebagai bahan pengawet alami dalam makanan. BAL memiliki kemampuan untuk bertindak sebagai antimikroba dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri tertentu, termasuk patogen. Selain itu, BAL juga mampu memproduksi komponen antimikroba seperti bakteriosin, serta menunjukkan kemampuan dalam menghambat pembentukan biofilm melalui biosurfaktan [3,4].

Bakteriosin adalah senyawa alami yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan pengawet. Senyawa ini berfungsi sebagai antibiotik alami dengan secara efektif menekan Perkembangan mikroorganisme Gram-positif dan Gram-negatif yang sedang tumbuh. Kemajuan dalam pemanfaatan BAL sebagai bahan pengawet alami melalui teknik biopreservasi telah mengalami kemajuan pesat. BAL dapat diaplikasikan secara langsung atau dapat melalui hasil metabolismenya sebagai zat antimikroba [5].

Dengan menggunakan BAL dalam proses fermentasi makanan atau minuman, produk fermentasi yang dihasilkan memiliki nilai gizi yang besar dibandingkan dengan bahan mentahnya. BAL sering digunakan sebagai starter dalam fermentasi karena mampu bertahan hidup dalam saluran pencernaan dan mampu menekan pertumbuhan bakteri pembusuk serta patogen [6]. Telah banyak studi yang dilakukan mengenai isolasi BAL, terutama pada berbagai produk makanan seperti daging mentah dan kalengan, produk susu seperti yogurt dan keju, serta produk fermentasi seperti tape dan tempe. Namun, belum ada penelitian yang mengkaji BAL dari air cucian beras gunung (beras mayas) khas Kalimantan Timur. Karena itu, penelitian dilakukan untuk mengisolasi BAL dari air cucian beras khas Kalimantan Timur dan mengkarakterisasi BAL hasil isolasi tersebut.

2. METODE

2.1. Bahan

Penelitian ini menggunakan air Beras Gunung (Beras Mayas) khas Kalimantan Timur, alkohol 95%, H₂O₂ 3%, lugol iodine, kapas, kristal violet (Merck), reagen Kovac (Merck), safranin (Merck), spiritus, serta beberapa jenis medium uji laboratorium seperti De Man Rogosa and Sharpe Agar (MRSA) (Merck), Triple Sugar Iron Agar (TSIA) (Merck), Gelatin, Sulphide Indole and Motility (SIM) (Merck), dan Methyl Red Voges Proskauer (MR–VP) (Merck).

2.2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini termasuk autoklaf, pengaduk magnetik, bakar Bunsen, cawan petri, tutup kaca dan objek kaca, cawan porselen, Erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, hot plate, inkubator, jam arloji, laminar Air Flow (LAF), freezer, mikroskop optik, jarum inoculating loop, pipet tetes, rak tabung, spatula, tabung Durham, tabung reaksi, dan timbangan analitik.

2.3. Prosedur

2.3.1 Sterilisasi alat dan bahan

Bahan seperti air disterilkan terlebih dahulu dan peralatan kaca seperti cawan petri, labu erlenmeyer, dan tabung reaksi dibersihkan, disterilkan, dan dilapisi dengan kertas sebelum disimpan. Cawan petri dilipat dengan kertas hingga seluruh permukaannya tertutup sedangkan labu erlenmeyer dan tabung reaksi ditutup menggunakan kapas yang dilapisi dengan kain kasa sebelum dilakukan sterilisasi. Peralatan disterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.

2.3.2 Pembuatan medium

2.3.2.1 Pembuatan Medium De Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA)

Pembuatan medium MRS dilakukan dengan cara berikut: MRS agar seberat 17,5 gram larutkan dalam 250 ml aquades dalam erlenmeyer. Campuran dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk hingga larut sepenuhnya. Buka tutup erlenmeyer ditutup kapas yang sudah dilapisi kain steril sebelum medium MRS agar tersebut sterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.

2.3.2.2 Pembuatan Medium De Man Rogosa and Sharpe Broth (MRSB)

Sebanyak 17,5 gram MRS broth dilarutkan dalam 250 ml aquades dalam erlenmeyer. Larutan dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk untuk memastikan larutannya larut dengan baik, dan erlenmeyer ditutup dengan kapas yang telah dilapisi kain steril. Medium MRS broth kemudian disterilkan menggunakan alat sterilisasi autoklaf pada suhu 121°C dengan waktu 15 menit.

2.3.2.3 Pembuatan Medium Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Sebanyak 6,5 gram medium TSIA ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml aquades dalam erlenmeyer. Larutan dipanaskan sambil diaduk sampai larut sempurna, lalu erlenmeyer ditutup dengan kapas yang sudah dilapisi kain steril. Medium TSIA tersebut kemudian disterilkan menggunakan alat sterilisasi autoklaf pada suhu 121°C dengan waktu 15 menit.

2.3.2.4 Pembuatan Medium Gelatin

Sebanyak 15 gram medium gelatin ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml aquades dalam erlenmeyer. Larutan dipanaskan sambil diaduk sampai larut sempurna, lalu erlenmeyer ditutup dengan kapas yang sudah dibungkus kain steril. Medium gelatin tersebut kemudian disterilkan menggunakan alat sterilisasi autoklaf pada suhu 121°C dengan waktu 15 menit.

2.3.2.5 Pembuatan Medium Sulphide Indole and Motility (SIM)

Sebanyak 3 gram medium SIM ditimbang dan larutkan dalam 100 ml aquades dalam erlenmeyer. Kemudian, campuran dipanaskan sambil terus diaduk hingga larut dengan sempurna. kemudian erlenmeyer ditutup dengan kapas yang sudah dilapisi kain steril. Medium SIM kemudian disterilkan menggunakan alat sterilisasi autoklaf pada suhu 121°C dengan waktu 15 menit.

2.3.2.6 Pembuatan Medium Methyl Red Voges Proskauer (MR–VP)

Sebanyak 3 gram medium MR–VP ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml air murni dalam erlenmeyer. Larutan dipanaskan sambil terus diaduk hingga larut sempurna, setelah itu erlenmeyer ditutup dengan kapas yang telah dilapisi kain steril. Medium MR–VP kemudian disterilkan menggunakan alat sterilisasi autoklaf pada suhu 121°C dengan waktu 15 menit.

2.3.3 Pengambilan sampel uji

Beras gunung (beras mayas) diperoleh dari Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Beras sebanyak 200 gram dicuci dengan air steril yang digunakan sebanyak 100 ml diulang sebanyak 5 kali, kemudian air steril hasil cucian yang berikutnya diambil sebanyak 1 ml setiap cawan petri yang kemudian ditambahkan MRS Agar dibiarkan hingga memadat (Metode tuang). Cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dalam inkubator.

2.3.4 Isolasi bakteri asam laktat (BAL)

Koloni yang tumbuh kemudian diinokulasi kembali ke cawan petri yang berisi medium MRS Agar dengan menggunakan teknik streak quadran, dan dibiarkan untuk diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 48 jam. Diulang dengan pengerjaan yang sama hingga diperoleh isolat BAL yang murni.

2.3.5 Karakteristik

2.3.5.1 Identifikasi makroskopik dan mikroskopik

Diidentifikasi dengan mengamati langsung bakteri yang tumbuh di medium MRSA agar dengan mengamati morfologi bakteri, baik secara langsung dan menggunakan mikroskopik

2.3.5.2 Identifikasi pewarnaan gram

Dilakukan dengan langkah-langkah berikut: koloni diambil dan difiksasi, selanjutnya diberi warna dengan pewarnaan kristal violet (Gram A) selama satu menit. Pewarnaan lugol iodine (Gram B) kemudian diterapkan dan dibiarkan selama satu menit. Langkah berikutnya adalah pewarnaan Gram C menggunakan alkohol 95% selama 30 detik, diikuti oleh Pewarna Safranin sebagai pewarnaan Gram D selama dua menit. Ditutup kaca objek menggunakan kaca penutup lalu diamati untuk melihat morfologi dan warna sel.

2.3.5.3 Pengujian biokimia

2.3.5.3.1 Uji Katalase

Sebanyak 1 ose dari kultur BAL yang berumur 24 jam diambil dan dituangkan ke object glass. Selanjutnya, ditambahkan 2 tetes H₂O₂ dengan konsentrasi 3%. Campuran didiamkan dan diamati untuk melihat terbentuknya gelembung, yang menunjukkan tes katalase positif dan indikasi terbentuknya gas CO₂. Isolat BAL menunjukkan hasil negatif pada uji katalase karena tidak menghasilkan gelembung pada objek kaca setelah penambahan H₂O₂ [1].

2.3.5.3.2 Uji TSIA

Isolat BAL diinokulasi ke dalam medium TSIA dengan cara memasukkan medium secara vertikal ke bagian bawah tabung (butt) dan melakukan gerakan zig-zag pada permukaan miring. Penggunaan medium TSIA memungkinkan pengamatan perubahan warna medium dan pertumbuhan bakteri selama inkubasi. Langkah selanjutnya diinkubasi menggunakan suhu 37°C dengan waktu 24 jam [7] Jika pada hasil observasi, medium TSIA pada bagian permukaan (slant) berubah menjadi warna merah dan bagian bawah tabung (butt) tetap kuning, Ini menggambarkan kemampuan bakteri untuk melakukan fermentasi glukosa namun tidak untuk laktosa dan juga sukrosa ketika hanya bagian butt tabung mengalami perubahan warna kuning. Namun, jika kedua bagian (slant dan butt) tabung berubah menjadi warna kuning, menunjukkan bahwa bakteri mampu memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa secara bersamaan.

2.3.5.3.3 Uji Tipe Fermentasi

Koloni bakteri diinokulasi ke dalam MRS broth pada tabung reaksi, dengan tabung Durham dimasukkan terlebih dahulu. Selama inkubasi menggunakan suhu 37°C dalam waktu 48 jam, keberadaan gelembung gas dalam tabung Durham diamati.

Hasil pengamatan ini penting untuk mengklasifikasikan bakteri sebagai heterofermentatif jika terdapat gelembung gas yang terbentuk di dalam tabung Durham, sementara bakteri homofermentatif tidak menghasilkan gelembung gas dalam kondisi yang sama [7].

2.3.5.3.4 Uji Hidrolisis Gelatin

BAL diinokulasi ke dalam medium gelatin sebanyak satu ose dan kemudian diinkubasi menggunakan suhu 37°C selama periode 72 jam. Proses ini bertujuan untuk memungkinkan pertumbuhan dan pengamatan respons mikroorganisme terhadap medium tersebut selama periode inkubasi yang memadai. Hasil dari inkubasi ini akan memberikan wawasan mengenai kemampuan bakteri dalam menghidrolisis gelatin, suatu karakteristik yang penting dalam karakterisasi biokimia dan identifikasi mikroorganisme. Selanjutnya tabung didinginkan dalam lemari es selama 25 menit. Pengamatan dilakukan dengan memeriksa konsistensi gelatin. Hasil positif ditandai dengan cairnya medium gelatin saat dimasukkan ke dalam lemari es. Hasil negatif ditandai dengan tetapnya gelatin membentuk gel saat dimasukkan ke dalam lemari es [7,8].

2.3.5.3.5 Uji Motilitas

BAL diinokulasi ke dalam medium Sulfide Indole Motility (SIM) sebanyak satu ose, kemudian dilakukan inkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam. Hasil uji menunjukkan bahwa jika pertumbuhan bakteri hanya terjadi di sekitar tusukan, hasilnya negatif (lihat Tabel 1.2). Namun, jika terdapat pertumbuhan bakteri yang menyebar ke seluruh medium, hasilnya positif. Isolat BAL menunjukkan hasil negatif karena tidak menunjukkan kemampuan bergerak (motil), yang menandakan bahwa bakteri tersebut tidak menghasilkan pergerakan yang teramati dalam medium ini [1].

2.3.5.3.6 Uji Indol

BAL diinokulasi ke dalam medium Sulfide Indole Motility (SIM) sebanyak satu ose dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Untuk mengevaluasi keberadaan indol, ditambahkan 10–12 tetes reagen Kovac ke dalam medium. Hasil yang positif ditunjukkan oleh pembentukan lapisan atau cincin berwarna merah pada permukaan medium Sulfide Indole Motility (SIM) [7].

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

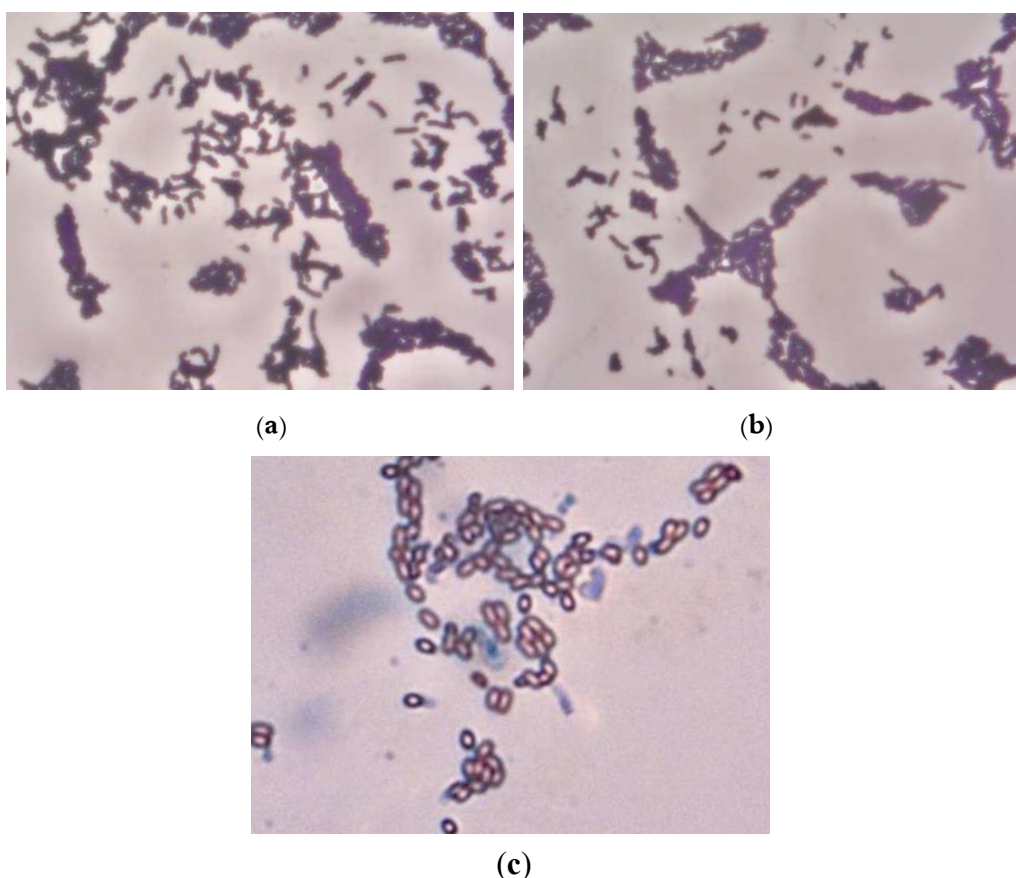
Penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi sumber isolasi bakteri asam laktat (BAL) yang belum pernah dilakukan sebelumnya yang bersumber dari Beras Mayas (Beras Gunung). BAL diisolasi menggunakan medium isolasi MRSA untuk meningkatkan pertumbuhannya dan mencapai koloni tertentu, sekaligus menekan pertumbuhan bakteri lain. Koloni yang tumbuh kemudian digoreskan ke medium dengan metode streak plate. Kelebihan metode streak plate adalah koloni bakteri yang dihasilkan berupa koloni tunggal, sehingga bakteri yang mengandung kontaminan dapat dengan mudah dibedakan, dan memungkinkan pembuatan coretan dengan pola yang spesifik [7,9]. Semakin lama koloni BAL digoreskan pada medium, jumlah koloni yang dihasilkan akan semakin sedikit sehingga diharapkan menjadi koloni tunggal. Pemurnian dilakukan berulang kali dengan medium dan perlakuan yang sama. Untuk memastikan isolat BAL telah murni, dilakukan identifikasi makroskopis, mikroskopis, pewarnaan Gram, serta uji biokimia. Hasil isolasi BAL air cucian beras, diperoleh tiga isolat BAL yang berbeda, yaitu isolat A, B, dan C.

Identifikasi makroskopis dilakukan dengan mengamati secara visual morfologi koloni bakteri yang tumbuh di medium. Observasi ini mencakup pengamatan terhadap ukuran, bentuk, warna, dan tekstur koloni yang muncul, yang merupakan langkah awal penting dalam karakterisasi mikroorganisme secara visual. Proses ini mencakup pengamatan bentuk, warna, dan tepi dari setiap koloni. Ini merupakan tahap awal dalam mengidentifikasi jenis bakteri, di mana karakteristik morfologi seperti ini penting untuk diperhatikan [10]. Pengamatan morfologi makroskopis mencakup berbagai bentuk koloni bakteri seperti bulat (circular), tidak beraturan (irregular), atau berbentuk menyebar seperti akar (rhizoid). Tepi koloni dapat beragam, seperti rata (entire), berlekuk (lobate), bergelombang (undulate), bergerigi (serrate), atau menyerupai benang (filamentous) [1].

Tabel 1. Hasil makroskopik dan mikroskopik BAL Air cucian beras gunung

Kode Isolat	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Tepian Koloni	Bentuk Sel	Sifat Gram
A	Bulat	Putih kekuningan	Bergelombang	Batang	Positif
B	Bulat	Putih kekuningan	Bergelombang	Batang	Positif
C	Bulat	Putih	Rata	Bulat	Positif

Hasil identifikasi makroskopik dari isolat BAL A, B, dan C yang diambil dari air cucian beras Gunung khas Kalimantan Timur didasarkan pada pengamatan koloni BAL yang telah dimurnikan dan tumbuh pada medium MRS agar. Koloni dari ketiga isolat tersebut diamati sebagai berikut, Isolat BAL A memiliki koloni berbentuk bulat (*circular*) dengan warna putih kekuningan dan tepi yang bergelombang (*undulate*). Isolat BAL B juga memiliki koloni berbentuk bulat (*circular*), warna putih kekuningan, dan tepi yang bergelombang (*undulate*). Sedangkan isolat C memiliki koloni berbentuk bulat (*circular*) dengan warna putih dan tepi yang rata (*entire*) (Tabel 1).

**Gambar 1.** Pewarnaan Gram Isolat A (a), B (b) dan C (c) dengan Perbesaran 100X.

Pewarnaan Gram merupakan metode untuk mengidentifikasi jenis sel bakteri berdasarkan sifat dinding selnya. Prosedur ini melibatkan empat langkah dengan penggunaan zat warna tertentu. Pertama, kristal violet (Gram A) digunakan sebagai pewarna utama yang memberikan warna ungu pada bakteri. Larutan lugol iodine (Gram B) kemudian diberikan untuk memperkuat pengikatan warna oleh bakteri. Sedangkan, alkohol (Gram C) berperan sebagai pencuci atau pewarna primer yang membilas larutan pewarna sebelumnya. Respons dari dinding sel bakteri terhadap alkohol menentukan apakah warna dasar akan tetap terikat atau hilang. Bakteri dengan dinding sel yang kuat akan mempertahankan warna ungu, sementara yang tidak, akan kehilangan warna tersebut. Langkah terakhir, safranin (Gram D), digunakan sebagai pemberi warna merah untuk bakteri sebagai pewarna sekunder. Setelah proses pewarnaan selesai, larutan pewarna dan air suling digunakan untuk

membersihkan sisa kristal violet, iodium, dan safranin dari preparat. Hasil dari pewarnaan Gram memungkinkan untuk mengamati bakteri dalam mikroskop dengan perbesaran 100 kali, di mana warna ungu menunjukkan bahwa isolat BAL ini termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif [11].

Pengamatan mikroskopis melakukan pewarnaan Gram pada isolat A, B, dan C menunjukkan bahwa mereka memiliki sifat Gram positif. Ini terlihat dari warna ungu yang tetap pada sel bakteri setelah proses pewarnaan Gram. Selain itu, dari hasil pewarnaan Gram, dapat diamati bahwa isolat A dan B memiliki bentuk batang, sementara isolat C berbentuk bulat. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang mengandung lapisan peptidoglikan tebal, memungkinkan mereka menyerap kristal violet (pewarna primer) tetap terperangkap di dalam sel bahkan setelah terpapar alkohol selama proses pencucian. Karena ini, warna ungu dari kristal violet tetap terlihat setelah langkah pewarnaan selanjutnya (terlihat pada Gambar 1.).

Pengujian biokimia yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi pengujian katalase, TSIA, jenis fermentasi, gelatin, motilitas, dan uji indol terhadap isolat BAL yang diisolasi dari air cucian beras. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengidentifikasi karakteristik yang dimiliki oleh isolat BAL yang dapat diamati langsung sehingga tidak perlu menggunakan kontrol.

Tabel 2. Hasil pengujian biokimia BAL Air cucian beras gunung

Kode Iso-lat	Pengujian Biokimia					
	Katalase	TSIA	Tipe fermentasi	Gelatin	Motilitas	Indol
A	-	k/k	Homofermentatif	-	-	-
B	-	k/k	Homofermentatif	-	-	-
C	-	k/k	Homofermentatif	-	-	-

Keterangan : (-) negatif, (k/k) = slant kuning/butt kuning.

Uji katalase adalah metode biokimia untuk mengevaluasi aktivitas enzim katalase pada bakteri. katalase memiliki kemampuan menghasilkan air (H_2O) dan oksigen (O_2) dari hasil perombakan hidrogen peroksida (H_2O_2). Pada uji katalase, larutan H_2O_2 3% ditambahkan ke kultur bakteri muda. Hasil positif uji katalase dilihat dengan adanya pembentukan gelembung udara. Bakteri yang tidak menghasilkan gelembung udara dianggap sebagai katalase-negatif [1]. Observasi terhadap isolat BAL A, B, dan C dari air cucian beras menunjukkan bahwa hasil uji katalase memberikan hasil bahwa isolat BAL ini tergolong dalam kategori katalase-negatif (Tabel 2).

Uji TSIA dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan isolat BAL dalam fermentasi karbohidrat. medium TSIA mengandung glukosa, laktosa, dan juga sukrosa [12]. Isolat BAL yang mampu mengfermentasi glukosa biasanya menunjukkan warna merah pada bagian slant dan warna kuning pada bagian butt. Bakteri yang mampu memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa akan menghasilkan warna kuning baik pada bagian slant maupun butt [7]. Karbohidrat ini tersedia dalam konsentrasi yang mencukupi sebagai substrat utama untuk fermentasi, sehingga menghasilkan reaksi asam yang tampak di seluruh medium. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat A, B, dan C mampu mengfermentasi ketiga jenis gula yaitu glukosa, laktosa, dan sukrosa, ditandai dengan adanya pembentukan warna kuning pada slant dan butt dalam uji TSIA (Tabel 2).

Uji jenis fermentasi dilakukan untuk mengklasifikasikan BAL ke dalam kelompok homofermentatif atau heterofermentatif berdasarkan hasil akhir metabolismenya. Jika BAL mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari fermentasi, ini diklasifikasikan sebagai homofermentatif. Disisi lain, dalam fermentasi heterofermentatif, selain asam laktat, juga dihasilkan etanol, asam asetat, dan berbagai produk samping lainnya [12]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat A, B, dan C yang diisolasi dari air cucian beras termasuk dalam kelompok homofermentatif. Isolat bakteri yang positif dalam uji produksi gelatin ditandai dengan medium yang mencair dalam tabung reaksi, sedangkan yang negatif ditandai dengan pembekuan medium. Pengamatan terhadap isolat dari air cucian beras menunjukkan hasil negatif (Tabel 2). Hal ini

menunjukkan bahwa BAL isolat A, B, dan C tidak mampu menghasilkan enzim gelatinase dan tidak mampu mendegradasi gelatin dalam medium.

Uji motilitas dilakukan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam bergerak, yang dimungkinkan oleh keberadaan flagela. Karakteristik motilitas atau pergerakan bakteri dapat diamati dengan melihat pertumbuhan bakteri sekitar titik dari tusukan ose dalam medium. Hasil uji motilitas terhadap isolat BAL A, B, dan C yang diisolasi dari air cucian beras menunjukkan hasil negatif atau non motil (Tabel 2). Hal ini ditunjukkan dengan kurangnya mobilitas bakteri dan munculnya pertumbuhan mirip tumbuhan menyerupai struktur akar di sekitar lokasi inokulasi, khususnya tumbuh hanya di sekitar titik tusukan yang dilakukan jarum inokulasi pada medium SIM [13].

Uji indol merupakan uji biokimia yang digunakan untuk mengevaluasi kemampuan bakteri menghasilkan indol dari aktivitas produksi enzim triptofanase yang memecah asam amino triptofan. Uji ini memberikan informasi tentang aktivitas enzim tersebut dalam bakteri. Hasil uji indol terhadap isolat A, B, dan C yang diambil dari air cucian beras menunjukkan hasil negatif, yang ditandai dengan tidak adanya lapisan atau cincin berwarna merah pada permukaan medium. Ini menunjukkan bahwa isolat tersebut tidak mampu menghasilkan indol dari triptofan yang dapat memiliki implikasi penting dalam pemahaman tentang kemampuan metabolik mikroorganisme terkait dengan pemecahan asam amino dan adaptasi terhadap lingkungan yang ditempati (Tabel 2). Hal ini disebabkan karena indol dalam medium tidak diekstraksi ke lapisan reagen oleh asam butanoat dan tidak membentuk kompleks dengan p-dimetilaminobenzaldehida [14].

Analisis menggunakan pendekatan karakteristik morfologi, pewarnaan gram dan uji biokimia memiliki keterbatasan dalam memastikan jenis dari bakteri asam laktat yang diisolasi sehingga diperlukan analisis genetik yang lebih lanjut dan rinci, seperti analisis Urutan 16S rRNA dalam menentukan spesies bakteri asam laktat tersebut.

Bakteri asam laktat dalam bermetabolisme dapat memproduksi asam laktat, bakteriosin, eksopolisakarida, Asam Gamma-Aminobutirat (GABA), penyedap rasa dan aroma serta sejumlah vitamin seperti asam folat, riboflavin (B2), vitamin C, piridoksin (B6), dan kobalamin (B12). Kriteria penting sebagai bakteri asam laktat, selain merupakan bakteri gram positif yang umumnya berbentuk kokus atau batang, juga dapat memfermentasi laktosa yang menghasilkan asam laktat termasuk juga uji katalase negatif. Selain itu, BAL yang dikenal sebagai probiotik juga tidak dapat memproduksi enzim gelatinase. Hal ini juga ditunjukkan pada *Lactocaseibacillus paracasei* dan *Lactiplantibacillus plantarum* yang menjadi probiotik potensial [15–17].

4. KESIMPULAN

Isolasi BAL dari air cucian beras gunung (Beras Mayas) khas Kalimantan Timur menunjukkan karakteristik yang berbeda secara makroskopik. Isolat BAL A dan B memiliki bentuk bulat (*circular*), dengan warna koloni putih kekuningan dan tepi yang bergelombang (*undulate*). Di sisi lain, isolat BAL C juga berbentuk bulat (*circular*), tetapi memiliki warna koloni putih dengan tepi yang rata (*entire*). Hasil identifikasi lebih lanjut menunjukkan bahwa isolat A dan B diduga masuk dalam genus *Lactobacillus*, dengan bentuk basil atau batang, tersusun secara tunggal atau berantai, serta bersifat Gram positif. Sedangkan isolat C, yang membentuk rantai pendek dan berbentuk bulat (*coccus*), diduga masuk dalam genus *Streptococcus* yang juga bersifat Gram positif.

KONTRIBUSI PENULIS: Konseptualisasi oleh Rezti Amanda, Laode rijai, M. Arifuddin; metodologi, hasil dan pembahasan oleh Rezti Amanda dan M. Arifuddin. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan.

PENDANAAN: (-).

UCAPAN TERIMA KASIH: Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman dan Kepala Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Farmaka Tropis Fakultas Farmasi atas izin yang diberikan untuk melakukan penelitian ini. Izin tersebut menjadi landasan penting dalam kelancaran proses penelitian, serta

memungkinkan peneliti untuk menjalankan metodologi penelitian dengan baik. Kepercayaan dan dukungan dari pihak fakultas sangat berarti dalam menjaga kualitas dan integritas hasil penelitian yang dihasilkan

KONFLIK KEPENTINGAN: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

REFERENSI

1. Abidin, Z., La Mudi, R., Hidayat, N., Mentari, S.D., Daryono, D., Prima, D. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from rice washing water waste. *International Journal of Science, Technology & Management* **2024**, *5*(1), 184–191.
2. Taib, E.N., Maya, H., Shabirah, R., Siregar, F.R. Isolasi dan Identifikasi Mikroba pada Tanah Bekas Pertumbuhan Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Biologi Edukasi: Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi* **2023**, *15*(2), 96–104.
3. Fachrial, E., Ismawati, I., Nugroho, T.T., Saryono, S. α -glucosidase inhibitory activity of probiotic isolate LBSU9 isolated from traditional food “Trites”: a Preliminary study. *International Journal of Basic and Applied Science* **2024**, *12*(4), 138–147.
4. Adilah, M.D., Maulana, I.T., Syafnir, L. Penelusuran pustaka potensi tanaman saga (*Abrus precatorius* L) sebagai antimikroba patogen pada sistem pencernaan. *Bandung Conference Series: Pharmacy* **2022**, *2*(2), 89–98.
5. Zendo, T. Screening and characterization of novel bacteriocins from lactic acid bacteria. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **2013**, *77*(5), 893–899. <https://doi.org/10.1271/bbb.130014>
6. Hasan, M.N., Sultan, M.Z., Mar-E-Um, M. Significance of fermented food in nutrition and food science. *Journal of Scientific Research* **2014**, *6*(2), 373–386. <https://doi.org/10.3329/jsr.v6i2.16530>
7. Ismail, Y.S., Yulvizar, C., Putriani, P. Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Bioleuser* **2017**, *1*(2), 45–53.
8. Putri, L.O.A., Kusdiyantini, E. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika* **2018**, *1*(2), 6–12. <https://doi.org/10.14710/jbt.1.2.6-12>
9. Sanders, E.R. Aseptic laboratory techniques: plating methods. *Journal of Visualized Experiments*, **2012**, 63, 3064. doi: 10.3791/3064
10. Delvia, F., Fridayanti, A., Ibrahim, A., Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari buah mangga (*Mangifera indica* L.). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* **2017**, *5*, 114–120, <https://doi.org/10.30872/mpc.v1i.36>
11. Agustine, L., Okfrianti, Y., Jumiyati, J. Identifikasi total bakteri asam laktat (BAL) pada yoghurt dengan variasi sukrosa dan susu skim. *Jurnal Dunia Gizi* **2018**, *1*(2), 79–83.
12. Hayati, K., Aýun, Q., Muthiáh, S.N., Perdana, A.T., Sultan, N., Banten, M.H. Characterization of lactic acid bacteria (LAB) from Tempeh probiotic drink with combination of Dates and Skim Milk. *Konservasi Hayati* **2024**, *2*(1), 2024. <https://doi.org/10.33369/hayati.v20i1.33104>
13. Detha, A., Datta, F.U., Beribe, E., Foeh, N., Ndaong, N. Karakteristik bakteri asam laktat yang lidolasi dari susu kuda sumba. *Jurnal Kajian Veteriner* **2019**, *7*(1), 85–92. <https://doi.org/10.35508/jkv.v7i1.08>
14. Patten, C.L., Blakney, A.J.C., Coulson, T.J.D. Activity, distribution and function of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in bacteria. *Critical Reviews in Microbiology* **2013**, *39*(4), 395–415. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2012.716819>
15. Tleuova, K.Z., Shingisov, A.U., Vetokhin, S.S. Determination of probiotic properties of lactic acid bacteria from Kazakh dairy products. *Science and innovation* **2023**, *2*(8), 56–60. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8353439>
16. Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., Geng, W. Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2021**, *9*, 612285. doi: 10.3389/fbioe.2021.612285
17. Megur, A., Daliri, E.B.M., Balnionytė, T., Stankevičiūtė, J., Lastauskienė, E., Burokas, A. In vitro screening and characterization of lactic acid bacteria from Lithuanian fermented food with potential probiotic properties. *Front. Microbiol.* **2023**, *14*, 1213370. doi: 10.3389/fmicb.2023.1213370