



Contents list available at JKP website

Jurnal Kesehatan Perintis

Journal homepage: <https://jurnal.upertis.ac.id/index.php/JKP>



Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Biji Kakao Sisa Pencernaan Musang Sebagai Kandidat Probiotik

Wilda Laila¹, Sri Indrayati^{1*}, Muthia Miranda Zaunit², Harleni Harleni¹

¹Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia, Sumatera Barat, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia, Sumatera Barat, Indonesia

Article Information :

Received 24 September 2024 ; Accepted 15 January 2025; Published 22 January 2025

*Corresponding author: endlesofichy@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat (BAL) berperan dalam menyeimbangkan mikrobiota usus dalam sistem pencernaan sehingga berperan sebagai probiotik. Salah satu sumber BAL alami adalah dari biji kakao sisa pencernaan musang. Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengetahui karakterisasi dari bakteri asam laktat (BAL) dari biji kakao sisa pencernaan musang sehingga dapat diketahui potensinya sebagai kandidat probiotik alami untuk diaplikasikan dalam bidang pangan atau kesehatan. Metode yang digunakan adalah studi eksploratif, dengan bahan yang digunakan adalah sisa pencernaan dari musang yang dikumpulkan dan diisolasi BALnya dengan menggunakan media MRSA + CaCO₃ 1 %. Selanjutnya dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis terhadap isolat yang didapatkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diperoleh 16 isolat yang di isolasi dari sampel, namun hanya 8 isolat yang dapat dikategorikan sebagai bakteri asam laktat yang dicirikan merupakan bakteri gram positif dengan uji katalase negatif. Dapat disimpulkan biji kakao sisa pencernaan musang mengandung bakteri asam laktat yang dapat digunakan sebagai kandidat probiotik.

Kata kunci : Bakteri asam laktat, biji kakao, sisa pencernaan musang, kandidat probiotik

ABSTRACT

Lactic Acid Bacteria (LAB) play a role in balancing the gut microbiota in the digestive system, thus acting as probiotics. One of the natural sources of LAB is from cocoa beans left over from civet digestion. The purpose of this study is to isolate and characterize LAB lactic acid bacteria from civet digestive residue cocoa beans so that it can be potential as a natural probiotic candidate to be applied in food or health. The method used was an exploratory study, with the material used was the digestive waste from civets collected and isolated LAB using MRSA + CaCO₃ 1% media. Furthermore, macroscopic and microscopic observations were made on the isolates obtained. The results showed that 16 isolates were isolated from the sample, but only 8 isolates could be categorized as lactic acid bacteria characterized as gram-positive bacteria with negative catalase test. It can be concluded that civet digestive waste cocoa beans contain lactic acid bacteria that can be used as probiotic candidates.

Keywords: Lactic acid bacteria, cocoa beans, civet digestive waste, probiotic candidates

PENDAHULUAN

Mikrobiota adalah kelompok mikroorganisme yang hidup dalam tubuh manusia dan memainkan peran penting dalam sistem kekebalan tubuh manusia dan penyerapan zat gizi (Moossavi & Azad, 2020). Mikrobiota usus yang komposisinya tidak seimbang dapat berkontribusi terhadap kejadian stunting. Stunting adalah penyebab utama hampir setengah dari semua kematian di lima anak (Masrul *et al.*, 2020).

Salah satu mikrobiota yang berperan di dalam saluran pencernaan adalah Bakteri Asam Laktat (BAL). Beberapa strain BAL disebut juga sebagai probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan efek positif pada inangnya dengan meningkatkan keseimbangan mikrobiota usus, sehingga probiotik dikenal karena manfaatnya yang baik untuk kesehatan (Nandha & Shukla, 2023).

Saat ini, seiring dengan berkembangnya teknologi fermentasi, pemanfaatan makanan probiotik juga meningkat pesat. Namun dalam pengembangan industri pangan probiotik, sebagian besar masih mendatangkan isolat probiotik dari luar negeri yang berdampak pada tingginya harga produk pangan probiotik.

Biji kakao yang telah melewati proses pencernaan musang yang dikeluarkan dalam bentuk feses merupakan salah satu sumber Bakteri Asam Laktat yang alami. Mikroorganisme dan enzim yang telah ditemukan pada saluran pencernaan musang memainkan peranan utama untuk fermentasi biji yang dikonsumsi, dan terbukti meningkatkan kualitas biji tersebut (Marcone, 2004)(Febrina *et al.*, 2021).

Musang merupakan hewan omnivora yang tentunya juga mengkonsumsi buah-buahan. Misalnya seperti buah kopi, sehingga berkembang menjadi suatu produk unggulan Indonesia yaitu kopi luwak. Tidak hanya buah kopi, musang juga mengkonsumsi buah yang lain seperti buah kakao. Namun, dalam sistem pencernaannya musang hanya mencerna bagian daging buahnya saja, sedangkan biji akan dikeluarkan kembali dalam bentuk feses (Sibarani *et al.*, 2023).

Hasil penelitian sebelumnya berhasil diisolasi dari feses luwak (*P.*

hermaphroditus) diperoleh 44 isolat bakteri yang diduga termasuk dalam dua genera yaitu genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* dengan tiga spesies yaitu *L. casei*, *L. brevis* dan *B. Bifidum* (Sibarani *et al.*, 2023)

Penelitian lain tentang isolasi ragi dan bakteri asam laktat terhadap mamalia sejenis musang di hutan amazon Peru yaitu *Nasua nasua* yang memiliki kontribusi terhadap kualitas sensori kopi spesial (kopi misha). Bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi *Weisella paramesenteroides* LBTF.Bal2, *Weisella cibaria* LBTF.Bal3 *Enterococcus thailandicus* menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *S. mutans* ATCC 35668, *B. subtilis subsp. spizizenii* ATCC 6633 dan *Staph. epidermidis* ATCC 14990. Hasil penelitian ini berguna untuk mencari potensi isolat dalam bidang kesehatan ataupun fermentasi makanan lainnya (Pérez-Escalante *et al.*, 2021).

Namun, sejauh ini belum ada penelitian yang dikembangkan untuk mengembangkan penelitian Isolat bakteri asam laktat dari feses musang untuk dikembangkan dalam menfermentasi biji kakao sehingga menghasilkan minuman yang spesial. Biji kakao yang didapatkan dari pencernaan musang ini diharapkan nantinya menghasilkan suatu produk unggulan juga bagi Indonesia, yang diharapkan nantinya dapat mendunia seperti halnya kopi luwak.

Penelitian ini menerapkan bioteknologi baru dengan biaya yang sedikit, mudah diterapkan di masyarakat. Untuk itu, penelitian ini perlu dimulai dan dilakukan, karena akhir rangkaian penelitian ini akan menghasilkan suatu produk pangan inovatif. Selain itu, bakteri asam laktat ini juga mempunyai manfaat bagi kesehatan dengan menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen. Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengisolasi, menguji potensi, dan identifikasi molekuler strain BAL yang diisolasi dari biji kakao dalam feses luwak sehingga dapat berpotensi sebagai kandidat probiotik alami untuk diaplikasikan dalam produksi coklat luwak.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah studi eksploratif untuk mengisolasi Bakteri Asam Laktat dari biji kakao sisa pencernaan musang. Tempat

Penelitian Di Laboratorium Biologi Medik Universitas Perintis Indonesia. Adapun prosedur penelitian yang akan dilakukan adalah :

Tahap Persiapan

Sterilisasi alat dan medium yang akan digunakan dengan menggunakan autoclaf pada suhu 121° C, tekanan 15 lbs selama 20 menit. Sedangkan pengumpulan sampel sisa pencernaan musang dikumpulkan dalam botol sampel yang steril yang diisi dengan larutan NaCL fisiologi, lalu disimpan dalam kotak es untuk dibawa ke Laboratorium tempat penelitian.

Tahap Pelaksanaan

Isolasi bakteri asam laktat dari biji kakao dari hasil sisa pencernaan musang dilakukan dengan media MRSA tersuplementasi CaCO₃ 1% secara *pour plate*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam pada kondisi anaerobik. Kandidat BAL dicirikan dengan koloni yang menghasilkan zona bening (Suryani *et al.*, 2022). Karakterisasi bakteri asam laktat sebagai kandidat probiotik diawali dengan pembuatan kultur murni dari BAL yang telah berhasil diisolasi media MRSA. Selanjutnya dilakukan pengamatan makroskopis terhadap koloni dan mikroskopis terhadap sel BAL.

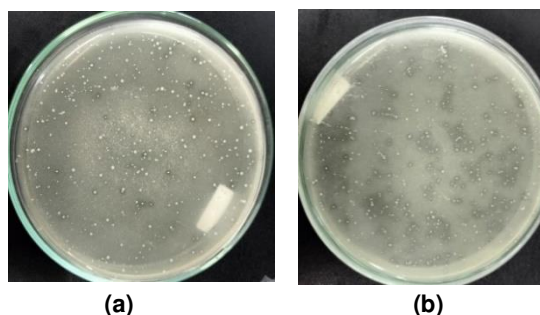
Pengamatan secara makroskopis terhadap koloni meliputi warna, bentuk, tepian dan elevasi. Pengamatan secara mikroskopis terhadap sel meliputi bentuk sel, susunan sel, ukuran sel, pewarnaan gram dan uji biokimia. Selanjutnya pendekatan yang dilakukan untuk melihat potensi isolat BAL sebagai kandidat probiotik adalah melihat aktivitas antimikrobanya terhadap bakteri patogen. Bakteri patogen yang diujikan adalah Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Eksplorasi Bakteri Asam Laktat sebagai kandidat probiotik dari sumber alami untuk digunakan dalam makanan atau obat menjadi suatu hal yang perlu dikembangkan. Salah satu sumbernya adalah sisa pencernaan dari musang atau di Indonesia juga sering disebut dengan luwak.

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri asam laktat terhadap biji kakao yang dikeluarkan dari proses pencernaan musang dilakukan dengan menggunakan media *deMan, Rogosa, and Sharpe Agar* (MRSA) dengan penambahan CaCO₃ sebanyak 1%. Pertumbuhan bakteri asam laktat pada media ini ditandai dengan terbentuknya daerah zona bening (hallo) disekitar koloni. Terbentuknya daerah bening di sekitar koloni BAL ini merupakan hasil reaksi kimia antara asam yang dihasilkan oleh BAL dengan CaCO₃ yang bersifat basa sehingga menghasilkan daerah netral disekitar koloni (gambar 1).

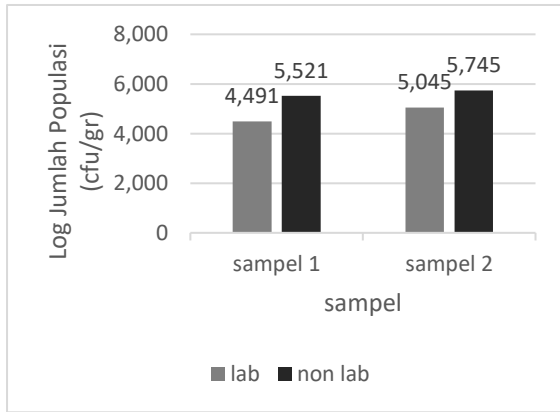


Gambar 1. Pertumbuhan bakteri pada media MRSA; (a) sampel sisa pencernaan musang jantan, (b). sampel sisa pencernaan musang betina

Daerah “halo” terjadi karena BAL menghasilkan asam laktat dan asam organik lainnya dalam jumlah besar. Asam ini bereaksi dengan basa CaCO₃ yang ditambahkan melalui reaksi netralisasi, sehingga menetralkan daerah sekitar koloni yang mengandung asam dan menciptakan daerah atau zona bersih (Suryani *et al.*, 2017). Sifat dasar kalsium karbonat adalah menetralkan dan melokalisasi produksi asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (Sunaryanto & Marwoto, 2013).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari biji kakao sisa pencernaan musang yang terdiri dari musang jantan dan musang betina. Penghitungan BAL dan non-BAL dilakukan pada sisa pencernaan dari musang Jantan dan musang betina. Adapun jumlah rata-rata bakteri yang didapatkan dari masing-masing sampel dapat dilihat pada gambar 2.

Dari gambar 2 dapat diperhatikan bahwa pada sampel sisa pencernaan musang betina maupun musang jantan lebih



Gambar 2. Hasil penghitungan koloni bakteri (Sampel 1 : sisa pencernaan musang betina, Sampel 2 : sisa pencernaan musang jantan)

didominasi oleh bakteri non-BAL (non-LAB). Jumlah total lempeng BAL (LAB) pada sampel sisa pencernaan musang betina adalah 4,491 log CFU/ml dan musang jantan 5,521 log CFU/ml. Sedangkan untuk jumlah total lempeng non-BAL pada sampel sisa pencernaan musang betina adalah 5,521 log CFU/ml, dan musang jantan 5,745 log CFU/ml. Hal ini dikarenakan sisa pencernaan musang yang dijadikan sampel dalam penelitian ini tentunya telah melewati usus besar. Usus besar mengandung komposisi bakteri non-LAB lebih banyak dibandingkan dengan BAL. Jumlah BAL di setiap bagian pencernaan lebih tinggi daripada non-LAB kecuali di usus besar (Suhandono *et al.*, 2016). Jumlah mikroorganisme pada saluran pencernaan bagian atas (lambung, usus halus) lebih rendah, dibandingkan dengan saluran pencernaan bagian bawah yaitu usus besar (Muzaifa *et al.*, 2021).

Ada banyak upaya untuk memperkirakan jumlah spesies bakteri di saluran pencernaan, namun hasilnya dianggap kontroversial. Sebagian besar data perkiraan tidak menggambarkan secara lengkap komposisi mikrobiota saluran cerna, seperti diketahui sebagian besar bakteri di saluran cerna tidak dapat tumbuh pada media yang digunakan. Bakteri yang diisolasi pada penelitian ini adalah jumlah bakteri yang dapat tumbuh dengan baik pada media isolasi MRSA, sehingga bakteri yang diperoleh pada penelitian ini dibatasi hanya bakteri yang dapat tumbuh dengan baik pada media tersebut (Suhandono *et al.*, 2016).

Sebanyak 16 isolat bakteri yang dipindahkan ke biakan murni untuk dapat di pelajari lebih lanjut karakteristik masing-masingnya. Metode biakan murni yang digunakan adalah metode streak plate menggunakan media MRSA tanpa penambahan CaCO_3 . Tujuannya adalah untuk mengkarakterisasi, mengidentifikasi, dan mempelajari BAL yang sebelumnya telah diisolasi. Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis morfologi bakteri yang berhasil diisolasi memiliki bentuk koloni yang bervariasi.

Karakterisasi Koloni Bakteri Asam laktat

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis koloni morfologi bakteri yang berhasil diisolasi dapat dilihat pada tabel 1.

Hasil temuan yang dapat dilihat pada tabel 1 menunjukkan hasil pengamatan secara makroskopis koloni morfologi bakteri BAL yang berhasil diisolasi memiliki bentuk bulat, oval, dan ada yang tidak beraturan. Pinggiran pada umumnya rata, sedangkan permukaan cembung. Dan apabila dilihat dari karakteristik warna koloni ada yang berwarna putih susu, putih kekuningan dan kuning terang. Berdasarkan karakteristik morfologi koloni bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi menunjukkan keberagaman di tingkat koloni. Hal ini disebabkan karena setiap koloni bakteri tentunya menghasilkan ekspresi gen yang berbeda.

Perbedaan ekspresi gen menyebabkan morfologi koloni bakteri dapat bervariasi dari satu strain ke strain lainnya. Setiap koloni mempunyai ciri-ciri yang berkaitan dengan ukuran, bentuk, tepi, tekstur, permukaan dan warna. Koloni bakteri tumbuh dari satu sel dan terdiri dari jutaan sel. Munculnya koloni berbeda yang tumbuh pada media yang sama dapat disebabkan oleh jenis bakteri yang berbeda. Namun hal ini tidak selalu terjadi karena terdapat juga spesies bakteri dengan morfologi koloni yang sama. Parameter pengamatan morfologi koloni yang diamati hanya dapat digunakan untuk identifikasi awal spesies bakteri. Untuk selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram, uji katalase untuk mengetahui bahwa bakteri yang telah diisolasi merupakan bakteri asam laktat.

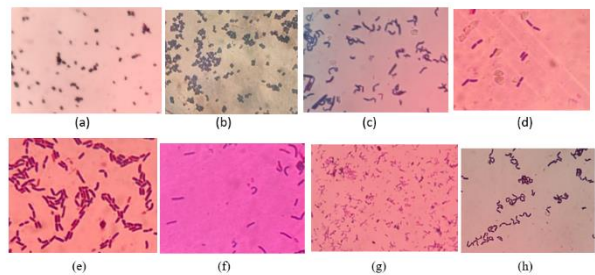
Tabel 1. Morfologi Isolat Bakteri Asam Laktat

Isolat	Morfologi Isolat Bakteri asam Laktat				
	Bentuk	Pinggiran	Permukaan	Warna	Diameter (mm)
M1	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu	2
M2	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu	0,5
M3	Oval	Rata	Cembung	Putih susu	2
M4	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu	2
M5	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu	0,5
M6	Oval	Rata	Cembung	Putih susu	1
M7	Tidak teratur	Rata	Cembung	Putih Kekuningan	3
M8	Bulat	Rata	Cembung	Putih Kekuningan	2
M9	Bulat	Rata	Cembung	Putih Kekuningan	1
M10	Bulat	Rata	Cembung	Putih Kekuningan	1,5
M11	Bulat	Rata	Cembung	Putih Kekuningan	1
M12	Bulat	Rata	Cembung	Putih Kekuningan	1
M13	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu	0,5
M14	Bulat	Rata	Cembung	Putih Kekuningan	1
M15	Bulat	Rata	Cembung	Putih Kekuningan	1
M16	Bulat	Rata	Cembung	Kuning terang	1

Karakteristik Morfologi Sel Bakteri Asam Laktat

Sifat fenotipik isolat BAL ditentukan dengan memeriksa ciri morfologi dan biokimia. Adapun hasil pengamatan terhadap morfologi sel BAL ini dari awalnya 16 isolat yang telah berhasil di isolasi hanya 8 isolat yang menunjukkan bakteri Gram positif.

Isolat BAL dikonfirmasi menggunakan pewarnaan Gram. Isolat yang diduga sebagai bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif (gambar 3). Hasil temuan yang didapatkan pada tabel 2 menyatakan pada uji pewarnaan Gram, dapat diperhatikan isolat BAL menunjukkan warna akhir biru/ungu yang artinya Bakteri Gram positif. Hal ini karena pada bakteri BAL mempunyai lapisan peptidoglikan yang lebih tebal. Pada saat pengamatan dibawah



Gambar 3. Pengamatan Mikroskopis Bakteri asam laktat dengan pewarnaan gram, dengan kode isolat (a) M1; (b) M2; (c) M3; (d) M4; (e) M5; (f) M8; (g) M13; (h) M14

mikroskop dapat pula diamati bentuk dari isolat yaitu ada yang bulat (coccus) dan ada yang berbentuk batang (bacil).

Selanjutnya, uji katalase digunakan sebagai uji biokimia untuk mengklasifikasikan bakteri menjadi dua kelompok: katalase positif dan katalase negatif. Katalase adalah enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme untuk memecah metabolit hidrogen peroksida. Bakteri anaerob umumnya kekurangan enzim katalase. Bakteri katalase-negatif bertahan dalam kondisi anaerobik dan tidak menghasilkan hidrogen peroksida selama metabolisme. Berbeda dengan kebanyakan bakteri anaerob, semua BAL tumbuh secara anaerobik. BAL tumbuh baik dengan adanya oksigen (anaerob dan aerobik). BAL yang ditumbuhkan dalam kondisi aerobik juga menunjukkan katalase negatif. Artinya

Tabel. 2. Hasil Pewarnaan gram Bakteri asam laktat

isolat	Bentuk sel	Pewarnaan Gram	Katalase
M1	Coccus	Gram +	Negatif
M2	Coccus	Gram +	Negatif
M3	Basil	Gram +	Negatif
M4	Basil	Gram +	Negatif
M5	Basil	Gram +	Negatif
M8	Coccus	Gram +	Negatif
M13	Coccus	Gram +	Negatif
M15	Basil	Gram +	Negatif

enzim peroksidase digunakan untuk menghancurkan hidrogen peroksida (Suhandono *et al.*, 2016).

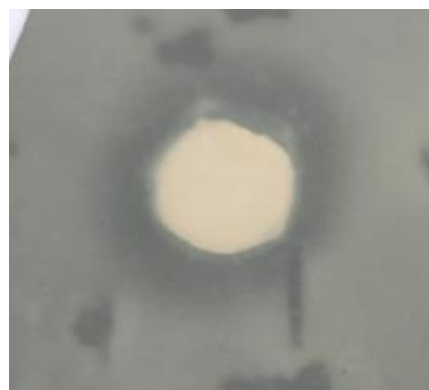
Pada uji katalase, isolat BAL yang menunjukkan reaksi katalase negatif yang ditunjukkan tidak dihasilkannya gelembung gas saat pengujian dilakukan. Hal ini menunjukkan isolat tersebut tidak memiliki enzim katalase yang berfungsi memecah H₂O₂. Isolat dengan reaksi Gram positif dan katalase negatif tersebut, diduga sebagai bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat dikarakterisasi gram positif, untuk aktivitas katalase semua strain negatif (tidak ada gelembung yang teramati)(Kang *et al.*, 2020). Pada uji katalase, empat isolat BAL menunjukkan hasil katalase negatif yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gelembung O₂ setelah pemberian H₂O₂ 3% (Falakh & Astri, 2022). Bakteri asam laktat tidak dapat memecah hidrogen peroksida karena termasuk bakteri katalase negatif (Sibarani *et al.*, 2023). Kelompok BAL berbentuk batang, Gram positif, dan katalase negatif merupakan BAL dari genus *Lactobacillus*. Bakteri ini mempunyai ciri khas pertumbuhan berwarna putih susu pada media agar MRS.

Uji Aktivitas Antimikroba

Uji antimikroba yang dilakukan adalah terhadap bakteri patogen yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang masing-masing mewakili kelompok bakteri gram positif dan negatif. Dalam tabel 3 disajikan diameter zona hambat isolat dari sisa pencernaan musang terhadap bakteri patogen. Adanya aktivitas hambat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram.

Tabel 3. Uji Antimikroba Isolat Bakteri asam Laktat terhadap bakteri Pathogen

Isolat	Diameter daya hambat (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>S. aureus</i>
M1	≤ 6	≤ 6
M2	≤ 6	≤ 6
M3	≤ 6	≤ 6
M4	≤ 6	≤ 6
M5	≤ 6	≤ 6
M8	15	≤ 6
M13	15	≤ 6
M15	10	≤ 6



Gambar 5. Diameter daya hambat Isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri *E. coli*

Isolat bakteri asam laktat dari sisa pencernaan musang memiliki daya hambat paling tinggi dengan diameter 15 mm dengan kategori kuat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Aktivitas zona hambat dikelompokkan menjadi empat kategori yaitu: aktivitas lemah (<5mm), sedang (5–10mm), kuat (>10–20mm), sangat kuat (>20–30mm). Aktivitas daya hambat bakteri dinyatakan berdasarkan zona bening yang dihasilkan di sekitar kertas cakram. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm. Semakin besar zona bening yang terbentuk, maka semakin besar aktivitas penghambatan isolat bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen. Aktivitas bakteri asam laktat dalam menghambat bakteri Gram negatif *E. coli* lebih peka bila dibandingkan terhadap bakteri Gram positif *S. aureus*. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut (Ismail *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) yang didapatkan sebanyak 8 isolat, karakterisasi bakteri asam laktat bersifat Gram positif dan katalase negatif, Diameter zona hambat untuk isolat M8 dan M13 menunjukkan kategori kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Kepada Masyarakat; Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi; Kementerian Pendidikan, kebudayaan, Riset, dan Teknologi dengan Kontrak Nomor

112/E5/PG.02.00.PL/2024 yang telah memberikan dana hibah sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

REFERENSI

- Falakh, F., & Astri, T. (2022). Uji Potensi Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L .) sebagai Antimikroba terhadap Salmonella. *Food Chemistry: X*, 18(1), 40–45.
- Febrina, L., Happyana, N., & Syah, Y. M. (2021). Metabolite profiles and antidiabetic activity of the green beans of Luwak (civet) coffees. *Food Chemistry*, 355(December 2020), 129496. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129496>
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani. (2017). Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *Bioleuser*, 1(2), 45–53.
- Kang, W., Pan, L., Peng, C., Dong, L., Cao, S., Cheng, H., Wang, Y., Zhang, C., Gu, R., Wang, J., & Zhou, H. (2020). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from human milk. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 9980–9991. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18704>
- Marcone, M. F. (2004). Composition and properties of Indonesian palm civet coffee (Kopi Luwak) and Ethiopian civet coffee. *Food Research International*, 37(9), 901–912. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.05.008>
- Masrul, M., Izwardy, D., Sudji, I. R., Purnakarya, I., Syahrial, S., & Nindrea, R. D. (2020). Microbiota profile with stunting children in west sumatera province, indonesia. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 8(E), 334–340. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2020.4209>
- Moossavi, S., & Azad, M. B. (2020). Origins of human milk microbiota: new evidence and arising questions. *Gut Microbes*, 12(1), 1667722. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1667722>
- Muzaifa, M., Hasni, D., Abubakar, Y., Febriani, & Abubakar, A. (2021). Enumeration and characterization of bacteria from civet gastrointestinal tract. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 667(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/667/1/012002>
- Nandha, M. C., & Shukla, R. M. (2023). Exploration of probiotic attributes in lactic acid bacteria isolated from fermented *Theobroma cacao* L. fruit using in vitro techniques. *Frontiers in Microbiology*, 14(September), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1274636>
- Pérez-Escalante, J. J., Gómez-Chávez, I. A., & Estela-Escalante, W. D. (2021). Isolation of microorganisms from the feces of ring-tailed coati related to the production of “misha coffee” in the central forest of Peru and evaluation of some features of technological importance. *Microbiological Research*, 245(December 2020), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126670>
- Sibarani, A. E. E. B., Rahmawati, R., & Saputra, F. (2023). Identification of Lactic Acid Bacteria From Pandan Civet Feces (*P. hermaphroditus*) in West Kalimantan Based on Phenotypic Similarity. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(4), 37–49. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i4.5314>
- Suhandono, S., Setiadi, H., Kristianti, T., Budhi Kusuma, A., Warih Wedaringtyas, A., Tristan Djajadi, D., & Pugeg Aryantha, I. N. (2016). Diversity of Culturable Bacterial in Various Parts of Luwak's (*Paradoxurus hermaproditus javanica*) Gastrointestinal Tract. *Microbiology Indonesia*, 10(2), 65–70. <https://doi.org/10.5454/mi.10.2.4>
- Sunaryanto, R., & Marwoto, B. (2013). Isolasi, Identifikasi, Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Dadih Susu Kerbau. *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia*, 14(3), 228–233. <https://doi.org/10.29122/jsti.v14i3.931>
- Suryani, S., Nofiandi, D., Mukhtar, H., Siska, M., Dharna, A., & Nasir, N. (2017). Identifikasi molekular bakteri

asam laktat *Lactobacillus paracasei* yang ada pada lapisan minyak vco. *Jurnal Katalisator*, 2(2), 79. <https://doi.org/10.22216/jk.v2i2.2517>
Suryani, S., Purnawati, Y., Gemaeka Putri, S., Rahmawati, R., Akbar, Y., & Yusra,

Y. (2022). Novel Probiotic Isolation of Coconut Water's Helpful Lactic Acid Bacteria Cure Covid-19 Patients. *ARRUS Journal of Engineering and Technology*, 2(1), 1–11. <https://doi.org/10.35877/jetech724>