

**LAPORAN AKHIR
HIBAH RISET GURU BESAR UNIVERSITAS ANDALAS
TAHUN KE - 2**



**APLIKASI BIOTEKNOLOGI BAKTERI ASAM LAKTAT DAN
BAKTERIOSIN ISOLASI DARI SUSU KERBAU DAN DADIH UNTUK
MENURUNKAN KOLESTEROL, PENGAWET BAHAN MAKANAN,
KOSMETIK DAN ENERGI**

TIM PENELITI:

Prof. drh. Hj. Endang Purwati, MS., Ph.D; NIDN. 0017035106 (Ketua)

Dr. drh. Yulia Yellita, MP; NIDN. 0012076102 (Anggota)

Sri Melia, STP, MP; NIDN. 0004067502 (Anggota) (Mahasiswa S3)

Puji Hartini R. S.Pt; No. BP : 1621652001 (Anggota) (Mahasiswa S2)

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS**

2017

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR
HIBAH RISET GURU BESAR UNIVERSITAS ANDALAS**

Judul Penelitian	:	Aplikasi Bioteknologi Bakteri Asam Laktat dan Bakteriosin Isolasi dari Susu Kerbau dan Dadih untuk Menurunkan Kolesterol, Pengawet Bahan Makanan, Kosmetik dan Energi
Ketua Peneliti	:	
a. Nama Lengkap	:	Prof. drh. Hj. Endang Purwati, MS., Ph.D
b. NIDN	:	0017035106
c. Jabatan Fungsional	:	Guru Besar
d. Program Studi	:	Ilmu Peternakan
e. Nomor HP	:	081267529701
f. Alamat surel (e-mail)	:	purwati17@yahoo.co.id
Anggota Peneliti (1)	:	
a. Nama Lengkap	:	Dr. drh. Yulia Yellita, MP
b. NIDN	:	0012076102
c. Perguruan Tinggi	:	Universitas Andalas
Anggota Peneliti (2)	:	
a. Nama Lengkap	:	Sri Melia, STP, MP
b. NIDN	:	0004067502
c. Perguruan Tinggi	:	Universitas Andalas
d. Mahasiswa	:	Pascasarjana S3
Anggota Peneliti (3)	:	
a. Nama Lengkap	:	Puji Hartini R. S.Pt
b. No. BP	:	1621652001
c. Mahasiswa	:	Pascasarjana S2
Lama Penelitian Keseluruhan	:	3 Tahun
Penelitian Tahun ke-	:	2
Biaya Penelitian Tahun Berjalan	:	Rp. 105.000.000

Padang, 4 Desember 2017

Menyetujui,
Ketua LPPM Unand

Ketua Peneliti,

(Dr. Ing. Uyung Gatot S. Dinata)
NIP. 19660709 199203 1 003

(Prof. drh. Hj. Endang Purwati, MS., Ph.D)
NIP. 19510317 197803 2 001

DAFTAR ISI

	halaman
Daftar Isi	2
Daftar Tabel	3
Daftar Gambar	4
Ringkasan	6
BAB I. PENDAHULUAN	7
BAB II. HASIL PENELITIAN	11
A. Temuan DNA Baru untuk Bakteri Asam Laktat (16S rRNA) Susu Kerbau dan Dadih Sumatera Barat	11
B. Aplikasi <i>Lactobacillus oris</i> isolasi susu kerbau Kabupaten Agam dan <i>Lactobacillus fermentum</i> isolasi Dadih dari Kabupaten Solok	20
C. <i>Output</i> Penelitian Hibah Guru Besar	29
DAFTAR PUSTAKA	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.	Hasil total koloni aerob dan BAL susu kerbau
Tabel 2.	Genom BAL susu kerbau
Tabel 3.	Hasil strain Bakteri Asam Laktat dari susu kerbau
Tabel 4.	Hasil total koloni aerob dan BAL dadih
Tabel 5.	Genom BAL Dadiah
Tabel 6.	Hasil strain Bakteri Asam Laktat dari dadih
Tabel 7.	Hasil kadar protein , lemak, kadar air, kadar pH dan keasaman dadih
Tabel 8.	Rataan Nilai pH Yoghurt
Tabel 9.	Rataan Total Koloni Bakteri Asam Laktat Yoghurt
Tabel 10.	Rataan Aktivitas Antioksidan Yoghurt
Tabel 11.	Rataan Kadar Kolesterol Yoghurt
Tabel 12.	Nilai Rataan AktivitasAntioksidan Diversifikasi Dadih ..
Tabel 13.	Rataan Kadar Kolesterol Nugget Dadih Hasil Penelitian

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Koloni Bakteri Asam Laktat Susu Kerbau	11
Gambar 2. Hasil PCR BAL Susu Kerbau	12
Gambar 3. Hasil Sekuen Sampel 1 susu kerbau	12
Gambar 4. Hasil Sekuen Sampel 2 susu kerbau	13
Gambar 5. Hasil Blast Sampel 1 susu kerbau	13
Gambar 6. Hasil Blast Sampel 2 susu kerbau	13
Gambar 7. Hasil Filogenetik Sampel 1 susu kerbau	14
Gambar 8. Hasil Filogenetik Sampel 2 susu kerbau	14
Gambar 9. Hasil Filogenetik Sampel 3 Susu Kerbau	14
Gambar 10. Hasil Filogenetik Sampel 4 Susu Kerbau	15
Gambar 11. Hasil Filogenetik Sampel 5 Susu Kerbau	15
Gambar 12. Koloni Bakteri Asam Laktat Dadih	16
Gambar 13. Hasil PCR BAL Dadih	17
Gambar 14. Hasil Sekuen Sampel 1 Dadih	17
Gambar 15. Hasil Sekuen Sampel 2 Dadih	18
Gambar 16. Hasil Sekuen Sampel 3 Dadih	18
Gambar 17. Hasil Blast BAL Dadih Sampel 1	19
Gambar 18. Hasil Blast BAL Dadih Sampel 2	19
Gambar 19. Hasil Blast BAL Dadih Sampel 3	19
Gambar 20. Hasil Filogenetik BAL Sampel 1 Dadih	20
Gambar 21. Hasil Filogenetik BAL Sampel 2 Dadih	20
Gambar 22. Hasil Filogenetik BAL Sampel 3 Dadih	20
Gambar 23. Hasil Filogenetik BAL Sampel Dadih	21
Gambar 24. Hasil Filogenetik BAL Sampel Dadih	21
Gambar 25. Hasil Filogenetik BAL Sampel Dadih	21
Gambar 26. Hasil Bakteriosin <i>Lactobacillus oris</i> Strain J-1	23
Gambar 27. Skema Pembuatan Starter Yoghurt Susu Sapi	24
Gambar 28. Skema Pembuatan Yoghurt Susu Sapi	25
Gambar 29. Cover Buku Probiotik BAL yang telah terdaftar ISBN ...	29
Gambar 30. Hak Cipta Buku Probiotik	30

Gambar 31. <i>Submitted</i> Publikasi Ilmiah dalam Jurnal Pakistan	31
Gambar 32. <i>Accepted</i> Publikasi Ilmiah dalam Jurnal Pakistan	32
Gambar 33. HKI Paten Merek Dagang YOLIP	33

RINGKASAN

Susu kerbau mempunyai kandungan nutrisi yang tinggi dan dapat dimanfaatkan sebagai substrat bagi mikroba menguntungkan seperti bakteri asam laktat (BAL) untuk menghasilkan produk yang diinginkan. Susu kerbau mudah sekali rusak oleh lingkungan, baik oleh temperatur maupun oleh udara sekitarnya, sehingga perlu perhatian khusus untuk penanganan pada waktu pemerahan dan sesudah pemerahan agar diperoleh susu yang berkualitas baik, memenuhi standar susu yang telah ditentukan serta masih layak dikonsumsi oleh manusia, karena itu diperlukan usaha diversifikasi pangan dan pengolahan yang baik salah satu cara menjadi dadih. Dadih merupakan makanan tradisional masyarakat Sumatera Barat yang berasal dari fermentasi alami susu kerbau di dalam tabung bambu oleh mikroorganisme penghasil asam laktat yang terdapat secara alami pada air susu kerbau tersebut.

Keamanan pangan saat ini menjadi perhatian khusus dari dunia internasional, yang salah satunya adalah penggunaan senyawa antimikroba dari bakteri asam laktat (BAL) untuk mencegah tumbuhnya mikroba pathogen dalam bahan pangan tanpa menimbulkan efek samping. Menurut Cintas *et al.* (2001), BAL juga menghasilkan senyawa antimikroba seperti hidrogen peroksida, CO₂, diacetyl, acetaldehid, reutrin dan bakteriosin.

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat semakin mendapat perhatian sebagai bahan tambahan makanan (*food additives*) yang berpotensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri pathogen sebagai pengkontaminasi makanan. Bakteriosin yang dihasilkan bermacam-macam jenisnya tergantung pada strain penghasilnya. Ekstraksi bakteriosin penting untuk memperbaiki pengawetan makanan pada makanan olahan yang tidak melibatkan proses fermentasi dan bagi makanan yang tidak cocok untuk diinokulasikan dengan bakteri asam laktat.

Alhamdulilah Sumbar dihasilkan oleh peneliti di laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas sudah mempunyai bahan baku BAL yang halal berasal dari isolat dadih (susu kerbau yang difermentasi dengan bambu) secara molekuler menggunakan 16S rRNA yaitu *Pediococcus pentosaceus*, *Whisella paramesentroides*, *Lactococcus plantarum*, *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum*. Lima jenis BAL halal ini hanya ada dilaboratorium THT/ Bioteknologi peneliti dan program isolasi ini tetap harus dijalankan agar dunia tahu bahwa Indonesia mempunyai bahan baku BAL yang halal , karena yang beredar didunia adalah BAL yang diisolasi dari tinja bayi yaitu *Bifido* dan *Lactococcus* dari tinja unggas yang tidak halal (Syukur dan Purwati, 2013). Untuk itu kita ingin selalu meneliti jenis BAL yang potential sebagai sumber probiotik halal menunjang kesehatan ternak dan manusia sehingga sangat perlu ternak kerbau dilestarikan dan penelitian ini mempunyai dampak Nasional pencapaian swasembada daging yang bernilai plus karena rendah kolesterol dan antisklerosis yang belum ada ditempat lain.

Kata Kunci: BAL , susu kerbau, 16S rRNA, dadih, kolesterol

BAB 1. PENDAHULUAN

Susu kerbau mempunyai kandungan nutrisi yang tinggi dan dapat dimanfaatkan sebagai substrat bagi mikroba menguntungkan seperti bakteri asam laktat untuk menghasilkan produk yang diinginkan. Susu kerbau mudah sekali rusak oleh lingkungan, baik oleh temperatur maupun oleh udara sekitarnya, sehingga perlu perhatian khusus untuk penanganan pada waktu pemerasan dan sesudah pemerasan agar diperoleh susu yang berkualitas baik, memenuhi standar susu yang telah ditentukan serta masih layak dikonsumsi oleh manusia, karena itu diperlukan usaha diversifikasi pangan dan pengolahan yang baik.

Salah satu cara pengolahan susu kerbau dan sekaligus dapat meningkatkan daya simpan adalah dengan mengolahnya menjadi dadih. Dadih merupakan makanan tradisional masyarakat Sumatera Barat yang berasal dari fermentasi alami susu kerbau di dalam tabung bambu oleh mikroorganisme penghasil asam laktat yang terdapat secara alami pada air susu kerbau tersebut. Pemasaran susu kerbau berupa dadih cukup baik, tidak ada yang dibawa ke pasar yang tidak terjual. Adapun daerah di Sumatera Barat yang berpotensi untuk memproduksi dadih yang ditambahkan starter yaitu daerah Alahan Panjang (Aia Dingin) Kabupaten Solok, (Sitingkai) Kabupaten Agam, (Tanjung Bonai) Kabupaten Tanah Datar, (Kelurahan Batu Payung Gadut) Kabupaten Limapuluh Kota, (Batang Panjang) Kabupaten Sijunjung.

Dadih memiliki bakteri asam laktat yang berbeda di tiap-tiap daerah dan dapat diidentifikasi dengan menggunakan 16S rRNA. Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Pemanfaatan BAL oleh manusia telah dilakukan sejak lama, yaitu untuk proses fermentasi makanan. BAL merupakan kelompok besar bakteri menguntungkan yang memiliki sifat relatif sama. Saat ini BAL digunakan untuk pengawetan dan memperbaiki tekstur dan cita rasa bahan pangan. Kusmiati dan Malik (2002) menyatakan beberapa jenis bakteriosin dari BAL mempunyai spektrum yang luas dan mempunyai aktivitas menghambat terhadap pertumbuhan beberapa bakteri patogen pada makanan seperti *Listeria monocytogenes* dan *Staphylococcus aureus*. Afrianto, Liviawaty dan Rostini (2006) berpendapat

bahwa BAL mampu memproduksi asam laktat sebagai produk akhir perombakan karbohidrat, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Jumlah bakteri asam laktat yang dihasilkan berpengaruh terhadap kualitas dan daya simpan dadih tersebut. Ini semua saling berkaitan antara jenis bambu yang digunakan, total koloni dan jenis dari bakteri asam laktat yang terdapat baik di bambu maupun pada dadih. BAL menghasilkan bakteriosin yang sangat efektif dipakai untuk mengontrol bakteri patogen dan perusak pada produk makanan yang dingin dan makanan dalam kantung vakum yang diharapkan agar mempunyai daya simpan yang lama.

Ekowati (2006) salah satu makanan tradisional dari Sumatera adalah tempoyak. Tempoyak adalah masakan yang berasal dari buah durian yang difermentasi secara spontan dalam keadaan anaerob. Masa simpan tempoyak sangat bervariasi antara 2 bulan sampai 1 tahun. Lamanya masa simpan ini akibat ditekannya pertumbuhan mikroba patogen dan pembusuk oleh asam yang diproduksi oleh bakteri asam laktat selama proses fermentasi pada tempoyak. Hal inilah yang menjadi menarik untuk diteliti, untuk mendapatkan BAL potensial sebagai probiotik jika dilakukan isolasi, penentuan antimicrobial bakteriosin, karakterisasi molecular bakteri asam laktat dari fermentasi tempoyak. Tempoyak dari durian Sumbar juga bahan baku halal untuk BAL.

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat semakin mendapat perhatian sebagai bahan tambahan makanan (*food additives*) yang berpotensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri pathogen sebagai pengkontaminasi makanan. Bakteriosin dapat dihasilkan dari bakteri gram positif, seperti *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Pediococcus halophilus* dan *Pediococcus cerevisiae* yang diisolasi dari yoghurt, keju dan susu fermentasi (Mohammed dan Ijah, 2013).

Bakteriosin merupakan peptida, senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, yang memiliki potensi sebagai pengawet alami (biopreservasi) untuk menggantikan pengawet kimia bahan makanan. Konsumen mulai memperhatikan formulasi produk pangan yang menggunakan pengawet kimia, sehingga adanya permintaan dari konsumen dalam mengkonsumsi

makanan sehat, salah satunya adalah penggunaan bahan alami dalam formulasi makanan.

Bakteriosin dapat diekstraksi dari bakteri melalui proses propagasi dalam media dalam kondisi lingkungan yang dapat menginduksinya untuk menghasilkan senyawa peptide tersebut. Bakteriosin yang dihasilkan bermacam-macam jenisnya tergantung pada strain penghasilnya. Ekstraksi bakteriosin penting untuk memperbaiki pengawetan makanan pada makanan olahan yang tidak melibatkan proses fermentasi dan bagi makanan yang tidak cocok untuk diinokulasikan dengan bakteri asam laktat. Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* mendapat perhatian yang lebih banyak mengingat peranan positif bakteri ini dalam usus manusia (Surono, 2004)

Berdasarkan penelitian Sharma dkk. (2013), menjelaskan bahwa bakteri asam laktat terdapat di dalam susu sapi, susu sapi, susu domba, susu unta dan susu kerbau yang berasal dari wilayah Gwalior, Madhya Pradesh, India. Dari hasil penelitiannya ditemukan lima jenis bakteri dari masing-masing sumber susu yaitu *Streptococcus thermophilus* dari susu sapi, *Lactococcus lactis* dari susu kerbau, *Streptococcus galloyticus* dari susu unta, *Streptococcus thermophilus* dari susu sapi dan *Lactobacillus delbrueckii* dari susu domba yang diidentifikasi memiliki kemampuan dalam menghasilkan asam laktat. Pada susu kerbau terdapat bakteri asam laktat yaitu *Lactococcus lactis*, yang memiliki kemampuan menghasilkan asam laktat, yaitu 57.61%.

Selanjutnya berdasarkan hasil penelitian Tulini *et al.* (2015), menemukan bakteri asam laktat yang diisolasi dari beberapa keju dari sapi, kerbau dan sapi yaitu *Streptococcus uberis* (strains FT86, FT126 and FT190) sebagai penghasil bakteriosin dan *Weissella confusa* FT424, *W. hellenica* FT476, *Leuconostoc citreum* FT671 and *Lactobacillus plantarum* FT723 sebagai antifungal. Selanjutnya Yang et al. (2012), melaporkan bahwa 20% isolat menghasilkan substansi seperti bakteriosin (Bakteriocin-like Substances / BLS) yang dapat menghambat pertumbuhan *Listeria innocua* dan *Lactobacillus sakei*.

Tujuan penelitian ini adalah : Menguji kualitas sifat fisik dan kimia susu kerbau; Mendapatkan isolat bakteri asam laktat penghasil antimikroba laktat dari susu kerbau; Menguji kemampuan aktivitas senyawa antibakteri isolat bakteri

asam laktat dan kestabilan terhadap panas; Menguji produktifitas dan karakteristik bakteriosin yang dihasilkan dari asam laktat; Menguji kemampuan bakteriosin dari isolat BAL sebagai biopreservatif terhadap kualitas susu fermentasi (sinbiotik). Manfaat penelitian ini adalah bertambahnya jenis bakteri asam laktat yang dapat dimanfaatkan sebagai probiotik dan yang mampu menghasilkan bakteriosin sebagai biopreservatif secara luas pada produk-produk hasil ternak.

BAB II. HASIL PENELITIAN

A. Temuan DNA Baru untuk Bakteri Asam Laktat (16S rRNA) Susu Kerbau dan Dadih Sumatera Barat

1. Isolasi dan Identifikasi Susu Kerbau (16S rRNA)

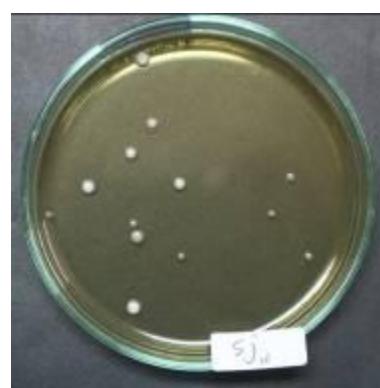
a. Proses Pemerasan Susu Kerbau

Kerbau diperah pada pukul 08.00 pagi, kerbau dipisahkan atau dikandangkan tersendiri jauh dari kerbau lainnya. Sebelumnya badan dari bagian tengah ke bagian belakang sampai ke ekor dibersihkan dengan air, kemudian ambing kerbau diolesi dengan vaselin agar ambing tidak lecet pada saat pemerasan. Kerbau diberi pakan berupa rumput gajah dan saat itu dilepas anaknya agar ia mendekat untuk menyusu ke induknya agar susu kerbau terpancing keluar. Susu ditampung menggunakan teko air, kemudian susu sebanyak 1 l tersebut disaring dan dimasukkan ke dalam wadah yang telah bersih. Pemeriksaan total koloni bakteri aerob dan BAL dari susu kerbau dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil total koloni aerob dan Bakteri Asam Laktat (BAL) susu kerbau

Kode Sampel	Total Koloni Bakteri Aerob	Total Koloni BAL
1	7×10^4 CFU/g	12×10^9 CFU/g
2	6×10^4 CFU/g	13×10^9 CFU/g

Total koloni bakteri aerob dihitung dengan rumus CFU/g .Setelah ditumbuhkan bakteri aerob pada PCA, dilakukan pengitungan total koloni, sehingga didapatkan total koloni aerob susu kerbau. Pemeriksaan total koloni BAL susu kerbau menggunakan MRS Agar. Terlihat pada gambar 1 koloni BAL susu kerbau dibawah ini (Gambar 1).



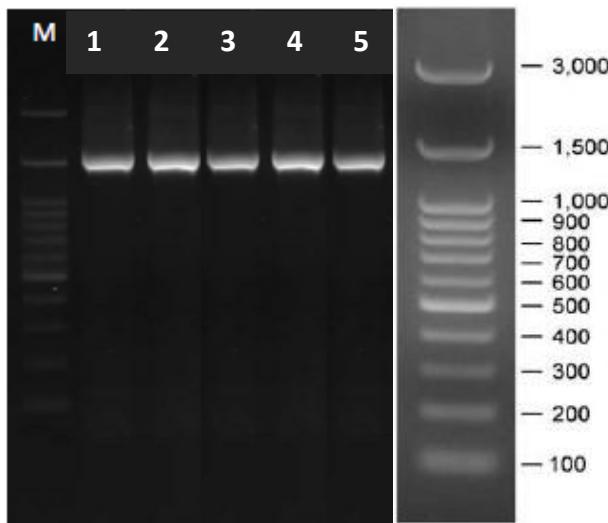
Gambar 1. Koloni Bakteri Asam Laktat Susu Kerbau

b. Hasil PCR Bakteri Asam Laktat Susu Kerbau

Tabel 2. Genom BAL susu kerbau

Conc. (ng/μl)	A260/280	A260/230	Volume (μl)
127.4	1.94	1.49	30
167.3	1.83	1.31	30

Gambar 2 menunjukkan sampel susu kerbau mempunyai berat molekul (BM) sebesar 1500 bp.



Gambar 2. Hasil PCR BAL Susu Kerbau

Assembly of 2 sequences 1406 bp	
1	GAACCTCTGGT ATTGATTGGT GCTTCATCA TGATTTACAT TTGAGTGAGT GGCGAACTGG
61	TGAGTAACAC GTGGGAAACC TGCCCTAGAAG CGGGGGGATAA CACCTGGAAA CAGATGCTAA
121	TACCGCATAA CAACTTGGAC CGCATGGTCC GAGTTTGAAA GATGGCTTCG GCTATCACTT
181	TTGGATGGTC CCAGCGCGTA TTAGCTAGAT GGTGAGGTAA CGGCTCACCA TGGCAATGAT
241	ACGTAGCCGA CCTGAGAGGG TAATCGGCCA CATTGGGACT GAGACACGGC CCAAACCTCCT
301	ACGGGAGGCA GCAGTAGGGG ATCTTCCACA ATGGACGAAA GTCTGATGGA GCAACGCCGC
361	GTGAGTGAAG AAGGGTTTCG GCTCGAAAA CTCTGTTGTT AAAGAAGAAC ATATCTGAGA
421	GTAACGTGTC AGGTATTGAC GGTATTAAAC CAGAAAGCCA CGGCTAACTA CGTGCCAGCA
481	GCCGCGGTAA TACGTAGGTG GCAAGCGTTG TCCGGATTAA TTGGGCGTAA AGCGAGCGCA
541	GGCGGTTTT TAAGTCTGAT GTGAAAGCCT TCGGCTCAAC CGAAGAAAGTG CATCGGAAAC
601	TGGGAAACTT GAGTGCAGAA GAGGACAGTG GAACTCCATG TGTAGCGGTG AAATGCGTAG
661	ATATATGGAA GAACACCAAGT GGCAGAAGGCG GCTGTCTGGT CTGTAACGTGA CGCTGAGGCT
721	CGAAAGTATG GGTAGCAAAC AGGATTAGAT ACCCTGGTAG TCCATACCGT AAACGATGAA
781	TGCTAAAGTGT TGGAGGGTTT CCGCCCTTCG GTGCTGCAGC TAACGCATTA AGCATTCCGC
841	CTGGGGAGTA CGGCCGCAAG GCTGAAACTC AAAGGAATTG ACGGGGGCCGC ACACAAGCGG
901	TGGAGCATGT GGTAAATTC GAAGCTACGC GAAGAACCTT ACCAGGTCTT GACATACTAT
961	GCAAATCTAA GAGATTAGAC GTTCCCTTCG GGGACATGGA TACAGGTGGT GCATGGTTGT
1021	CGTCAGCTCG TGTGAGA TGTTGGGTTA AGTCCCGCAA CGAGCGCAAC CCTTATTATC
1081	AGTTGCCAGC ATTAAGTTGG GCACTCTGGT GAGACTGCCG GTGACAAACC GGAGGAAGGT
1141	GGGGATGACG TCAAATCATC ATGCCCTTA TGACCTGGGC TACACACGTG CTACAATGGA
1201	TGGTACAACG AGTTGCGAAC TCGCGAGAGT AAGCTAATCT CTTAAAGCCA TTCTCAGTTTC
1261	GGATTGTAGG CTGCAACTCG CCTACATGAA GTCGGAATCG CTAGTAATCG CGGATCAGCA
1321	TGCCGCGGTG AATACGTTCC CGGGCCTTGT ACACACCGCC CGTCACACCA TGAGAGTTG
1381	TAACACCCAA AGTCGGTGGG GTAACC

Gambar 3. Hasil Sekuen Sampel 1 susu kerbau

Assembly of 2 sequences 1404 bp							
1	GTATTGATTG	GTGCTTGCAT	CATGATTAC	ATTTGAGTGA	GTGGCGAACT	GGTGAGTAAC	
61	ACGTGGAAA	CCTGCCAGA	AGCGGGGGAT	AACACCTGGA	AACAGATGCT	AATACCGCAT	
121	AACAACCTGG	ACCGCATGGT	CCGAGTTGA	AAGATGGCT	CGGCTATCAC	TTTGGATGG	
181	TCCCCGGCG	TATTAGCTAG	ATGGTGAGGT	AACGGCTCAC	CATGGCAATG	ATACGTAGCC	
241	GACCTGAGAG	GGTAATCGGC	CACATTGGGA	CTGAGACACG	GCCCAAACTC	CTACGGGAGG	
301	CAGCAGTAGG	GAATCTCCA	CAATGGACGA	AAGTCTGATG	GAGCAACGCC	GGGTGAGTGA	
361	AGAAGGGTTT	CGGCTCGTAA	AACTCTGTTG	TTAAAGAAGA	ACATATCTGA	GAGTAACTGT	
421	TCAGGTATTG	ACGGTATTAA	ACCAGAAAGC	CACGGCTAAC	TACGTGCCAG	CAGCCGCGGT	
481	AATACGTAGG	TGGCAAGCGT	TGTCCGGATT	TATTGGGCCT	AAAGCGAGCG	CAGGCGGTTT	
541	TTTAAGTCCTG	ATGTGAAAGC	CTTCGGCTCA	ACCGAAGAAG	TGCATCGGAA	ACTGGGAAAC	
601	TTGAGTGCAG	AAGAGGACAG	TGGAACCTCA	TGTGTAGCGG	TGAAATGCGT	AGATATATGG	
661	AAGAACACCA	GTGGCGAAGG	CGGCTGTCTG	GTCTGTAAC	GACGCTGAGG	CTCGAAAGTA	
721	TGGGTAGCAA	ACAGGATTAG	ATACCCCTGGT	AGTCCATACC	GTAAACGATG	AATGCTAACT	
781	GTTGGAGGGT	TTCCGCCCTT	CAGTGTGCA	GCTAACGCAT	TAAGCATTCC	GCCTGGGGAG	
841	TACGGCGCA	AGGCTGAAAC	TCAAAGGAAT	TGACGGGGGG	CCCGCACAAG	CGGTGGAAGC	
901	ATGTGGTTTT	AATTGAAAG	CTACGCCGAA	GAACCTTAC	CAAGGTCTTG	GACATACTAT	
961	GCCAATCTA	AAAAGATTAA	AACGTTCCCT	TCGGGGACAT	GGATACAGGT	GGTGCATGGT	
1021	TGTCGTCAGC	TCGTGTCGTG	AGATGTTGGG	TAAAGTCCCG	CAACGAGCGC	AACCCTTATT	
1081	ATCAGTTGCC	AGCATTAAAGT	TGGGCACTCT	GGTGAGACTG	CCGGTGACAA	ACCGGAGGAA	
1141	GGTGGGGATG	ACGTCAAATC	ATCATGCCCC	TTATGACCTG	GGCTACACAC	GTGCTACAAT	
1201	GGATGGTACA	ACGAGTTGCG	AACTCCGAG	AGTAAGCTAA	TCTCTTAAAG	CCATTCTCAG	
1261	TTCGGATTGT	AGGCTGCAAC	TGCGCTACAT	GAAGTCGGAA	TCGCTAGTAA	TCGGGGATCA	
1321	GCATGCCGCG	GTGAATACGT	TCCCCGGCCT	TGTACACACC	GCCC GTCA	CCATGAGAGT	
1381	TTGTAAACACC	CAAAGTCGGT	GGGG				

Gambar 4. Hasil Sekuen Sampel 2 susu kerbau

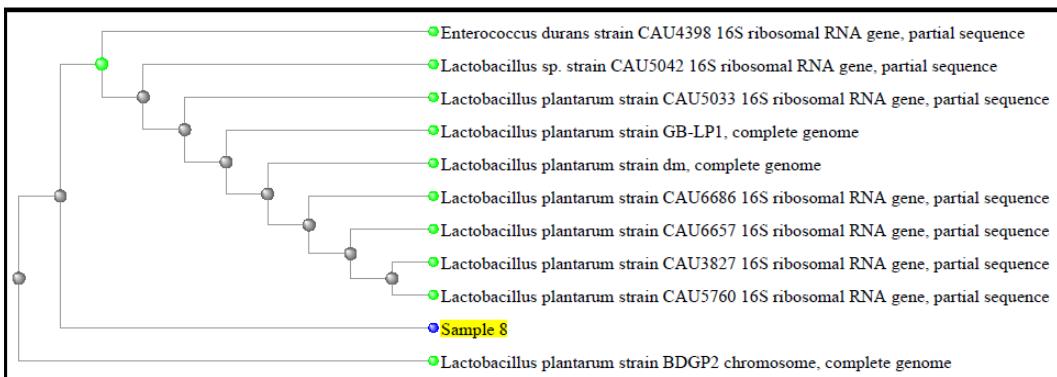
Setelah mengetahui BM maka dilakukan squensing Gambar 3 dan 4

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
✓	Lactobacillus plantarum strain BCGP2 chromosome, complete genome	2536	12646	100%	0.0	100%	CP023174.1
✓	Enterococcus durans strain CAU4398 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2536	2536	100%	0.0	100%	MF582772.1
✓	Lactobacillus sp. strain CAU5042 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2536	2538	100%	0.0	100%	MF582798.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU5033 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2536	2538	100%	0.0	100%	MF582680.1
✓	Lactobacillus plantarum strain GB-LP1, complete genome	2536	12631	100%	0.0	100%	CP020564.1
✓	Lactobacillus plantarum strain dm, complete genome	2536	12637	100%	0.0	100%	CP022373.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU8685 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2536	2538	100%	0.0	100%	MF425527.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU8687 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2536	2536	100%	0.0	100%	MF425330.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU3827 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2536	2536	100%	0.0	100%	MF425324.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU5760 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2536	2536	100%	0.0	100%	MF424995.1

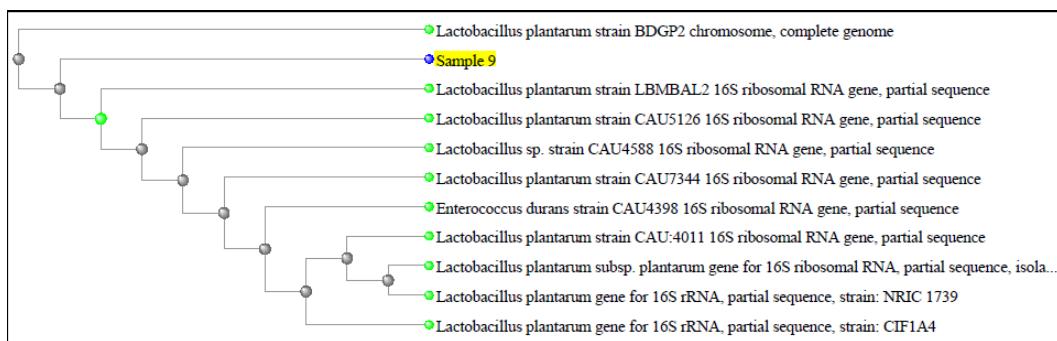
Gambar 5. Hasil Blast Sampel 1 susu kerbau

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU7344 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2443	2443	100%	0.0	99%	MF429740.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU5128 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2443	2443	100%	0.0	99%	MF423890.1
✓	Lactobacillus plantarum strain LBMBA12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2443	2443	100%	0.0	99%	KY577388.1
✓	Lactobacillus sp. strain CAU4588 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2439	2438	99%	0.0	99%	ME387301.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU4011 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2437	2437	100%	0.0	99%	MF355186.1
✓	Lactobacillus plantarum subsp. plantarum gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, isolate: 164	2437	2437	100%	0.0	99%	AB373180.1
✓	Lactobacillus plantarum gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: CIP114	2437	2437	100%	0.0	99%	AB373106.1
✓	Lactobacillus plantarum gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: NRIC 1739	2437	2437	100%	0.0	99%	AB362739.1
✓	Lactobacillus plantarum strain BCGP2 chromosome, complete genome	2434	12135	100%	0.0	99%	CP023174.1
✓	Enterococcus durans strain CAU4398 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2434	2434	100%	0.0	99%	MF582772.1

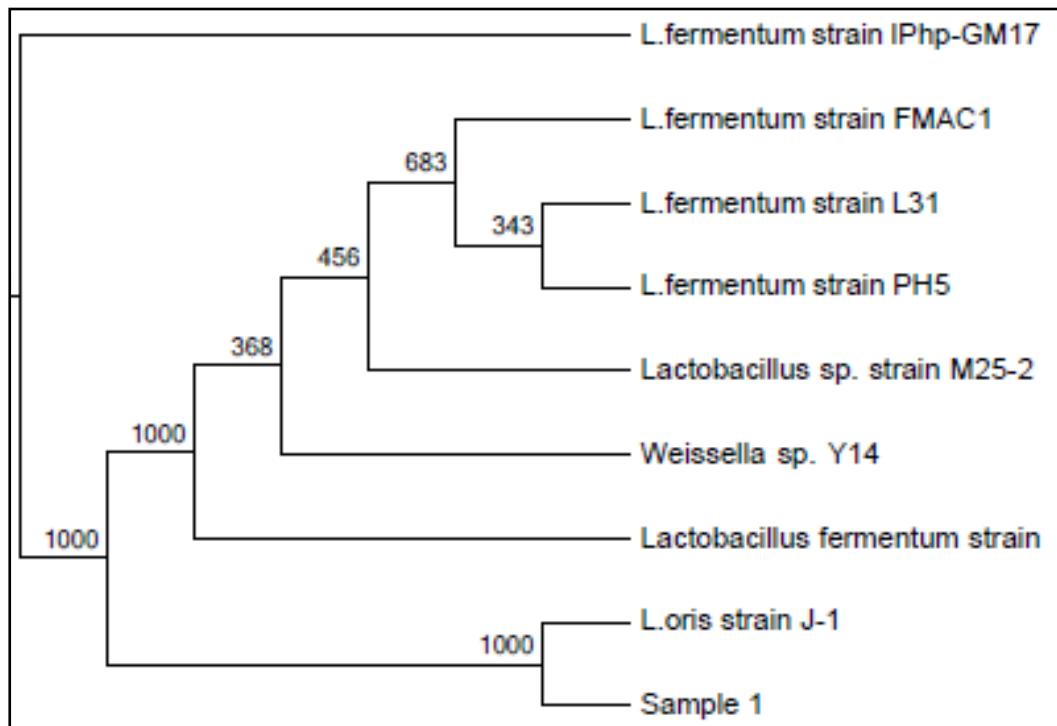
Gambar 6. Hasil Blast Sampel 2 susu kerbau



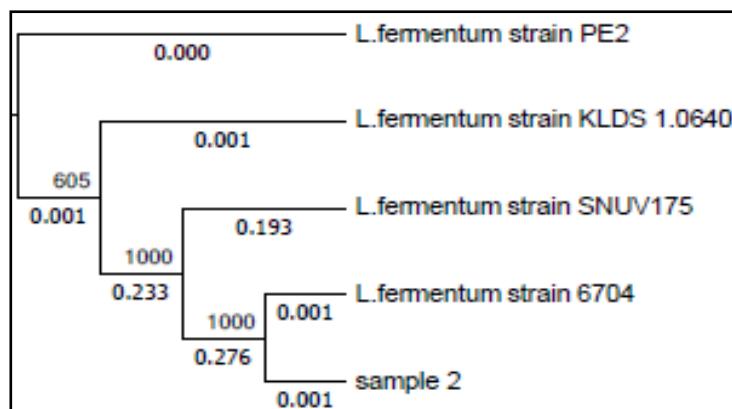
Gambar 7. Hasil Filogenetik Sampel 1 susu kerbau



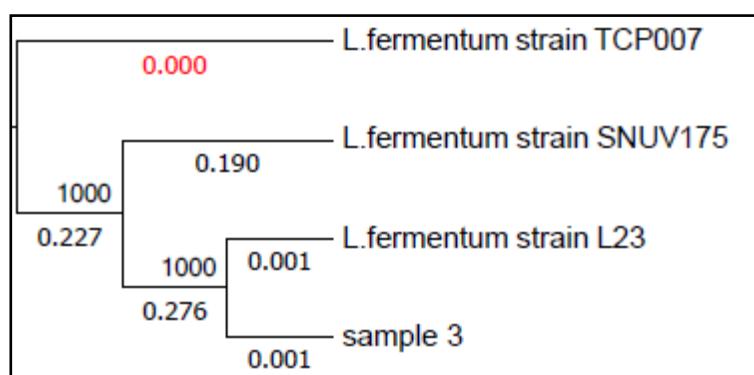
Gambar 8. Hasil Filogenetik Sampel 2 susu kerbau



Gambar 9. Hasil Filogenetik Sampel Susu Kerbau



Gambar 10. Hasil Filogenetik Sampel Susu Kerbau



Gambar 11. Hasil Filogenetik Sampel Susu Kerbau

Selelah sekuensing dilanjutkan uji Blast Gambar 5 dan 6 kemudian Cluster Gambar 7 – 11 dan hasilnya pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Strain Bakteri Asam Laktat dari Susu Kerbau

Kode Sampel	Strain Bakteri Asam Laktat
1	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain BDGP2
2	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain LBMBAL2
3	<i>Lactobacillus oris</i> strain J-1
4	<i>Lactobacillus fermentum</i> strain 6704
5	<i>Lactobacillus fermentum</i> strain L23

2. Isolasi dan Identifikasi Dadih (16S rRNA)

a. Proses Pembuatan Dadih

Susu ditampung menggunakan teko air yang baru, kemudian susu sebanyak 0.75 l disaring menggunakan saringan yang baru dan bersih dan dimasukkan ke

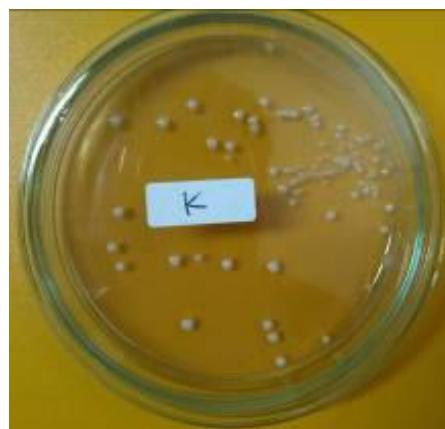
dalam bambu yang sudah berisi dadih (starter) sebanyak 1/3 bagian tabung bambu. Kemudian bambu ditutup menggunakan daun dan kantong plastik hitam dan diikat dengan karet gelang dan diperam selama 3 hari pada suhu kamar.

Hasil dari total koloni bakteri aerob dan BAL dadih bisa dilihat lebih jelas pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil total koloni aerob dan Bakteri Asam Laktat (BAL) dadih

Kode Sampel	Total Koloni Bakteri Aerob	Total Koloni BAL
1	5×10^4 CFU/g	21×10^9 CFU/g
2	5×10^4 CFU/g	38×10^9 CFU/g
3	3×10^4 CFU/g	15×10^9 CFU/g

Total koloni bakteri aerob dihitung dengan rumus CFU/g. Setelah ditumbuhkan bakteri aerob pada PCA, dilakukan pengitungan total koloni, sehingga didapatkan total koloni aerob dadih, lanjut itu dari itu untuk menghitung total koloni Bakteri Asam Laktat menggunakan MRS Agar seperti pada gambar 12 dibawah ini.

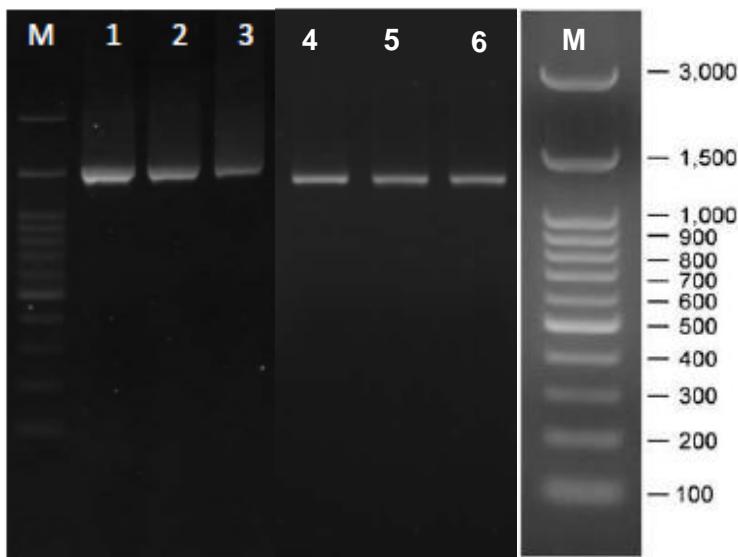


Gambar 12. Koloni Bakteri Asam Laktat Dadih

b. Hasil PCR Bakteri Asam Laktat Dadih (Tabel 5, Gambar 13)

Tabel 5. Genom BAL Dadih

Conc. (ng/ μ l)	A260/280	A260/230	Volume (μ l)
571.5	2.00	2.01	30
92.9	1.63	1.39	30
96	1.66	1.01	30



Gambar 13. Hasil PCR BAL Dadih

Hasil squensing Gambar 14 - 16

Assembly of 2 sequences 1395 bp	
1	TTGATTGATG GTGCTTGAC CTGATTGATT TTGGTCGCCA ACGAGTGGCG GACGGGTGAG
61	TAACACGTAG GTAACCTGCC CAGAACCGGG GGACAACATT TGGAAACAGA TGCTAATACC
121	GCATAAACAGC GTTGTTCGCA TGAACAAACGC TTAAAAGATG GCTTCTCGCT ATCACTTCTG
181	GATGGACCTG CGGTGCATTA GCTTGTGGT GGGGTAAATGG CCTACCAAGG CGATGATGCA
241	TAGCCGAGTT GAGAGACTGA TCGGCCACAA TGGGACTGAG ACACGGCCC TACTCCTACG
301	GGAGGCCAGCA GTAGGGAATC TTCCACAATG TGATGGAGCA ACACGGCGTG
361	AGTGAAGAAG GGTTCGGCT CGTAAAGCTC TGTTGTTAAA GAAGAACACCG TATGAGAGTA
421	ACTGTTCATC CGTTGACGGT ATTTAACCG AGCCTTATCC GGATTTATTG CGCTAAAGA GAGTGCAGGC
481	GCGGTAATAC GTAGGTGGCA AGCGTTATCC GGATTTATTG CGCTAAAGA GAGTGCAGGC
541	GGTTTTCTAA GTCTGATGTG AAAGCCTTCG GCTTAACCGG AGAACTGCAT CGGAAACTGG
601	ATAACTTGAG TGCAGAAGAG GGTAGTGGAA CTCCATGTGT AGCGGTGGAA TGCCTAGATA
661	TATGGAAGAA CACCAAGTGGC GAAGGGCGCT ACCTGGCTG CAACTGACGC TGAGACTCGA
721	AAGCATGGGT AGCGAACAGG ATTAGATACC CTGGTAGTCC ATGCCGTAAA CGATGAGTGC
781	TAGGTGTTGG AGGGTTCCG CCCTTCAGTG CGGGAGCTAA CGCATTAAGC ACTCCGCCTG
841	GGGAGTACGA CCGCAAGGTT GAAAATCAA AGGAATTGAC GGGGGCCCGC ACAAGCGGTG
901	GAGCATGTGG TTTAATTGCA AGCTACGCGA AGAACCTTAC CAGGTCTTGA CATCTTGC
961	CAACCCCTAGA GATAGGGCGT TTCCCTCGGG AACGCAATGA CAGGTGGTGC ATGGTCGTG
1021	TCAGCTCGTG TCGTGAGATG TTGGGTTAAG TCCCGCAACG AGCGCAACCC TTGTTACTAG
1081	TTGCCAGCAT TAAGTTGGC ACTCTAGTGA GACTGCCGGT GACAAACCGG AGGAAGGTGG
1141	GGACGACGTC AGATCATCAT GCCCCTTATG ACCTGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGACG
1201	GTACAAACGAG TCGCGAACTC GCGAGGGCAA GCAAATCTCT TAAAACCGTT CTCAGTTCGG
1261	ACTGCAGGCT GCAACTCGCC TGCACGAAGT CGGAATCGCT AGTAATCGCG GATCAGCATG
1321	CCGCGGTGAA TACGTTCCCG GGCCTTGTAC ACACCGCCCC TCACACCATG AGAGTTGTA
1381	ACACCCAAAG TCGGT

Gambar 14. Hasil Sekuen Sampel 1 Dadih

Assembly of 2 sequences 1400 bp

```
1   CTCTGGTATT GATTGGTGCCTGCATGA TTTACATTTG AGTGAGTGGC GAACTGGTGA
61  GTAACACGTG GGAAACCTGC CCAGAACCGG GGGATAACAC CTGGAAACAG ATGCTAATAC
121 CGCATAACAA CTTGGACCGC ATGGTCCGAG TTTGAAAGAT GGCTTCGGCT ATCACTTTG
181 GATGGTCCCG CGGGTATT GCTAGATGGT GGGGTAACGG CTCACCATGG CAATGATACG
241 TAGCCGACCT GAGAGGGTAA TCGGCCACAT TGGGACTGAG ACACGGCCA AACTCCTACG
301 GGAGGCAGCA GTAGGGAATC TTCCACAATG GACGAAAGTC TGATGGAGCA ACCGCCGCGT
361 AGTGAAGAAG GGTTTCGGCT CGTAAAATC TGTTGTTAAA GAAGAACATA TCTGAGAGTA
421 ACTGTTCAGG TATTGACGGT ATTTAACCAAG AAAGCCACGG CTAACATACGT GCCAGCAGCC
481 GCGGTAATAC GTAGGTGGCA AGCGTTGTCC GGATTTATTG GGCCTAAAGC GAGCGCAGGC
541 GGTTTTTAA GTCTGATGTG AAAGCCTCG GCTCAACCAG AGAAGTGCAT CGGAAACTGG
601 GAAACTTGAG TGCAAGAGAG GACAGTGGAA CTCCATGTGT AGCGGTGAAA TCGTAGATA
661 TATGGAAGAA CACCAAGTGGC GAAGGCGGCT GTCTGGTCTG TAACTGACGC TGAGGCTCGA
721 AAGTATGGGT AGCAACACAGG ATTAGATACC CTGGTAGTCC ATACCGTAAA CGATGAATGC
781 TAAGTGTGG AGGGTTTCCG CCCTTCAGTG CTGCAGCTAA CGCATTAAAGC ATTCCGCGCTG
841 GGGAGTACGG CCGCAAGGCT GAAACTCAAAG GGAATTGACG GGGGCCGCA CAAGCGGTGG
901 AGCATGTGGT TTAATTGAA GCTACCGCAGA GAACCTTAC AGGTCTTGAC ATACTATGCA
961 AATCTAACAGG ATTAGACGTT CCCTTCGGGG ACATGGATAC AGGTGGTGCA TGTTGTCGT
1021 CAGCTCGTGT CGTGGAGATGT TGGGTTAAAGT CCCGCAACAGA GCGCAACCCCT TATTATCAGT
1081 TGCCAGCATT AAGTTGGGCA CTCTGGTGTG ACTGCCGGTG ACAAAACCGGA GGAAGGTGGG
1141 GATGACGTCA AATCATCATG CCCCTTATGA CCTGGGCTAC ACACGTGCTA CAATGGATGG
1201 TACAACGAGT TGCGAACCTCG CGAGAGTAAG CTAATCTCTT AAAGCCATT TCAGTTCGGA
1261 TTGTAGGCTG CAACTCGCCT ACATGAAGTC GGAATCGCTA GTAATCGCGG ATCAGCAGTC
1321 CGCGGTGAAT ACGTTCCCGG GCCTTGTACA CACCGCCCGT CACACCATGA GAGTTGTAA
1381 CACCCAAAGT CGGTGGGGTA
```

Gambar 15. Hasil Sekuen Sampel 2 Dadih

Assembly of 2 sequences 1418 bp

```
1   CTCTGGTATT GATTGGTGCCTGCATGA TTTACATTTG AGTGAGTGGC GAACTGGTGA
61  GTAACACGTG GGAAACCTGC CCAGAACCGG GGGATAACAC CTGGAAACAG ATGCTAATAC
121 CGCATAACAA CTTGGACCGC ATGGTCCGAG TTTGAAAGAT GGCTTCGGCT ATCACTTTG
181 GATGGTCCCG CGGGTATT GCTAGATGGT GAGGTAACGG CTCACCATGG CAATGATACG
241 TAGCCGACCT GAGAGGGTAA TCGGCCACAT TGGGACTGAG ACACGGCCA AACTCCTACG
301 GGAGGCAGCA GTAGGGAATC TTCCACAATG GACGAAAGTC TGATGGAGCA ACCGCCGCGT
361 AGTGAAGAAG GGTTTCGGCT CGTAAAATC TGTTGTTAAA GAAGAACATA TCTGAGAGTA
421 ACTGTTCAGG TATTGACGGT ATTTAACCAAG AAAGCCACGG CTAACATACGT GCCAGCAGCC
481 GCGGTAATAC GTAGGTGGCA AGCGTTGTCC GGATTTATTG GGCCTAAAGC GAGCGCAGGC
541 GGTTTTTAA GTCTGATGTG AAAGCCTCG GCTCAACCAG AGAAGTGCAT CGGAAACTGG
601 GAAACTTGAG TGCAAGAGAG GACAGTGGAA CTCCATGTGT AGCGGTGAAA TCGTAGATA
661 TATGGAAGAA CACCAAGTGGC GAAGGCGGCT GTCTGGTCTG TAACTGACGC TGAGGCTCGA
721 AAGTATGGGT AGCAACACAGG ATTAGATACC CTGGTAGTCC ATACCGTAAA CGATGAATGC
781 TAAGTGTGG AGGGTTTCCG CCCTTCAGTG CTGCAGCTAA CGCATTAAAGC ATTCCGCGCTG
841 GGGAGTACGG CCGCAAGGCT GAAACTCAAAG GGAATTGACG GGGGCCGCA ACAAGCGGTG
901 GAGCATGTGG TTTAATTGAA AGCTACCGA AGAACCTAC CAGGTCTTGAA CATACTATGCA
961 AAATCTAACAGG GATTAGACGT TCCCTCGGG GACATGGATA CAGGTGGTGC ATGGTTGTCG
1021 TCAGCTCGTGT CGTGGAGATG TTGGGTTAAG TCCCGCAACG AGCGCAACCC TTATTATCAG
1081 TTGCCAGCAT TAAGTTGGGACTCTGGTGA GACTGCCGGT GACAAACCGG AGGAAGGTGG
1141 GGATGACGTCA AAATCATCAT GCCCCCTTATG ACCTGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGATG
1201 GTACAACGAG TTGCGAACCTCG GCGAGAGTAAG GCTAATCTCT TAAAGCCATT CTCAGTTCGG
1261 ATTGTAGGCT GCAACTCGCC TACATGAAGT CGGAATCGCT AGTAATCGCG GATCAGCAGTC
1321 CGCGGTGAAT TACGTTCCCGG GGCGCTTGTAC ACACCGCCCGT CACACCATGA AGAGTTGTAA
1381 ACACCCAAAGT TCGGTGGGGTA AACCTTTAG GAACCAGC
```

Gambar 16. Hasil Sekuen Sampel 3 Dadih

Hasil Blast Gambar 17 – 19

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
✓	Lactobacillus fermentum strain SK162, complete genome	2507	12498	100%	0.0	99%	CP015803.1
✓	Lactobacillus fermentum strain CAU9006 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2507	2507	100%	0.0	99%	MF582979.1
✓	Lactobacillus sp. strain CAU3339 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2507	2507	100%	0.0	99%	MF582976.1
✓	Enterococcus duranae strain CALB097 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2507	2507	100%	0.0	99%	MF423414.1
✓	Lactobacillus fermentum strain CAU7948 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2507	2507	100%	0.0	99%	MF423158.1
✓	Lactobacillus fermentum strain CAU8447 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2507	2507	100%	0.0	99%	MF424984.1
✓	Lactobacillus fermentum strain CAU8473 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2507	2507	100%	0.0	99%	MF424703.1
✓	Lactobacillus fermentum strain CAU7026 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2507	2507	100%	0.0	99%	MF424621.1
✓	Lactobacillus fermentum strain CAU6337 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2507	2507	100%	0.0	99%	MF424232.1
✓	Lactobacillus fermentum strain CAU8076 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2507	2507	100%	0.0	99%	MF424220.1

Gambar 17. Hasil Blast BAL Dadih Sampel 1

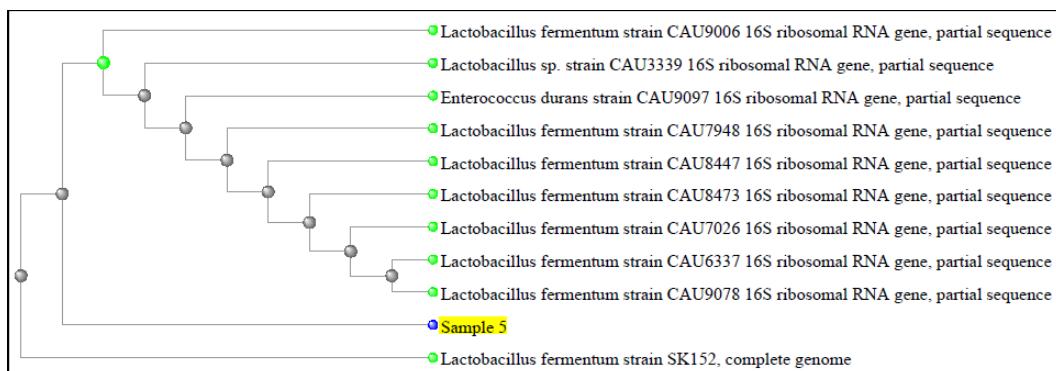
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
✓	Lactobacillus plantarum strain P1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2526	2526	100%	0.0	100%	MF942369.1
✓	Lactobacillus plantarum strain BDGP2 chromosome, complete genome	2526	12595	100%	0.0	100%	CP023174.1
✓	Lactobacillus plantarum strain IMAU90170 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2526	2526	100%	0.0	100%	MF678771.1
✓	Lactobacillus pentosus strain TEJ10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2526	2526	100%	0.0	100%	MF632295.1
✓	Lactobacillus pentosus strain TEJ4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2526	2526	100%	0.0	100%	MF532293.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CHIV.14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2526	2526	100%	0.0	100%	MF628991.1
✓	Lactobacillus sp. strain CAU8063 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2526	2526	100%	0.0	100%	MF582752.1
✓	Lactobacillus pentosus strain CAU8971 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2526	2526	100%	0.0	100%	MF582705.1
✓	Lactobacillus plantarum strain GB-LP1, complete genome	2526	12583	100%	0.0	100%	CP020564.1
✓	Lactobacillus pentosus strain DJ3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2526	2526	100%	0.0	100%	MF455207.1

Gambar 18. Hasil Blast BAL Dadih Sampel 2

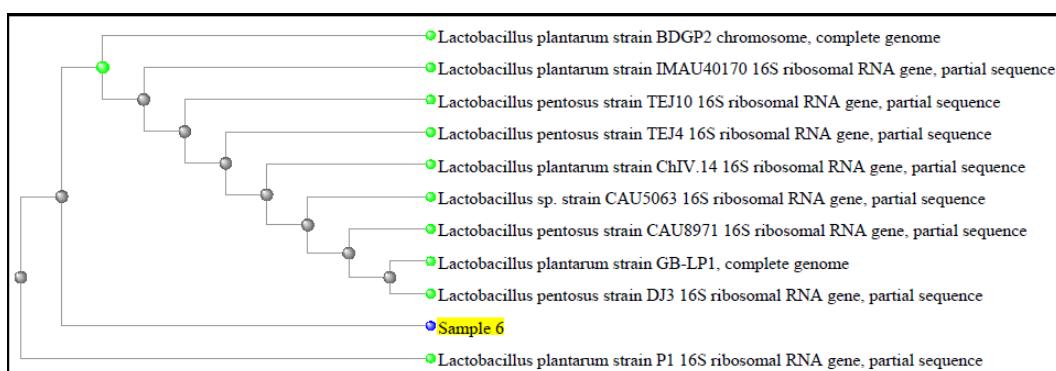
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
✓	Lactobacillus plantarum strain LBMBAL2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2551	2551	99%	0.0	100%	KY977388.1
✓	Lactobacillus plantarum strain BDGP2 chromosome, complete genome	2549	12712	100%	0.0	99%	CP023174.1
✓	Enterococcus duranae strain CAU4398 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2549	2549	100%	0.0	99%	MF582772.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU6033 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2549	2549	100%	0.0	99%	MF582680.1
✓	Lactobacillus plantarum strain GB-LP1, complete genome	2549	12700	100%	0.0	99%	CP020564.1
✓	Lactobacillus plantarum strain dm, complete genome	2549	12703	100%	0.0	99%	CP022373.1
✓	Lactobacillus plantarum strain GAU7344 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2549	2549	100%	0.0	99%	MF423740.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU6507 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2549	2549	100%	0.0	99%	MF425330.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU6125 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2549	2549	100%	0.0	99%	MF423960.1
✓	Lactobacillus plantarum strain CAU8467 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2549	2549	100%	0.0	99%	MF423883.1

Gambar 19. Hasil Blast BAL Dadih Sampel 3

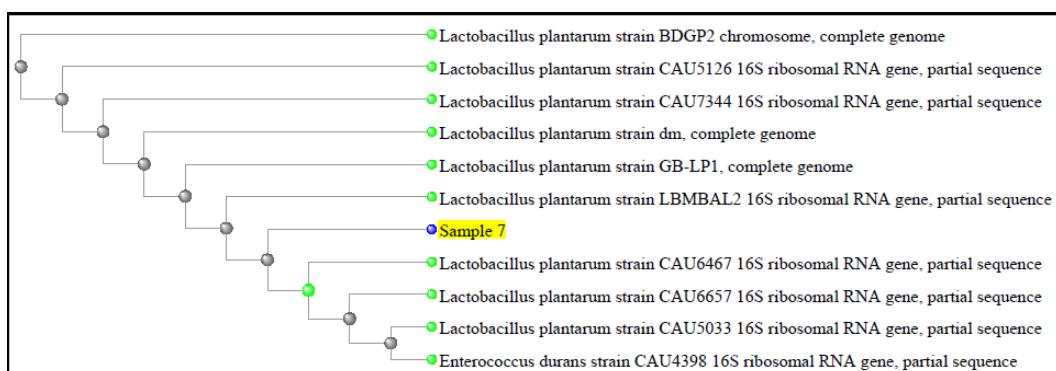
Hasil Cluster Gambar 20 - 25 dan Hasil BAL pada Tabel 6.



Gambar 20. Hasil Filogenetik BAL Sampel 1 Dadih



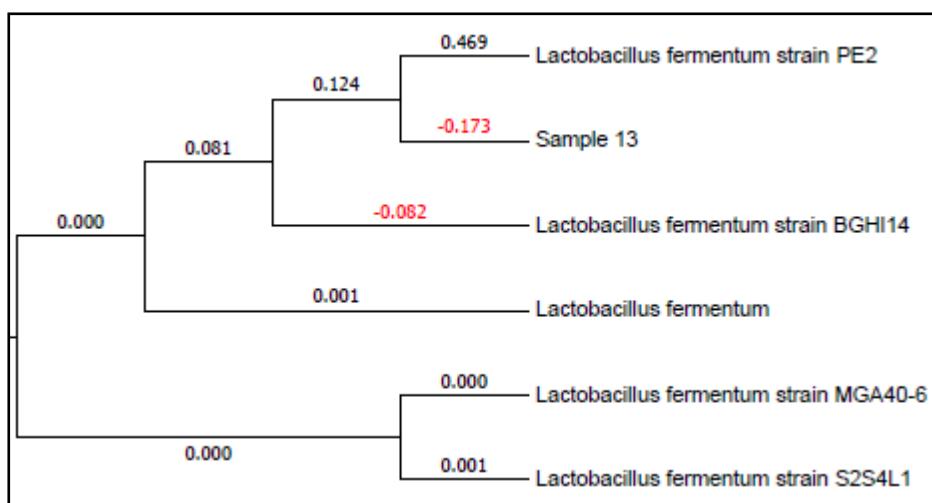
Gambar 21. Hasil Filogenetik BAL Sampel 2 Dadih



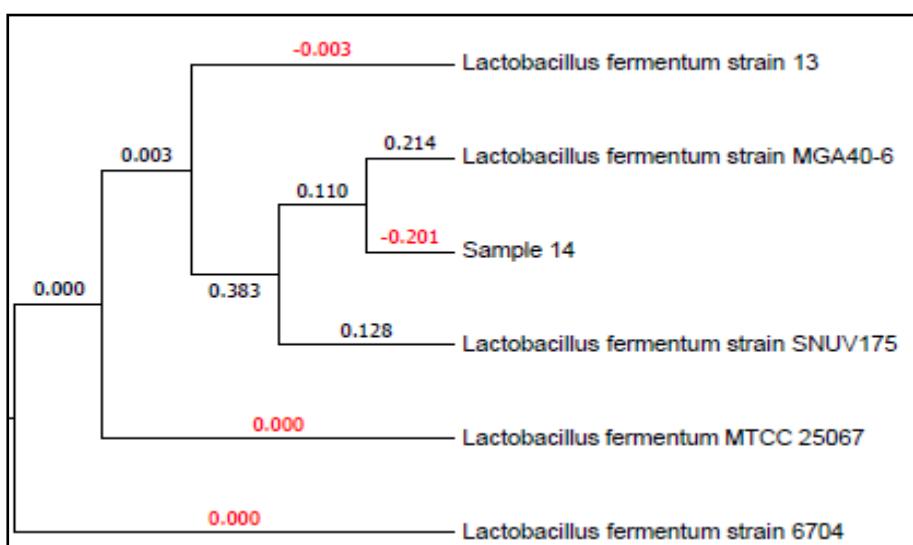
Gambar 22. Hasil Filogenetik BAL Sampel 3 Dadih



Gambar 23. Hasil Filogenetik BAL Sampel Dadih



Gambar 24. Hasil Filogenetik BAL Sampel Dadih



Gambar 25. Hasil Filogenetik BAL Sampel Dadih

Tabel 6. Hasil Strain Bakteri Asam Laktat dari Dadih

Kode Sampel	Strain Bakteri Asam Laktat
1	<i>Lactobacillus fermentum</i> strain CAU9006
2	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain P1
3	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain CAU6467
4	<i>Lactobacillus fermentum</i> strain NCC2970
5	<i>Lactobacillus fermentum</i> strain PE2
6	<i>Lactobacillus fermentum</i> strain MGA40-6

c. Kualitas Gizi Dadih

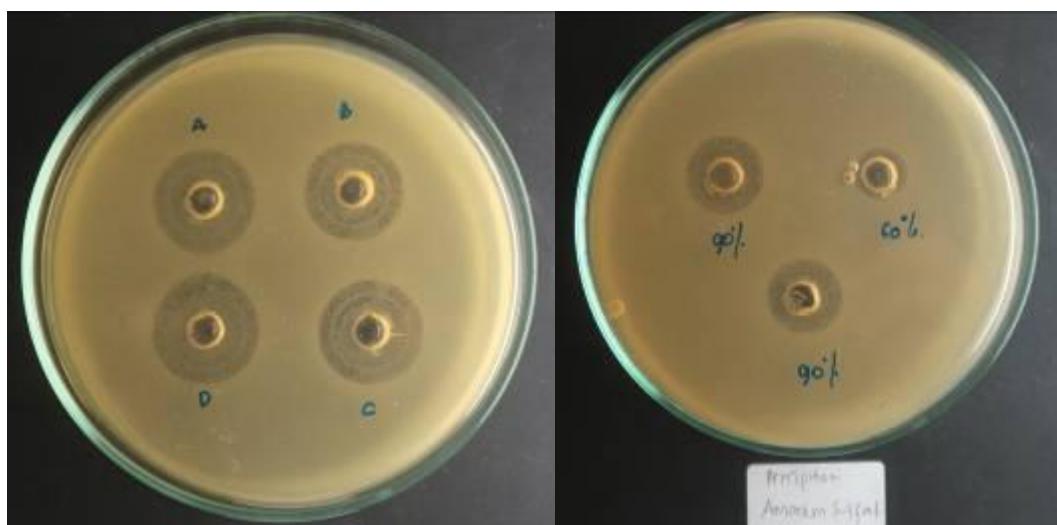
Pengukuran kadar protein, lemak, kadar air, kadar pH dan keasaman dilakukan pada tiga sampel dadih dari tiga peternak yang berbeda juga seperti hasil pemeriksaan kualitas gizi dadih bisa dilihat lebih jelas pada Tabel 7 dibawah ini.

Tabel 7. Hasil kadar protein , lemak, kadar air, kadar pH dan keasaman dadih

Kode Sampel	Kadar Protein	Kadar Lemak	Kadar Air	Kadar pH	Keasaman
1	5.58%	6.4%	80%	4.14	1.35%
2	6.68%	7.2%	65%	4.02	2.12%
3	6.08%	7.0%	73%	4.07	1.71%
Standar Deviasi	0.55%	0.42%	7.53%	0.06	0.39%

Hasil penelitian pada Table 7 ini hampir sama dengan penelitian Daswati *et al.*, (2009) memperoleh nilai kadar protein dadih susu kerbau mulai dari 6,34% sampai 9,96%. Penelitian Yuherman *et al.*, (2014) mendapatkan kadar protein dadih Kabupaten Agam berturut-turut adalah 5,61% dan 6,51%. Perbedaan kadar protein pada dadih ini disebabkan bahan baku dan perlakuan saat pembuatan dadih juga berbeda. Dadih yang digunakan saat penelitian ini dibuat dalam kondisi susu kerbau segar, tanpa pasteurisasi juga tanpa penambahan starter, sedangkan dadih yang digunakan peneliti lain bervariasi proses pembuatannya termasuk penambahan starter pada saat pembuatan dadih. Usmiati *et al.*, (2012) menyatakan bahwa kandungan nutrisi dadih yang bervariasi, bergantung pada daerah produksinya. Selain starter dan susu yang digunakan, faktor lain penyebab berbedanya nilai nutrisi dadih adalah bambu yang digunakan dalam proses pembuatan dadih. Masing-masing daerah menggunakan jenis bambu yang berbeda, seperti penelitian pendapat Sunarlim (2009).

3. Bakteriosin Bakteri Asam Laktat Susu Kerbau



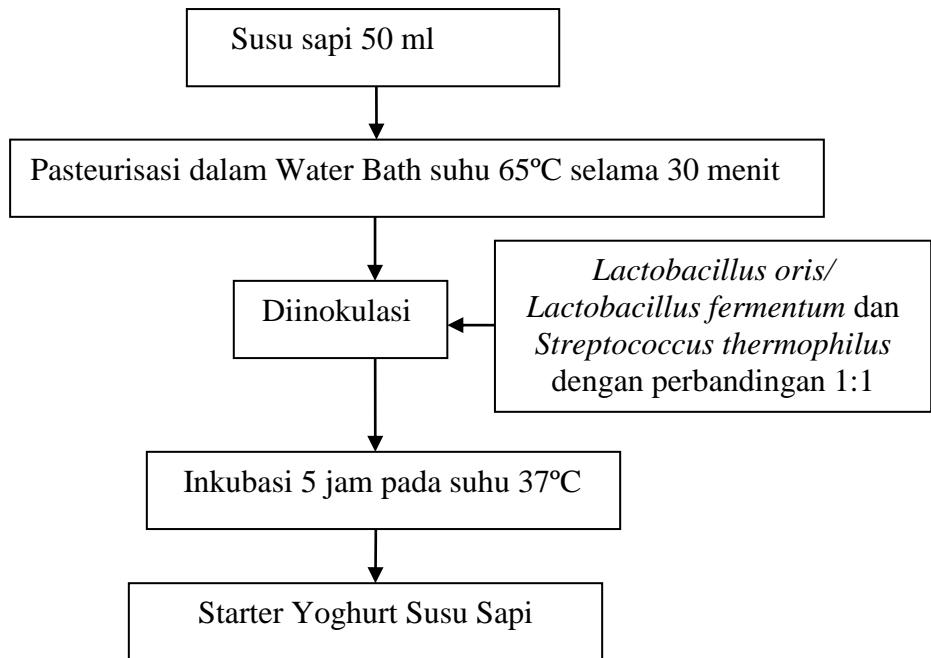
Gambar 26. Hasil Bakteriosin Bakteri Asam Laktat

Hasil Bakteriosin terlihat pada Gambar 26

B. Aplikasi *Lactobacillus oris* isolasi susu kerbau Kabupaten Agam dan *Lactobacillus fermentum* isolasi Dadih dari Kabupaten Solok

Cara pembiakan starter berdasarkan dengan cara sebagai berikut :

- a. Susu sapi sebanyak 50 ml dipasteurisasi pada temperatur 65°C selama 30 menit kemudian didinginkan pada suhu ruang sehingga mencapai suhu 43°C.
- b. Single colony *Lactobacillus oris*/ *Lactobacillus fermentum* dan *Streptococcus thermophilus* yang telah dibiakkan ke media MRS Agar diambil menggunakan ose terlebih dahulu dibakar sampai membara dan didinginkan kemudian dimasukkan kedalam susu dengan perbandingan 1:1.
- c. Kemudian susu tersebut diinkubasikan kedalam inkubator dalam suasana anaerob pada suhu 37°C selama 5 jam. Diagram cara pembuatan starter yoghurt dapat dilihat pada Gambar 27.

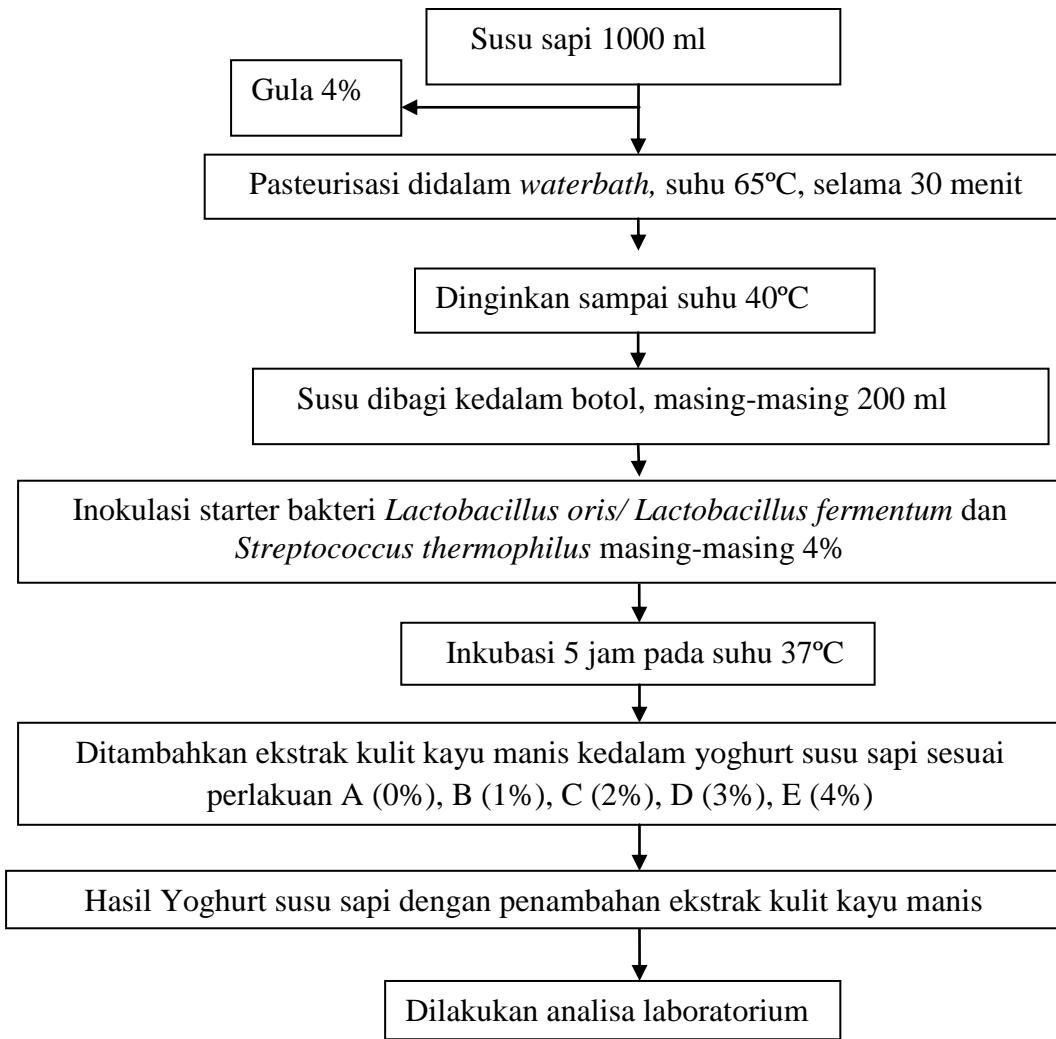


Gambar 27. Skema Pembuatan Starter Yoghurt Susu Sapi.

1. Pembuatan Yoghurt Susu Sapi (Gambr 27- 28)

Pembuatan yoghurt susu sapi adalah sebagai berikut :

- Susu dipasteurisasi sebanyak 1000 ml dengan menggunakan *Water Bath* pada suhu 65°C selama 30 menit.
- Didinginkan hingga mencapai suhu 43°C.
- Susu dibagi kedalam 5 botol masing-masing sebanyak 200 ml.
- Starter yoghurt susu sapi ditambahkan kedalam susu sapi yang mengandung inokulasi *Lactobacillus oris/ Lactobacillus fermentum* dan *Streptococcus thermophilus* sebanyak 4% Masing-masing botol ditutup rapat dan selanjutnya diinkubasi selama 5 jam pada suhu 37°C.
- Apabila sudah terbentuk yoghurt, disimpan di refrigerator.
- Analisa laboratorium.



Gambar 28. Skema Pembuatan Yoghurt Susu Sapi.

2. Hasil Analisa Yoghurt

Nilai pH dari Yoghurt

Tabel 8. Rataan Nilai pH Yoghurt

Perlakuan	Rataan Nilai pH
A	4.64
B	4.54
C	4.51
D	4.42
E	4.34

Dari Tabel 8. dapat diketahui bahwa rata-rata nilai pH yoghurt susu sapi dengan BAL asal dadih berkisar antara 4.64 - 4.34.

Total Koloni Bakteri Asam Laktat dari Yoghurt

Tabel 9. Rataan Total Koloni Bakteri Asam Laktat Yoghurt

Perlakuan	Rataan Total Koloni Bakteri Asam Laktat ($\times 10^9$ CFU/ml)
A	3.87
B	4.94
C	5.90
D	6.54
E	7.95

Pada Tabel 9. dapat diketahui bahwa rataan total koloni BAL pada yoghurt susu sapi dengan BAL asal dadih berkisar antara 3.87×10^9 CFU/ml sampai 7.95×10^9 CFU/ml.

Aktivitas Antioksidan dari Yoghurt

Tabel 10. Rataan Aktivitas Antioksidan Yoghurt

Perlakuan	Rataan Aktivitas Antioksidan (%)
A	10.98
B	24.77
C	24.89
D	25.99
E	26.88

Pada Tabel 10. dapat diketahui bahwa rataan aktivitas antioksidan pada yoghurt susu sapi dengan BAL asal dadih berkisar antara 10.98% - 26.88%.

Kadar Kolesterol dari Yoghurt

Tabel 11. Rataan Kadar Kolesterol Yoghurt

Perlakuan	Kadar Kolesterol (mg/dl)
A	17.5
B	16.0
C	14.8
D	14.3
E	14.0

Pada Tabel 11 menunjukkan bahwa rataan kadar kolesterol yoghurt susu sapi dengan BAL asal dadih berkisar antara 14.0 mg/dl – 17.5 mg/dl.

3. Aplikasi Dadih untuk Pembuatan Nugget

Pembuatan nugget telah dilakukan mengikuti prosedur Owens (2001) yang telah dimodifikasi yaitu :

1. Dadih disiapkan sebanyak 500 g.
2. Selanjutnya ditambahkan tepung tapioka, bawang putih yang telah dihaluskan, merica dan garam.
3. ditambahkan wortel yang telah di chopper.
4. Adonan tersebut dicetak menggunakan cetakan dengan ukuran 5x4x1 cm.
5. Setelah itu dikukus ke dalam panci yang sudah berisi air mendidih selama 30 menit dan didinginkan selama ±15 menit.
6. Kemudian di baluri dengan putih telur dan selanjutnya pelumuran tepung roti (*breading*).
7. Dibekukan di dalam *freezer*.
8. Lalu dilakukan analisis.

4. Hasil Analisa Nugget Dadih

Aktivitas Antioksidan Nugget Dadih

Nilai rataan aktivitas antioksidan diversifikasi dadih yang diperoleh dari hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Nilai Rataan Aktivitas Antioksidan Diversifikasi Dadih (%)

Perlakuan	Aktivitas Antioksidan (%)
A	12,50
B	15,93
C	18,63
D	21,78
E	24,28

Pada Tabel 12. dapat diketahui bahwa rata-rata nilai aktivitas antioksidan diversifikasi dadih berkisar antara 12,50-24,28

Kadar Kolesterol Nugget Dadih

Rataan kolesterol nugget dadih yang diperoleh selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 13.

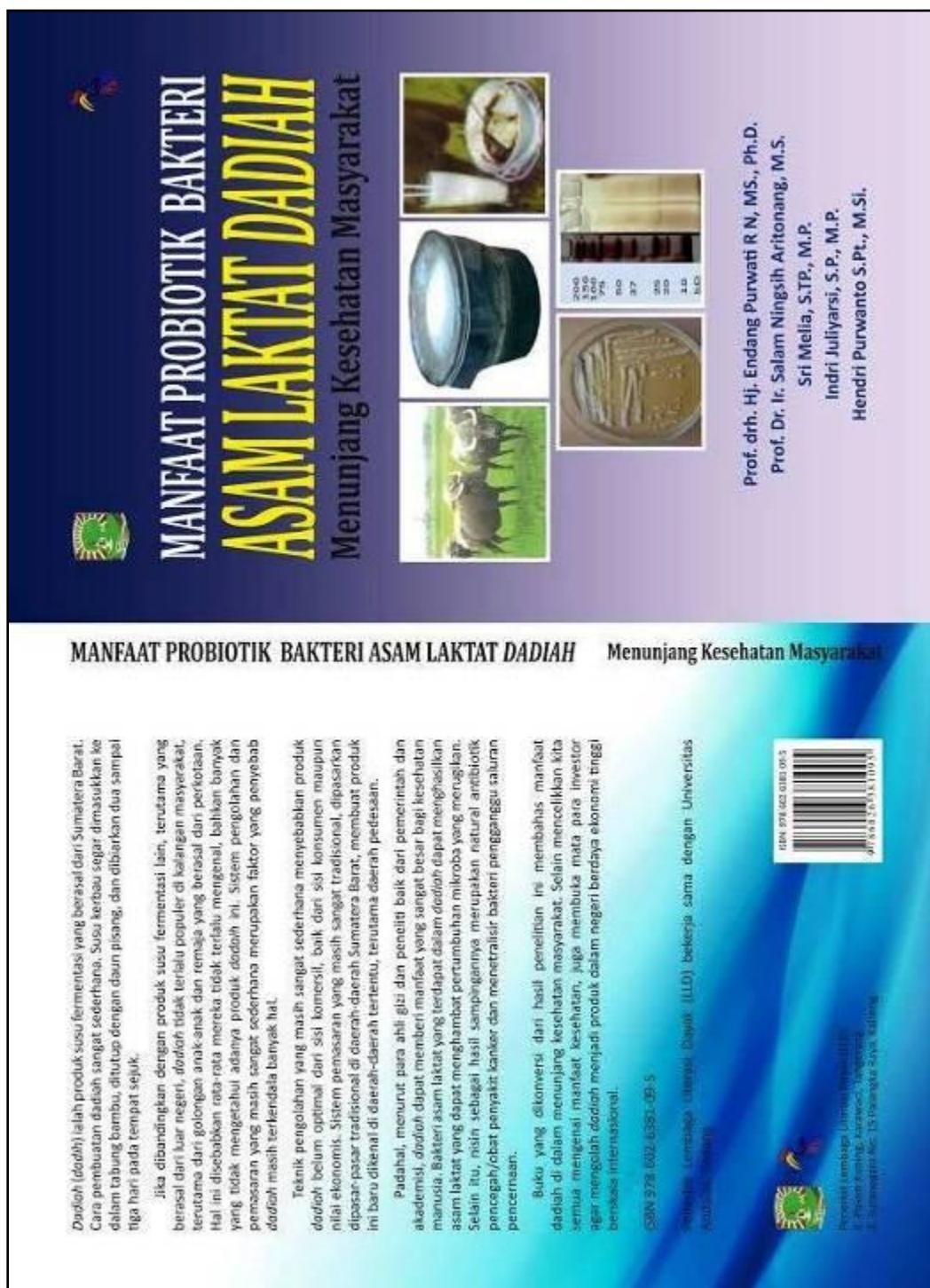
Tabel 13. Rataan Kadar Kolesterol Nugget Dadih Hasil Penelitian

Perlakuan	Kadar Kolesterol
A	20.62
B	16.17
C	12.82
D	10.30
E	8.50

Pada Tabel 13. dapat diketahui bahwa rata-rata kadar kolesterol nugget dadih berkisar antara 8.50-20.62 mg/dl.

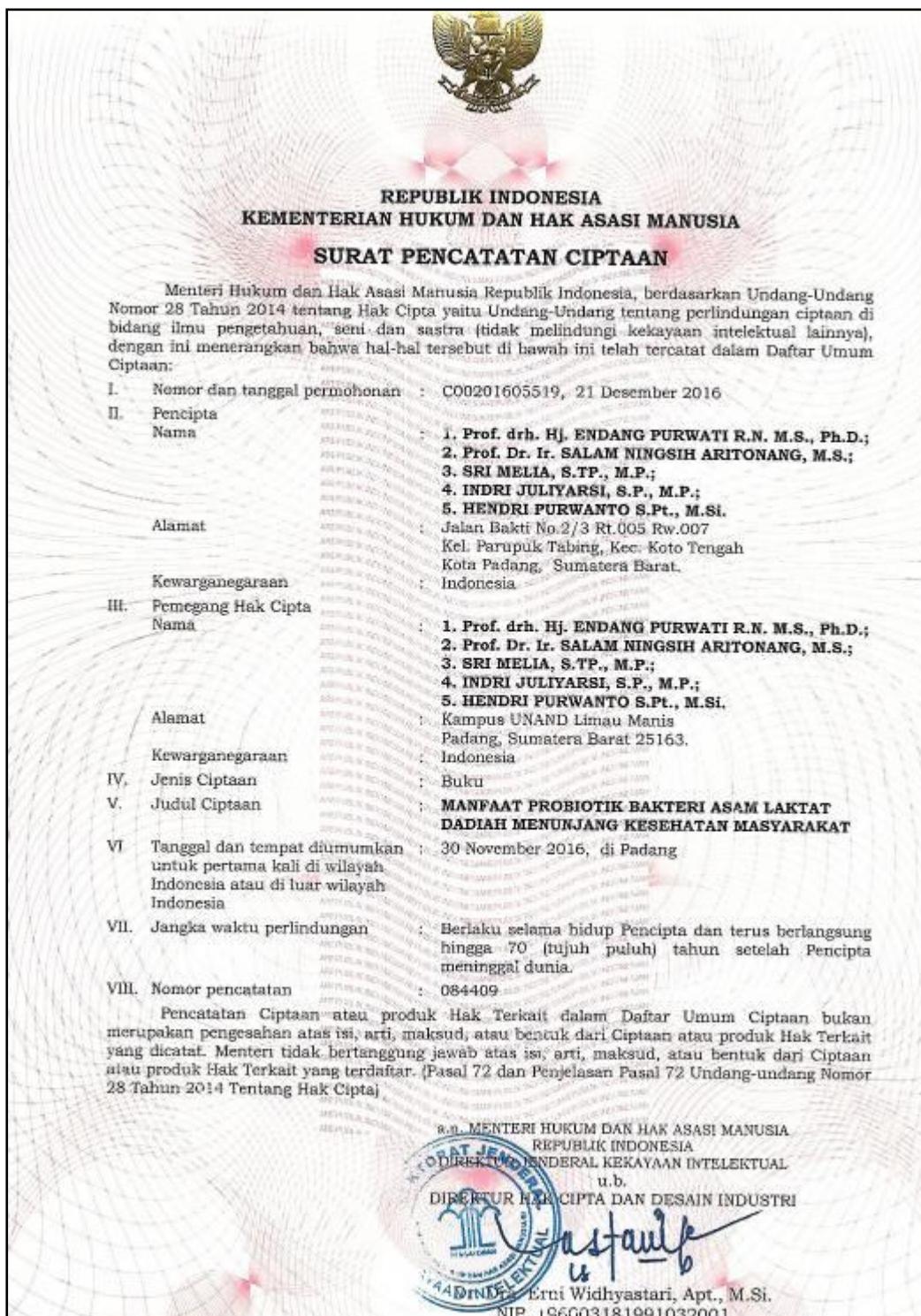
C. OUTPUT PENELITIAN HIBAH GURU BESAR

1. Telah terbit buku dengan Judul : “MANFAAT PROBIOTIK BAL MENUNJANG KESEHATAN MASYARAKAT” ISBN 978-602-6381-09-5



Gambar 29. Cover Buku Probiotik BAL yang telah terdaftar ISBN.

2. Hak Cipta Buku : MANFAAT PROBIOTIK BAL MENUNJANG KESEHATAN MASYARAKAT, nomor : C00201605519



Gambar 30. Hak Cipta Buku Probiotik

3. Publikasi Ilmiah

Submitted

Fwd: 84233-PJN-ANSI - Request for Revised Article
Email Masuk

Sri Melia <sri.melia75@gmail.com>
Kepada: endang purwati
3 Nov jam 16.52

----- Forwarded message -----

From: **Science Alert** <support@scialert.com>
Date: 2017-04-27 18:48 GMT+07:00
Subject: 84233-PJN-ANSI - Request for Revised Article
To: Sri Melia <sri.melia75@gmail.com>

Dear Ms. Sri Melia

This is with regard to your submitted manuscript, 84233-PJN-ANSI, titled Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated Buffalo Milk in West Sumatera (Indonesia), Against Listeria monocytogenes, submitted to Pakistan Journal of Nutrition on April 17, 2017 for consideration as a Research Article.

We have reviewed your manuscript. Before we can continue with scientific review, there are a few minor/major modifications we would like for you to make to your manuscript.

Required modifications are mentioned on the manuscript. You may please download the list of required modifications after log in to your account with User ID: sri.melia75@gmail.com.

If you have forgot your password, you may retrieve your password from the following link by providing your User ID [sri.melia75@gmail.com](http://scialert.com/forgot_password.php).

http://scialert.com/forgot_password.php

It is therefore, requested to please submit revised version of your article urgently for further processing.

Please let us know when we can expect the revised version of your manuscript.

We look forward to hearing from you.

Regard
PJN
Academic Editor
Pakistan Journal of Nutrition

Gambar 31. *Submitted* Publikasi Ilmiah dalam Jurnal Pakistan

Accepted

OPEN ACCESS

Pakistan Journal of Nutrition

ISSN 1680-5194

DOI: 10.3923/pjn.2017.645.650



Research Article

Characterization of the Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Buffalo Milk in West Sumatera (Indonesia) Against *Listeria monocytogenes*

¹Sri Melia, ¹Endang Purwati, ¹Yuherman, ¹Jaswandi, ¹Salam N. Aritonang and ²Mangatas Silaen

¹Department of Animal Science, Andalas University, West Sumatra, Indonesia

²Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Faculty of Prima Indonesia University, North Sumatra, Indonesia

Abstract

Background and Objective: *Listeria monocytogenes* is an important pathogenic bacteria in various cases of poisoning in the food industry due to its ability to grow in cold temperatures and to survive in freezing temperatures. Lactic acid bacteria have important probiotic attributes including their antimicrobial effect against this pathogen. Therefore, this study aimed to isolate lactic acid bacteria from buffalo milk and characterize its antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes*. **Materials and Methods:** Buffalo milk was collected from four districts in West Sumatra, Indonesia and its composition analysed. A total of 88 lactic acid bacteria strains were isolated and grown at De Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA). The strains were identified based on morphology (shape, size and colour) and their biochemical characteristics (catalase test and the fermentation type) and then screened for antimicrobial activity against *L. monocytogenes*. The species were further identified based on 16S rRNA gene sequence analysis. **Results:** As a result of isolation and identification, 19 strains of lactic acid bacteria were screened against *L. monocytogenes*, but only three isolates (A 3.2, A 3.3 and TD 7.2) showed high inhibition against *L. monocytogenes*. They were identified using 16S rRNA gene sequence analysis. **Conclusion:** The BLAST results of the identification procedure showed that the isolated bacteria from buffalo milk belonged to *Lactobacillus fermentum* strain L 23 (A 3.3), *Lactobacillus fermentum* strain 6704 (TD 7.2) and *Lactobacillus oris* strain J-1 (A 3.2).

Key words: Lactic acid bacteria, buffalo milk, antimicrobial activity, 16S rRNA, inhibition zone and *Listeria monocytogenes*

Received: April 17, 2017

Accepted: June 05, 2017

Published: July 15, 2017

Citation: Sri Melia, Endang Purwati, Yuherman, Jaswandi, Salam N. Aritonang and Mangatas Silaen, 2017. Characterization of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from buffalo milk in West Sumatra (Indonesia) against *Listeria monocytogenes*. Pak. J. Nutr., 16: 645-650.

Corresponding Author: Sri Melia, Department of Animal Science, Andalas University, West Sumatra, Indonesia Tel: +62 8126761782

Copyright: © 2017 Sri Melia *et al.* This is an open access article distributed under the terms of the creative commons attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Competing Interest: The authors have declared that no competing interest exists.

Data Availability: All relevant data are within the paper and its supporting information files.

Gambar 32. Accepted Publikasi Ilmiah dalam Jurnal Pakistan

4. HKI

D002016062186*** 16/12/2016 10:15:39***LESMANA*** 2,000,000.00*** 12B***16/12/2016		
Lembar IV		
PERMINTAAN PENDAFTARAN MEREK		
* Tgl. Masuk :	* Untuk Permintaan Merek : BARANG	
* No. Agenda :	* Tgl. Penerimaan Permintaan :	
Nama Kewarganegaraan dan alamat Pemilik Merek : Yuherman, SE. ALAMAT RUMAH : Jl. Jawa Gadut RT 002/ RW 001 Kelurahan Limau Manis Kecamatan Pauh, Kota Padang		
Nama dan alamat kuasa : Prof. drh. Hj. Endang Purwati R N., MS., Ph.D. ALAMAT RUMAH : Jl. Bakti No. 2/3 RT 005/ RW 007 Kelurahan Parupuk Tabing, Kecamatan Kota Tangah Kota Padang, 25171 ALAMAT KORESPONDENSI : LPPM Kampus Unand Limau Manis, Padang 25163		
Alamat yang dipilih di Indonesia (Diksi untuk pemilik merek yang tidak bertempat tinggal di Indonesia)		
Nama Negara dan tanggal permintaan Pendaftaran merek yang pertama kali (Diksi untuk permintaan pendaftaran yang diujuk dengan hak prioritas)		
Warna-warni effek : Ungu, Putih		
Arti bahasa/huruf/angka Asing dalam effek merek :		
YOLIP = Yogurt Limau Manis Padang		
Kelas barang/jasa : 30,00		
Jenis barang/jasa : Cair, Susu, Krim, Minuman, Fermentasi, Yogurt		
* dituliskan oleh kantor merek : PADANG, 30 NOVEMBER 2016 Kuasa, 		
Tanda tangan : Nama lengkap : Prof. drh. Hj. Endang Purwati R N., MS., Ph.D.		

Gambar 33. HKI Paten Merek Dagang YOLIP

DAFTAR PUSTAKA

- Aritonang, S.N., E. Roza, J. Pinem, Y, Mulyadi. 2011. Penerapan Aspek Teknis Pemeliharaan Kerbau di Kecamatan Lembah Gumanti Kabupaten Solok. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 3 – 4 Agt 2010 Balitvet, Bogor.
- Cleveland, J., T.J. Montville, I.F. Nes, and M.L. Chikindas. 2001. Bacteriocins : Safe,Natural, Antimicrobials for Food Preservation. International Journal Food Microbiology 71, pp. 1-20
- Gibson, G.R. & Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the humancolonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J. Nutri. 125: 1401-1412
- Husmaini, M.H. Abbas, **E. Purwati**, A. Yuniza and A.R. Alimon. 2011. Growth and Survival of Lactic Acid Bacteria Isolated fromByproduct of Virgin Coconut Oil as Probiotic Candidate for Poultry. International Journal of Poultry Science 10 (4): 309-314, 2011, ISSN 1682-8356.
- Karthikeyan, V. and S.W., Shantosh. 2009. Study of Bacteriocin as Food Preservative and The *L. acidophilus* Strain as Probiotic. Pakistan Journal Nutrition 8(4) : 335-340
- Khan, M. A. S., Islam, M. N., Siddiki, M. S. R. 2007. Physical and chemical composition of swamp and water buffalo milk: a comparative study. Italian Journal of Animal Science 6, (Suppl. 2): 1067–1070.
- Kusumawati, N., 2000. Peranan Bakteri Asam Laktat Dalam Menghambat *Listeria monocytogenes* Pada Bahan Pangan. Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi Vol 1(1). Hal. 14-28
- Melia, S., A. Sandra, A. Trisman, H. Purwanto and **E. Purwati**. 2016. The Effect of Additing Probiotic *Weissella paramesenteroides* on Physical Properties and Microbiology in Liquid Soap from Abdominal Fat Cattle. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (ISSN: 0975-8585) number RJPBCS / 2010-9178.
- Mohammed, S.S.D., dan U.J.J.Ijah, 2013. Isolation and Screening of Lactic acid from fermented Milk Products for Bacteriocin Production. Annals, Food Science and Technology, Vol. 14 (1) : 122-128
- Purwati, E.** dan Rusfidra. 2011. Aplikasi Bioteknologi Untuk Pelestarian Sumber Daya Genetik Ternak dan Mikroba Probiotik dapat Meningkatkan Kesehatan serta Pendapatan Masyarakat Korban Gempa Sumatera Barat. Hibah Penelitian Tim Pascasarjana – HPTP (Hibah Pasca).

- Purwati, E.** Jafrinur, Rusfidra dan Armadyan. 2010. Pengawalan Pengolahan dan Pemasaran Hasil Peternakan (P2HP) Tahun 2009 di Provinsi Sumatera Barat. Cendekia, Bogor. ISBN 978-979-15949-6-7
- Purwati, E.** Rusfidra, Armadyan, Indri, J. dan H. Purwanto. 2010. Plasma Nutfah Sumatera Barat "Dadiyah Sebagai Pangan Fungsional Probiotik Menunjang Kesehatan Masyarakat". Cendekia, Bogor. ISBN 978-979-15949-5-0
- Purwati, E.**, Arief dan A. Rahmadi. 2011. Teknologi Dadiyah. Cendekia, Bogor. ISBN 978-979-15949-8-1.
- Purwati, E.**, B. S. Putra, Y. D. Jurnalis and Y. Sayoeti. 2015. Influence of *Pediococcus Pentasaceus* Isolate "Dadih" (Buffalo Milk Fermented in Bamboo) The Bowel Frequency, Secretory Immunoglobulin a Level and Height of Ileum Villi of The Mice Epec Induced Diarrhea. Proceedings of The ICMPBB 2015
- Purwati, E.**, Salam, N. A. dan Husmaini. 2010. Standariasasi dan Mutu Pengolahan Hasil Ternak. Cendekia, Bogor. ISBN 978-979-15949-8-1.
- Purwati, E.**, S. Syukur, Husmaini, H. Purwanto dan R.P. Pasaribu, 2014. Molekuler Karakteristik Bakteri Asam Laktat Isolate Dadih Air Dingin Kabupaten Solok Sumatera Barat. Jurnal Vol. 40. No.2. Hal. 134-146
- Purwati, E.**, S. N. Aritonang, S. Melia, I. Juliyarsi dan H. Purwanto. 2016. Manfaat Probiotik Bakteri Asam Laktat Dadiyah Menunjang Kesehatan Masyarakat. Lembaga Literasi Dayak (LID), Tangerang. ISBN 978-602-6381-09-5
- Romadhon, Subagyo dan S. Margino. 2012. Isolasi dan karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Peternakan. Jurnal Saintek Perikanan Vol.8. No.1. Hal. 59-64
- Salminen, S, Atte, V.W and Arthur O, 2004. Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel
- Sharma, R., Bhagwan S.s., Gulab, S.T, Pallavi, J., Sangeeta, P., Anjana, S., dan Prakash S.B., 2013. Characterization of Lactic Acid Bacteria from Raw Milk Sample of Cow, Goat, Sheep, Camel and Buffalo With Special Elucidation to Lactic Acid Production. British Microbiology Research Journal, 2(4) : 743-752
- Sumaryati, S., L.S. Utami., **E. Purwati**, Urnenrni dan Jamsari, 2011. Screening and In vitro Antimikrobal, Protease activities From Lactic acid Bacteria Associated With Green Cacao Fermentation in West Sumatera, Indonesia. Prosiding Seminar Internasional HKI, pekanbaru
- Surono., I.S. 2004. Probiotik ; Susu Fermentasi dan Kesehatan. PT. Tri Cipta Mandiri, Jakarta

Syukur, S dan **E. Purwati**. 2013. Bioteknologi Probiotik Untuk Kesehatan Masyarakat. Penerbit Andi. ISBN 978-979-29-3998-9

Van den Berg DJC, Smith A, Pot B, Ledeboer AM, Kerstens K, Verbakel JMA, and Verrips CT. 1993. Isolation, Screening and Identification of Lactic Acid Bacteria from Traditional food Fermentation Processes and Culture Collection. Food Biotechnol 7 : 189-205.