

Kode>Nama Rumpun Ilmu:234/Pengolahan Hasil Perikanan

**LAPORAN TAHUNAN**

**PENELITIAN FUNDAMENTAL**



**AKTIVITAS ANTAGONIS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) HASIL ISOLASI  
DARI IKAN BANDENG (*Chanos chanos*) TERHADAP BAKTERI PATOGEN**

**Tahun Ke 1 dari rencana 2 tahun**

**Dr.Rieny Sulistijowati S. S.Pi,M.Si (Ketua)  
NIDN 0009107103**

**UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO**

**SEPTEMBER 2014**

## LEMBAR PENGESAHAN

### HALAMAN PENGESAHAN

**Judul Kegiatan** : AKTIVITAS ANTAGONIS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)  
HASIL ISOLASI DARI IKAN BANDENG (*Chanos chanos*)  
TERHADAP BAKTERI PATOGEN

**Peneliti / Pelaksana**  
**Nama Lengkap** : Dr RIENY SULISTIOWATI S S.Pi, M.Si  
**NIDN** : 0009107103  
**Jabatan Fungsional** :  
**Program Studi** : Teknologi Hasil Perikanan  
**Nomor HP** : 081340152103  
**Surel (e-mail)** : rieny.sulistijowati@ung.ac.id

**Anggota Peneliti (1)**  
**Nama Lengkap** : FAIZA A DALI S.Pi, M.Si  
**NIDN** : 0014058401  
**Perguruan Tinggi** : Universitas Negeri Gorontalo

**Institusi Mitra (jika ada)**  
**Nama Institusi Mitra** :  
**Alamat** :  
**Penanggung Jawab** :  
**Tahun Pelaksanaan** : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun  
**Biaya Tahun Berjalan** : Rp. 30.000.000,00  
**Biaya Keseluruhan** : Rp. 140.000.000,00

Mengetahui  
Ketua Lembaga Penelitian

(Dr. Fitryane Lihawa, M.Si)  
NIP/NIK 196912091993032001

Gorontalo, 26 - 6 - 2014,  
Ketua Peneliti,

(Dr RIENY SULISTIOWATI S S.Pi, M.Si)  
NIP/NIK197110092005012001

## RINGKASAN

Penelitian Fundamental tahap pertama telah dilaksanakan dimana tujuan penelitian tahun 2014 adalah mengidentifikasi grup bakteri asam laktat hasil isolasi dari usus ikan bandeng dan memperoleh Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) asam laktat yang mampu menghambat bakteri patogen. Sampe ikan bandeng diperoleh dari tambak bandeng di kabupaten Pohuwato. Pelaksanaan penelitian pada bulan April sampai September 2014. Lokasi laboratorium di LPPMHP Propinsi Gorontalo. Identifikasi meliputi uji karakteristik biokimia isolat dan perwarnaan Gram. Uji KHM menggunakan konsentrasi asam laktat 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100%. Bakteri patogen yang digunakan sebagai antagonis yaitu *Bacillus Sp.* dan *Staphilococcus aureus*. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh 10 isolat bakteri asam laktat dengan menggunakan medium pertumbuhan *de Man Rogosa Sharp agar* (MRS agar). Hasil uji pewarnaan Gram diperoleh sepuluh isolat Gram positif, tiga isolat RS6,RS7 dan RS9 bentuk batang, selain itu bentuk kokus; seluruh isolat tidak berspora. Berdasarkan identifikasi menggunakan panduan Bergey, isolat RS6, RS7 dan RS9 adalah genus *Lactobacillus* sedangkan isolat lainnya adalah genus *Leuconostoc*. Konsentrasi hambat minimum asam laktat dari bakteri *Lactobacillus* terhadap bakteri *Bacillus Sp.* adalah 80% sedangkan terhadap bakteri *Staphilococcus aureus* 30%.

Kata kunci: Ikan bandeng, bakteri asam laktat, konsentrasi hambat minimum

## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas kemurahanNya penelitian tahun pertama hibah fundamental telah dilaksanakan. Pada tahun ini tujuan penelitian untuk mengidentifikasi grup bakteri asam laktat hasil isolasi dari usus ikan bandeng dan memperoleh Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) asam laktat yang mampu menghambat bakteri patogen.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan *pertama* kepada DP2M Dikti yang telah mempercayai penulis untuk melaksanakan penelitian yang diusulkan dan mendanainya; *kedua* kepada LEMLIT UNG yang membantu proses kelancaran penelitian serta *ketiga* kepada LPPMHP Prop.Gorontalo yang banyak membantu sarana laboratorium yang diperlukan.

Penelitian lanjutan tahun ke dua (2015) semoga dapat terlaksana dengan lancar seperti pada tahun pertama sehingga realisasi tujua penelitian akan diperoleh secara utuh.

Penulis

## DAFTAR ISI

### Contents

LEMBAR PENGESAHAN.....	i
RINGKASAN .....	ii
PRAKATA .....	iii
DAFTAR TABEL .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Ikan Bandeng ( <i>Chanos chanos</i> ) .....	4
2.2 Bakteri Patogen .....	5
2.3 Bakteri Asam Laktat Sebagai Bakteri Antagonis .....	10
2.4 Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) .....	11
BAB III TUJUAN dan MANFAAT PENELITIAN .....	14
3.1 Tujuan Penelitian.....	14
3.2 Manfaat Penelitian.....	14
BAB IV METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Waktu dan Tempat .....	15
3.2 Bahan dan Alat .....	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	27
4.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat .....	27
4.2 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Asam laktat terhadap Bakteri Patogen .....	30
BAB VI RENCANA TAHAP BERIKUTNYA .....	32
BAB VII KESIMPULAN dan SARAN .....	34
DAFTAR PUSTAKA.....	35

## DAFTAR TABEL

<i>Teks</i>	<i>Halaman</i>
1. Morfologi dan Karakteristik Fisiologi Isolat Bakteri Asam Laktat.....	28
2. Karakteristik Genus Isolat Bakteri Asam Laktat .....	29
3. . Konsentrasi Hambat Minimum Asam Laktat terhadap Bakteri Patogen.....	28

## DAFTAR GAMBAR

<i>Teks</i>	<i>Halaman</i>
1. Ikan Bandeng.....	4
2. Internal Anatomi Ikan Bandeng.....	5
3. Diagram Metode Penelitian.....	17

## DAFTAR LAMPIRAN

<i>Teks</i>	<i>Halaman</i>
1. Hasil Isolat Bal Usus Ikan Bandeng.....	38
2. Hasil Uji IMVIC dan Katalase.....	39
3. Hasil Pewarnaan Gram.....	44
4. Hasil Uji KHM.....	49

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

Beberapa tahun terakhir sering timbul adanya bakteri yang resisten terhadap antibiotik yang disebabkan pemakaian antibiotik yang tidak mengikuti aturan yang benar, sehingga terjadi peningkatan secara ekstrim jumlah bakteri patogen dan non patogen yang resisten terhadap antibiotik termasuk bakteri patogen pada makanan. Akibatnya penggunaan pengawet kimia untuk makanan semakin tinggi. Sumberdaya perikanan bandeng khususnya bakteri yang berasosiasi dengan bandeng dapat menghasilkan metabolit sebagai biomedikal yang penting. Meskipun beberapa komponen potensial telah diisolasi dari organisme lain, namun perlu terus dilakukan temuan antibiotik bagi penyakit-penyakit yang baru dan pengolahan pangan.

Ikan bandeng yang berkembang biak di perairan air payau memiliki karakteristik berbadan langsing, sirip bercabang, sisik seperti kaca dan berdaging putih. Di samping itu memiliki keunikan, yakni mulutnya tidak bergigi dan makanannya adalah tumbuh-tumbuhan dasar laut. Selain itu panjang usus bandeng 9 kali panjang badannya (Murtidjo, 2002). Di dalam usus yang panjang tersebut terdapat berbagai jenis bakteri antara lain bakteri asam laktat (BAL) yang membantu proses pencernaan makanan. Selain fungsi tersebut BAL bersifat antagonis terhadap bakteri patogen. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dan diuji aktivitas antagonis terhadap bakteri patogen dan dikembangkan sebagai antibiotik baru.

Mikroorganisme tidak hanya menyebabkan infeksi, namun dapat juga memproduksi substansi organik yang dapat menghambat infeksi. Beberapa mikroorganisme mengandung substansi sebagai antimikroba, antiviral, antikoagulasi dan lain-lain. Banyak faktor dan keadaan yang dapat memengaruhi penghambatan atau pembunuhan mikroorganisme oleh bahan atau proses antimikrobia. Beberapa faktor yang memengaruhi kemampuan daya hambat yaitu, konsentrasi atau intensitas zat antimikrobia, jumlah mikroorganisme, suhu, spesies mikroorganisme, adanya bahan organik dan derajat keasaman (pH) (Pelczar dan Chan, 2005).

Daya hambat suatu zat antimikrobia dapat diuji aktivitasnya. Uji aktivitas antimikroba dari suatu senyawa atau suatu zat, dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut untuk menghambat pertumbuhan atau bahkan dapat membunuh suatu mikroba tertentu. Uji aktivitas antimikroba tersebut dapat dilakukan melalui metode pengenceran dan metode difusi agar (Tortora, dkk. 1998).

Tujuan umum yang akan dicapai adalah diperoleh informasi jenis bakteri asam laktat hasil isolasi pada ikan bandeng yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Tujuan khusus penelitian yang akan diperoleh adalah informasi aktivitas antagonis bakteri asam laktat hasil isolasi dari ikan bandeng yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Hasil tersebut diharapkan pada masa yang akan datang dapat digunakan sebagai pengembangan bioteknologi antibiotik baru untuk biopreservatif pada pengolahan hasil perikanan.

Urgensi penelitian adalah saat ini banyak jenis penyakit baru yang belum dapat disembuhkan dengan antibiotik yang ada, demikian juga pada pengolahan pangan banyak penggunaan bahan kimia sebagai pengawet yang tidak aman bagi kesehatan. Hal ini dapat disebabkan karena sifat resistensi antibiotik tersebut lemah yang diakibatkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak mengikuti aturan pakai. Tingginya kebutuhan antibiotik mendorong perlu dilakukan temuan antibiotik baru yang resisten terhadap bakteri patogen. Sumber antibiotik secara alami banyak bersumber dari alam antara lain mikroorganisme yang memiliki kemampuan antagonis terhadap bakteri patogen. Bakteri asam laktat yang berasosiasi dengan ikan bandeng (*Chanos chanos*) dapat berpotensi sebagai antibiotik baru.

Berdasarkan urgensi di atas maka dilakukan penelitian tentang aktivitas antagonis bakteri asam laktat dari ikan bandeng (*Chanos chanos*) terhadap bakteri patogen. Luaran penelitian yang akan dihasilkan adalah informasi aktivitas antagonis bakteri asam laktat hasil isolasi dari ikan bandeng (*Chanos chanos*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang dimuat pada jurnal nasional terakreditasi dan dihasilkan buku ajar ber-ISBN.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Ikan Bandeng (*Chanos chanos*)

Ikan bandeng merupakan salah satu komoditas ekspor yang dikenal dengan sebutan *milkfish*. Ikan bandeng yang berkembang biak di perairan air payau memiliki karakteristik berbadan langsing, sirip bercabang, sisik seperti kaca dan berdaging putih. Di samping itu memiliki keunikan, yakni mulutnya tidak bergigi dan makanannya adalah tumbuh-tumbuhan dasar laut. Selain itu panjang usus bandeng 9 kali panjang badannya (Murtidjo, 2002).

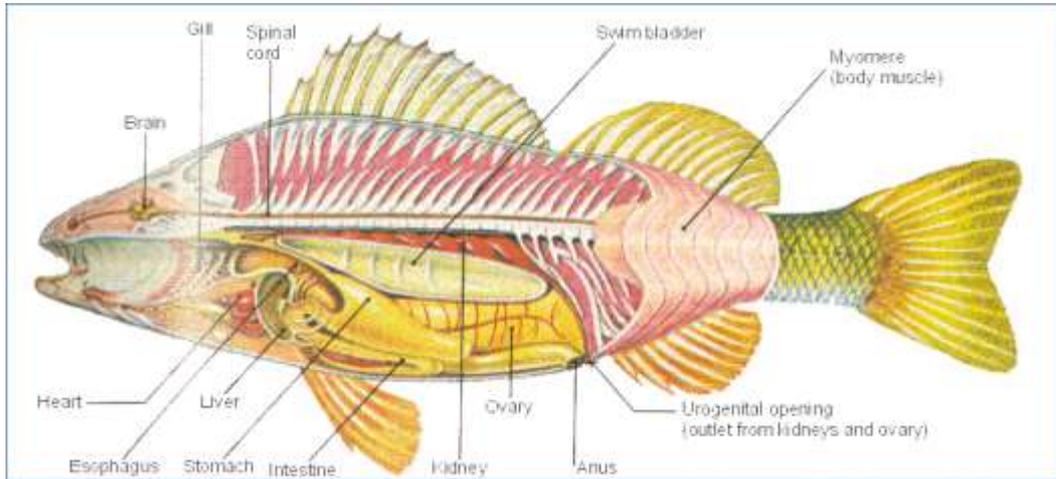
Klasifikasi ikan bandeng adalah sebagai berikut:

Philum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Subkelas	: Teleostei
Ordo	: Malacopterygii
Famili	: Chanidae
Genus	: <i>Chanos</i>
Spesies	: <i>Chanos chanos</i>



Gambar 1. Ikan Bandeng

Internal anatomi ikan terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Internal Anatomi Ikan

Sumber: Anonimous, 2013

## 2.2 Bakteri Patogen

Patogen ialah mikroorganisme atau makroorganisme yang mampu menimbulkan penyakit. Sifat mikroorganisme yang meningkatkan patogenisitas disebut faktor virulensi. Apabila satu mikroba lebih mampu menimbulkan suatu penyakit, maka dikatakan mikroba tersebut lebih virulen daripada yang lain (Pelczar dan Chan, 2006).

### *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* mempunyai ukuran sel yang besarnya 1.0 – 1.2  $\mu\text{m}$  dengan panjang 3.0 – 5.0  $\mu\text{m}$ , bersifat anaerobik fakultatif, dan membentuk spora sentris atau agak ke tengah. Spora *B. cereus* tahan terhadap panas dan radiasi (Supardi dan Sukanto 1999). Selain memproduksi enterotoksin, *B. cereus* juga memproduksi fosfolipase, hemolisin, dan metabolit-metabolit lainnya. Enterotoksin *B. cereus* mempunyai sifat hemolitik. Enterotoksin *B. cereus*

merupakan suatu eksotoksin yang diduga dilepaskan ke luar sel sewaktu sel mengalami lisis. Tetapi penelitian Spira dan Goepfert (1975) dalam Supardi dan Sukamto (1999), membuktikan bahwa enterotoksin diproduksi selama pertumbuhan aktif atau masa logaritmik dari sel dan dilepaskan ke medium sekitarnya tanpa sel mengalami lisis. Selama pertumbuhan aktif, ternyata konsentrasi enterotoksin di dalam sel (intraseluler) sangat rendah, dan selama tahap stasioner, sebagian sel mengalami lisis, konsentrasi enterotoksin di luar sel (ekstraseluler) tidak mengalami kenaikan .

Jenis pangan yang sering ditumbuhi *B. cereus* terutama adalah makanan dari daging, nasi, sayuran, sosis, makaroni, dan kadang-kadang ikan, susu atau es krim. *B. cereus* akan tumbuh dengan baik bila substratnya mengandung karbohidrat (Supardi dan Sukamto 1999). Selanjutnya dijelaskan bahwa strain *B. cereus* yang bersifat patogenik dapat dibedakan atas tiga grup yaitu strain penyebab diare, strain penyebab muntah, dan strain yang bersifat non-enterotoksigenik. Strain penyebab diare dapat memproduksi enterotoksin yang dapat menyebabkan diare dan sakit perut. Strain yang dapat menimbulkan gejala muntah memproduksi toksin emetik.

Habitat *B.cereus* dapat bersumber dari hasil perairan, seperti hasil penelitian Sulistijowati (2012) telah mengisolasi bakteri kontaminan dari rebusan daging ikan tongkol yaitu *Bacillus* sp. Dali (2010) telah mengisolasi dan menemukan karakteristik *Bacillus* sp. yang diisolasi dari rajungan (*portunus pelagicus*) segar dan produk kaleng.

## *Salmonella*

*Salmonella* sp. termasuk dalam famili *enterobacteriaceae*. Bakteri ini berbentuk batang pendek, bersifat Gram negatif, tidak membentuk spora, anaerob fakultatif dan memiliki flagela peritrikat. Bakteri ini merupakan bakteri patogen yang berbahaya. Selain dapat menyebabkan gejala kelainan gastrointestina, *Salmonella* sp. juga dapat menyebabkan demam tifus dan paratifus (Fardiaz, 1992). *S. typhimurium* merupakan bakteri Gram negatif, menyebabkan gastro enteric atau keracunan makanan (Duerden *et al*, 1993). Bakteri patogen ini apabila terdapat dalam pangan sulit dikontrol karena sifat-sifat biologisnya. *Salmonellosis* merupakan penyakit yang disebabkan *salmonella*, dapat terjadi pada ternak maupun manusia. Serotipe bakteri ini potensial bersifat patogen, juga merupakan kontaminan bagi produk ternak seperti daging, telur dan susu. *Salmonellosis* yang merupakan penyakit zoonose ini juga disebut “*Food Borne Disease*” karena penularannya terjadi melalui pangan. *Salmonella* sp. banyak ditemukan pada saluran pencernaan vertebrata maupun invertebrata dan juga terdapat dalam faeces ternak. Bakteri ini juga terdapat pada tembolok broiler sehingga dapat mengontaminasi karkas (Sutherland *and* Porritt, 1997).

## *Escherichia coli*

*E. coli* merupakan suatu bakteri Gram negatif, tidak berkapsul, berbentuk batang dengan ukuran panjang 2-6  $\mu\text{m}$  dan lebar 1.1-1.5  $\mu\text{m}$ , tersusun tunggal atau berpasangan, hidup secara aerobik dan anaerobik fakultatif, serta bersifat motil dengan menggunakan *flagella peritrikus* (Fardiaz, 1992). Suhu

pertumbuhan *E.coli* antara 10-40°C, dengan suhu optimum 37°C. Derajat keasaman (pH) optimum untuk pertumbuhannya adalah 7-7.5; pH minimum pada 4 dan maksimum pada pH 9. *E. coli* dapat menggunakan asetat sebagai sumber karbon, tetapi tidak dapat menggunakan sitrat. Glukosa dan beberapa karbohidrat lainnya dipecah menjadi piruvat, dan fermentasi lebih lanjut menghasilkan asam laktat dan format (Supardi dan Sukanto, 1999). Bakteri ini umumnya ditemukan pada kotoran, air, usus manusia dan hewan. Biasanya terdapat dalam jumlah konsentrasi sekitar  $10^7$ - $10^8$  dalam 1 g *faeces*. Bakteri ini tersebar di seluruh dunia dan dapat menimbulkan penyakit diare (Pelczar and Chan, 2006).

Sulistijowati *et al* (2010) berdasarkan hasil penelitiannya menemukan bakteri *E.coli* dari rebusan daging kan tongkol dan mampu mengurangi jumlah bakteri *E.coli* dengan cara perendaman selama 90 menit dalam kultur *Lactobacillus acidophilus*  $10^{11}$  cfu/ml, jumlah *E.coli* dari  $10^8$  cfu menjadi 0.

#### *Staphilococcus aureus*

Bakteri yang dapat menyebabkan keracunan stafilokokus adalah strain tertentu dari *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* termasuk dalam familia Micrococcaceae, bakteri ini umumnya membentuk pigmen kuning keemasan, memproduksi koagulase, dan dapat mefermentasi glukosa dan manitol dengan memproduksi asam dalam keadaan anaerobik. Sel dari bakteri ini bersifat Gram positif, dan berbentuk bulat (kokus), berukuran diameter 0.5 – 1.5  $\mu$ m, tidak membentuk spora, katalase positif, dan biasanya sel-selnya berkelompok seperti anggur. *S. aureus* tahan terhadap lisis yang disebabkan oleh enzim lysozim dan

memproduksi enzim fosfatase dan deoksiribonuklease. Suhu optimum untuk pertumbuhan *S.aureus* adalah 35-37°C, dengan suhu minimum 6.7°C dan suhu maksimum 45,5°C. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4.0 – 9.8 dengan pH optimum sekitar 7.0 – 7.5 (Supardi dan Sukamto, 1999). *S. aureus* dapat memproduksi 6 macam enterotoksin yang terdiri dari enterotoksin A (SEA), B (SEB), C<sub>1</sub> (SEC<sub>1</sub>), C<sub>2</sub> (SEC<sub>2</sub>), D (SED), dan E (SEE). Penggolongan ini ditentukan berdasarkan reaksi spesifik antigen-antibodi. Daya racun dari ke-6 toksin tersebut berbeda, dan yang paling banyak ditemukan sebagai penyebab keracunan pangan adalah toksin tipe A. Toksin A diproduksi selama fase logaritmik dari pertumbuhan selnya, sedangkan toksin B dan C dibentuk selama akhir dari fase logaritmik atau awal dari fase stasioner. Pembentukan enterotoksin oleh *S. aureus* dalam pangan dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor-faktor tersebut misalnya sifat dan komposisi substrat, suhu, dan waktu, pH, Aw, adanya garam NaCl dan nitrit, antibiotik dan sebagainya. Jenis pangan yang dapat ditumbuhi *S. aureus* misalnya daging, ikan yang telah dimasak atau diolah. Meskipun telah dimasak, pangan tersebut masih mungkin mengalami kontaminasi. Misalnya, oleh tangan atau lingkungan selama penyimpanan sebelum konsumsi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa spesies tertentu dari bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan produksi enterotoksin, terutama yang tergolong dalam streptokoki dan juga pediokoki.

Untuk pencegahan keracunan stafilokokus, tindakan utama yang harus dilakukan adalah mencegah terjadinya kontaminasi makanan oleh *Staphylococcus*, dan menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang

telah terlanjur mencemari makanan. Pertumbuhan bakteri dapat dicegah dengan melakukan pendinginan, menurunkan pH makanan, atau dengan penambahan komponen yang bersifat bakteriostatik (Supardi dan Sukanto 1999).

Hasil penelitian Sulistijowati (2010) telah berhasil mengisolasi bakteri *S. aureus* dari rebusan daging ikan tongkol yang diduga merupakan kontaminasi dari peralatan dan air rendaman. Selanjutnya telah dilakukan tindakan pencegahan dengan menggunakan filtrat bakteriosin, hasilnya bakteriosin mampu menghambat bakteri *S.aureus* (Sulistijowati 2011).

### **2.3 Bakteri Asam Laktat Sebagai Bakteri Antagonis**

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi keberadaan bakteri patogen dan bakteri pembusuk adalah menggunakan bakteri antagonis. Bakteri antagonis adalah bakteri yang memiliki sifat berlawanan dengan bakteri pembusuk, patogen atau yang tidak diharapkan. Bakteri antagonis sering disebut bakteri menguntungkan, karena dapat digunakan untuk menghambat atau menghentikan aktivitas bakteri yang merugikan dan tidak menimbulkan bahaya apabila dikonsumsi. Kelompok bakteri asam laktat mampu sebagai bakteri antagonis, kelompok BAL antara lain *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus faecalis* dan *S. lactis*. Kemampuan tersebut disebabkan BAL menghasilkan metabolit selama pertumbuhannya antara lain bakteriosin (Sulistijowati 2012). Selanjutnya dijelaskan selama fermentasi *sodabushi* ikan tongkol jumlah bakteri *S.aureus* mampu dihambat pertumbuhannya.

Secara komersial *lactic acid* diproduksi oleh beberapa *Lactobacillus* sp. yang mampu memproduksi L(+) lactate atau (DL-lactate), *acetic acid* oleh *Acetobacter aceti* dan *propionic acid* oleh *Propionibacterium* spp. Ketiganya telah terdapat pada daftar yang aman (GRAS = *Generally Recognized As Safe*), dapat digunakan sebagai bahan pengawet untuk peningkatan *flavor*, perpanjangan masa kadaluwarsa serta merupakan bahan pencegah mikroorganisme yang tidak diharapkan (Balua, 2010). Hasil penelitian Sulistijowati *et al* (2010) penggunaan kultur *L.acidophilus* dapat menghambat pertumbuhan *E.coli*. Dali (2012) hasil skrining Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari Bakasang yaitu *Lactobacillus plantarum* dan *L. acidophilus* sebagai probiotik potensial.

#### **2.4 Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)**

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan untuk menentukan jumlah terkecil zat uji yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penentuan KHM menurut Madigan, dkk. (1997) dapat dilakukan melalui metode pengenceran tabung dan metode pengenceran agar yaitu:

##### **1. Metode Pengenceran Tabung**

Tabung-tabung reaksi diisi dengan zat uji yang diencerkan medium pertumbuhan cair pada jumlah yang berbeda - beda, sehingga menghasilkan variasi konsentrasi zat uji. Pada larutan-larutan zat uji tersebut ditambahkan bakteri uji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati dengan melihat kekeruhan tabung (turbiditas). KHM terdapat pada tabung terakhir yang masih bening, yang mengandung zat uji dengan konsentrasi terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

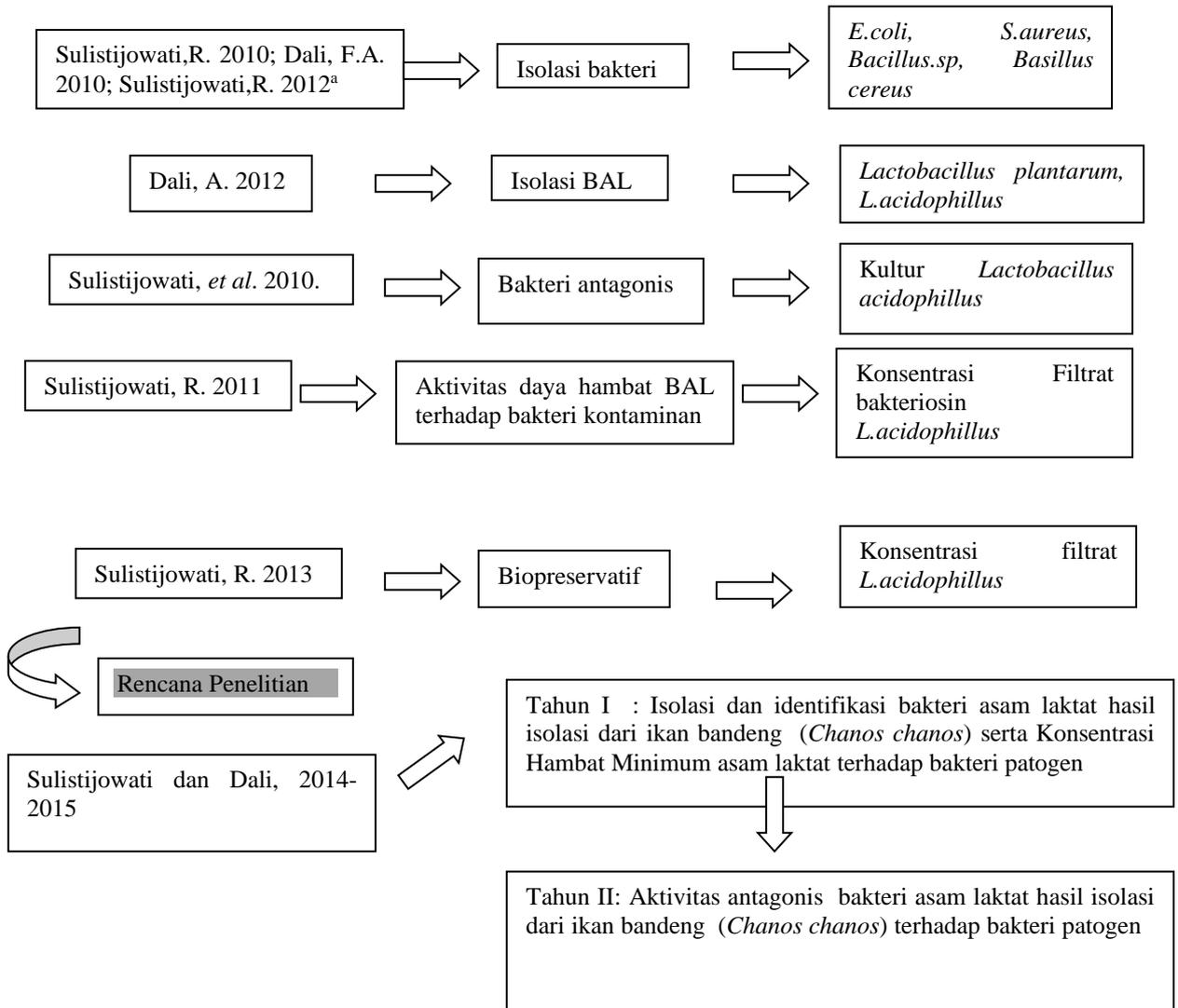
## 2. Metode pengenceran Agar

Prosedur pengenceran agar adalah mengamati pertumbuhan koloni bakteri pada agar yang telah dicampur dengan berbagai konsentrasi zat uji. KHM terdapat pada agar dengan konsentrasi zat uji terkecil yang tidak tampak pertumbuhan koloni bakteri.

Beberapa hasil penelitian yang menunjang antara lain; Sulistijowati (2013) melakukan penelitian potensi filtrat *L.acidophilus* sebagai biopreservatif rebusan daging ikan tongkol pada pengolahan *arabushi*. Sulistijowati (2012) menentukan KHM *L.acidophilus* terhadap bakteri kontaminan dari rebusan daging ikan tongkol menggunakan metode pengenceran tabung dan pengenceran agar. Jebasingh and Marugan 2011 telah meneliti aktivitas antagonis bakteri yang berasosiasi dengan *Balanus Amphitrite* terhadap bakteri patogen manusia.

Hasil penelitian pendahuluan yang telah diperoleh adalah telah diisolasi 15 jenis bakteri asam laktat dari usus ikan bandeng.

Roadmap penelitian adalah sebagai berikut:.



## **BAB III**

### **TUJUAN dan MANFAAT PENELITIAN**

#### **3.1 Tujuan Penelitian**

Tujuan Penelitian tahun pertama adalah untuk mengetahui identifikasi bakteri asam laktat hasil isolasi dari usus ikan bandeng dan konsentrasi hambat minimum asam laktat terhadap bakteri patogen

#### **3.2 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian pada tahun pertama yaitu pertama diperoleh isolat BAL dari usus ikan bandeng dan diketahui pula karakteristik antara lain Indol, MRVP, Methyl Red, VP, Simmon Citrate, Uji katalase, LTB. Identifikasi Gram negatif atau positif serta bentuk bakteri dan keberadaan spora setiap isolat. Kedua, diketahui konsentrasi hambat minimum asam laktat terhadap bakteri patogen

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Pelaksanaan penelitian tahap pertama tahun 2014 dilaksanakan bulan Maret sampai Juni.. Ikan bandeng diperoleh dari tambak ikan bandeng di Kabupaten Pohuwato Propinsi Gorontalo. Isolasi dan identifikasi berupa karakteristik biokimia dan pewarnaan Gram dilaksanakan di Laboratorium Pembinaan dan Pengujian Hasil Perikanan (LPPMHP) Propinsi Gorontalo.

#### **3.2 Bahan dan Alat**

##### **1. Bahan**

Penelitian ini menggunakan ikan bandeng dari tambak bandeng di Kabupaten Pohuwato. Isolat bakteri patogen diperoleh dari Lab. Kesehatan dan isolat-isolat bakteri asam laktat dari usus ikan bandeng. Jenisbahan dan medium yang digunakan untuk tahap pertama antara lain *deMan Rogosa Sharp* (MRS) *Broth*, *Nutrient Agar* (NA), NaCl fisiologis, akuades, plastik, kapas, kertas label, kertas antibiotik, *Escherichia coli Broth* (EC), *Nutrient Broth* (NB), *Brain Heart Infusion* (BHI) *Agar*, *Salmonella-Shigella Agar* (SSA), *buffer* fosfat, *Bismuth Sulfite Agar* (BSA), larutan kristal violet, safranin, lugol, media IMVIC, alkohol 95 persen, spritus.

## **2. Alat**

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, ose, inkubator (*Memmert*), *autoclaf* (*HL 36 Ae*), *pH-meter* (*Cyberscan 510 pc*), *oven* (*Memmert*), timbangan analitik (0,001 mg) (*AA 200*), membran *millipore* ukuran 0,45  $\mu\text{m}$ , *paper dish*, gunting, pinset, tabung durham, *coolbox*, *laminar airflow* (*Labconco*), loyang persegi, pipet tetes, pipet volume (*Ependroff 5804 A*), bunsen, termometer, pisau, rak tabung reaksi, spatula, *magnetic stirrer*, tabung durham, inkubator, *refrigerator*, *shaker* Certomat BS-1, mikroskop elektron.

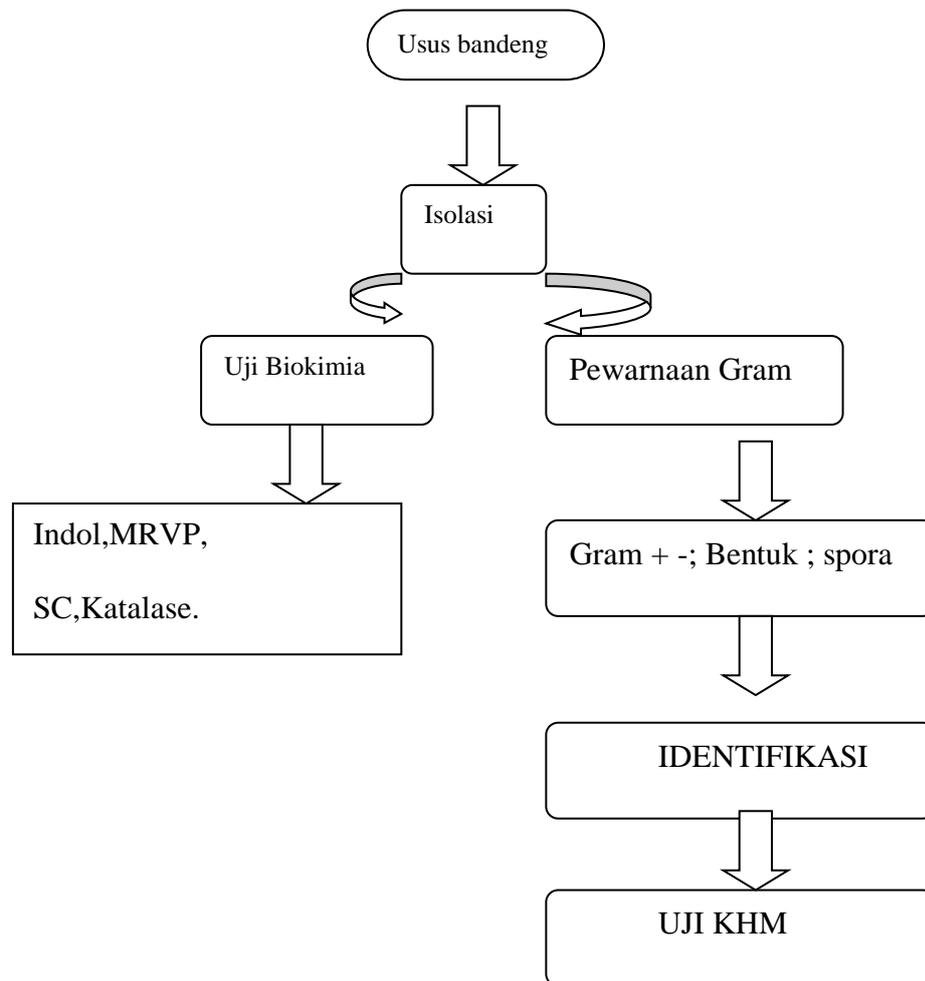
## **3. Metode Penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif di laboratorium. Penelitian terdiri dari 3 tahap, yaitu:

### **Tahap pertama: Isolasi dan identifikasi BAL (Cappucino and Sherman, 2005)**

Tahap pertama Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari usus ikan bandeng dan pola resistensi terhadap antibiotik menggunakan teknik survei di laboratorium dan hasil akan dibahas secara deskriptif. Identifikasi bakteri menggunakan buku panduan *Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology*. Tahapan isolasi BAL menggunakan medium MRS *broth*, hasil isolat dikultur pada medium MRS agar. Tahap identifikasi meliputi morfologi, pewarnaan Gram, uji biokimia. Uji biokimia antara lain Indol, MRVP, Methyi Red, Vp, Simmon Citrate, Uji Katalase dan LTB. Pewarnaan Gram menggunakan lugol

dan safranin dan diamati perubahan warna sel serta bentuk sel menggunakan mikroskop. Hasil penelitian dianalisis secara deskriptif yang menggambarkan karakteristik setiap isolat. Diagram metode penelitian terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram Metode Penelitian

#### 4. Prosedur Kerja

##### **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat**

###### Strerilisasi Alat dan Bahan

Untuk melakukan pengujian, alat dan bahan sebelumnya dilakukan sterilisasi yang bertujuan untuk membersihkan atau membebaskan alat dan bahan dari semua mikroorganisme. Alat yang akan disterilisasi, dicuci terlebih dahulu dengan menggunakan deterjen setelah itu dikeringkan. Kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit setelah di autoklaf semua alat dipindahkan pada oven untuk disterilisasi kering dengan suhu 225°C selama 2 jam.

Media dibuat sebagai tempat tumbuh bakteri. Cara pembuatan, Media ditimbang sesuai kebutuhan. Kemudian dilarutkan dengan akuades dalam erlenmeyer dan dipanaskan di atas hot plate yang dilengkapi magnetic stirrer. Setelah selesai, media didinginkan selama 3-5 menit kemudian erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah erlenmeyer selesai disterilisasi, media dituang ke dalam cawan petri kemudian disimpan.

###### Preparasi Sampel Uji

Tujuan preparasi sampel uji adalah melakukan pembedahan terhadap sampel uji agar didapat organ yang menjadi target pada sampel uji yaitu usus ikan bandeng. Pada ikan dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol 70%, lalu ikan

dibedah dengan menggunakan peralatan bedah steril (*disecting set*) Secara aseptis, jarum ose ditusuk ke organ target.

#### Isolasi Bakteri Asam Laktat

Tujuan dari isolasi bakteri adalah untuk menumbuhkan/membiakkan bakteri pada media tumbuh MRSA sehingga memperoleh koloni bakteri yang sudah murni. Adapun tahapan isolasi bakteri adalah penggoresan dan pemurnian.

##### a. Penggoresan

Tujuan dari penggoresan adalah untuk menumbuhkan/membiakkan bakteri pada media MRSA. Prosedur dari penggoresan bakteri, permukaan laminar air flow dibersihkan dengan alkohol 70%. Secara aseptis, ditusuk atau inokulasikan organ-organ target tersebut dengan menggunakan jarum ose yang telah disterilkan, kemudian ambil jarum ose yang digoreskan ke organ target lalu digoreskan pada media agar TSA atau media selektif, Cawan Petri diletakkan dengan posisi terbalik dan diberi label keterangan, Cawan Petri diinkubasikan pada suhu 25–30 °C selama 36-48 jam.

#### Pemurnian Kultur Bakteri

Tujuan pemurnian kultur bakteri adalah untuk mendapatkan/memperoleh satu koloni bakteri yang sudah murni. Satu koloni bakteri diambil dengan ciri-ciri yang paling dominan yang berada di dalam goresan dari media yang telah

diinokulasikan dengan menggunakan jarum ose steril, diinokulasikan kembali pada media MRSA secara aseptik dengan cara menggores, cawan petri diletakkan dengan posisi terbalik dan diberi label keterangan, selama  $\pm$  24 jam diinkubasikan pada temperatur 25 – 30°C. Apabila setelah dilakukan pemurnian belum memperoleh koloni yang homogen (sama) dilakukan kembali pemurnian dengan langkah-langkah yang sama.

### Identifikasi Bakteri

Tujuan identifikasi bakteri adalah untuk dapat menganalisa koloni bakteri yang tumbuh dari hasil isolat. Isolat yang digunakan pada tahap analisa berumur 12 – 24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh dari hasil isolasi diamati dengan melihat karakteristik yang ada seperti bentuk koloni, produksi pigmen, motilitas dan toleransi terhadap kadar garam. Adapun tahapan identifikasi bakteri adalah uji fisiologis karakteristik morfologi bakteri, uji differensial, uji biokimia dan uji media gula-gula.

#### a. Uji Fisiologis karakteristik morfologi bakteri

Tujuan uji fisiologis karakteristik morfologi bakteri adalah mengetahui Gram dan bentuk bakteri melalui pewarnaan Gram dan pengamatan mikroskop. Gelas Obyek (*object glass*) yang telah disiapkan dibersihkan dengan alkohol 70% dan diberi label, satu tetes akuades diteteskan pada permukaan gelas obyek, isolat diambil dengan jarum Ose steril, campur akuades dan ulas merata pada permukaan gelas objek, difiksasikan dengan melewati preparat di atas api

(kurang lebih jarak 15 cm) beberapa kali sampai terlihat kering, larutan crystal violet diteteskan pada preparat sampai merata, dan diamkan selama satu menit. Preparat dicuci dengan air mengalir, larutan iodine lugol diteteskan pada preparat sampai merata, dan diamkan selama satu menit, preparat kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Larutan alkohol aseton diteteskan pada preparat sampai merata dan diamkan selama tiga puluh detik, preparat kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan, larutan safranin diteteskan pada preparat sampai merata dan diamkan selama dua menit. Preparat kemudian dicuci dengan air dan dikering-anginkan, preparat diamat menggunakan mikroskop. Bakteri Gram negatif ditandai dengan warna merah sedangkan bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu, bentuk bakteri bulat yaitu *Coccus* dan batang yaitu *Basil*.

#### Uji Differensial

Uji yang dilakukan untuk dapat membedakan sifat tertentu. Uji diferensial diantaranya adalah uji katalase.

#### Uji Katalase

Menggunakan reagen hidrogen peroksida ( $H_2O_2$  3%), hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena menginaktifasikan enzim dalam sel. Katalase merupakan enzim yang digunakan mikroorganisme untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Cara kerjanya adalah disediakan objek glass yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian ambil isolat murni bakteri

dengan menggunakan jarum ose yang sudah disterilkan dan diletakkan ke objek glass dan ditetesi dengan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, diamati perubahannya, jika terdapat gelembung maka bakteri tersebut positif mengandung enzim katalase, tetapi jika tidak terdapat gelembung maka bakteri dikatakan negatif, tidak menghasilkan enzim katalase.

#### B. Uji Biokimia (Cappuccino and Sherman, 2005)

Uji yang dilakukan untuk melihat ciri bakteri berdasarkan kelompok hidupnya dan melihat reaksi biokimia (ada tidaknya enzim pengurai di dalam bakteri). Adapun uji biokimia adalah uji citrat, uji indol, MRVP dan uji gula-gula.

##### Uji Indol

Uji Indol dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan indol dari asam amino triptophan, inokulum bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose steril, inokulasikan ke dalam media SIM dan MIO, inkubasikan ke dalam suhu 37°C selama 24-48 jam.

##### MR-VP

###### a. Uji MR

Pengamatan hasil uji positif, jika terjadi perubahan warna menjadi merah setelah ditambahkan methyl red. Artinya, bakteri ini menghasilkan asam campuran (metilen glikon) dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam medium MR-VP. Terbentuknya asam campuran pada media akan menurunkan pH sampai 5,0 atau kurang, oleh karena itu bila indikator metil ditambahkan pada biakan tersebut dengan pH serendah itu maka indikator tersebut menjadi merah. Hal ini menandakan bahwa bakteri ini peragi asam campuran.

b. Uji VP

Hasil uji (-) jika tidak terbentuk warna merah pada medium setelah ditambahkan  $\alpha$ -naphthol dan KOH, artinya hasil akhir fermentasi bakteri ini bukan asetil metil karbinol (asetolin).

Simmons Citrate

Pengujian citrat dilakukan untuk membedakan Enterobacteriaceae dan bakteri gram (-) tertentu berdasarkan penggunaan citrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Inokulum bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose steril. Inokulasikan ke dalam media SCA dengan cara tusukan dan goresan, inkubasikan ke dalam suhu 37°C selama 24 jam, perubahan warna diamati pada test tube slant (miring) dan tusukan (tegak).

Hasil uji sitrat negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna. Artinya bakteri ini tidak mempunyai enzim sitrat permiase yaitu enzim spesifik yang membawa sitrat ke dalam sel.

Uji gula-gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa dan Manitol)

Uji gula bertujuan untuk mendeterminasi kemampuan bakteri dalam mendegradasi gula dan menghasilkan asam organik yang berasal dari tiap-tiap jenis gula. Proses fermentasi gula-gula sejumlah besar asam (acid) dan beberapa bakteri akan menghasilkan gas yang dapat diamati dengan tabung Durham yang diletakkan pada media gula-gula. Media gula-gula merupakan media cair (liquid)

yang berwarna merah. Cara kerjanya adalah diambil isolat murni bakteri dengan ose steril kemudian diinokulasikan pada masing-masing media yaitu glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, sorbitol, manitol dan inositol dengan cara dicelupkan jarum ose hingga setengah bagian. Setelah selesai kemudian disimpan pada inkubator selama 24 jam. Setelah 24 jam amati perubahan warna, apabila bakteri pada masing-masing media tersebut mengalami perubahan warna menjadi kuning maka bakteri dikatakan positif dan jika tidak terjadi perubahan dikatakan negatif.

Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang mampu memfermentasikan karbohidrat. Pada uji gula-gula hanya terjadi perubahan warna pada media glukosa yang berubah menjadi warna kuning, artinya bakteri ini membentuk asam dari fermentasi glukosa. Pada media glukosa juga terbentuk gelembung pada tabung durham yang diletakan terbalik didalam tabung media, artinya hasil fermentasi berbentuk gas.

### **Tahap kedua Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)**

Sebelum dilakukan pengujian efektivitas filtrat *L.acidophilus* terhadap bakteri kontaminan yang berasal dari ikan tongkol (*Auxis rochei*), dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui nilai KHM filtrat *L.acidophilus*. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di laboratorium dengan menggunakan 2 strain bakteri kontaminan yaitu, *Bacillus sp.* dan, *S.aureus* serta berbagai konsentrasi filtrat asam laktat *Lactobacillus* yaitu, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% (C<sub>10</sub>, C<sub>20</sub>, C<sub>30</sub>, C<sub>40</sub>, C<sub>50</sub>, C<sub>60</sub>, C<sub>70</sub>, C<sub>80</sub>, C<sub>90</sub> dan C<sub>100</sub>). Pengamatan dilakukan secara deskriptif dengan melihat pertumbuhan bakteri patogen pada medium NA di dalam cawan petri.

### ***Prosedur Kerja***

#### **Pembuatan Filtrat Asam laktat *Lactobacillus* (Ogunbanwo et al, 2003)**

Sebanyak 1 mL suspensi bakteri *Lactobacillus* yang telah aktif ditanam pada 9 mL MRS *Broth* dan diinkubasi selama 18 jam. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit untuk memisahkan sel dengan filtratnya. Kemudian disaring dengan membran millipore ukuran 0,45 mikrometer.. Setelah filtrat didapatkan, selanjutnya dilakukan pembuatan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%. dipapar di bawah sinar UV selama 40 menit. Selanjutnya dilakukan pengujian KHM.

#### **Peremajaan Isolat Bakteri Patogen**

Peremajaan dilakukan pada medium BHI broth dan BHI agar yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

#### **Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)**

KHM dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minimal dan untuk menentukan konsentrasi Filtrat asam laktat *Lactobacillus* yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Untuk menentukan KHM dilakukan beberapa prosedur yaitu, bakteri patogen yang telah aktif diambil 1 ose dan di streak pada BHI *Agar* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi dikerok dan dimasukkan ke dalam NaCl Fisiologis 0,9% steril dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit untuk pengendapan sel bakteri. Hasil sentrifugasi dicuci dengan NaCl Fisiologis 0,9% steril sebanyak 2 kali dan disentrifugasi, setelah itu hasilnya disetarakan dengan kekeruhan *Mc Farland* 1 yaitu  $3 \times 10^8$  CFU/mL. Selanjutnya 1 mL suspensi bakteri patogen ditambahkan ke dalam 1 mL filtrat asam laktat *Lactobacillus* pada masing-masing konsentrasi kemudian diambil satu ose dan di strik pada medium NA yang telah beku dalam cawan petri steril. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan melihat pertumbuhan bakteri patogen pada medium NA di dalam cawan petri.

#### **4. Analisis Data**

Isolasi dan seleksi serta karakteristik isolat terseleksi dianalisis secara deskriptif. Setelah uji morfologi dan uji biokimia selesai maka dibuat tabel hasilnya sehingga mudah dalam pembacaan ciri-ciri bakteri. Referensi untuk pembacaan bakteri menggunakan buku "Manual of Determinative Bacteriology" (Williams and Wilkins, 1984). Untuk analisis KHM konsentrasi asam laktat 10,20,30,40,50,60,70,80,90 dan 100% terhadap bakteri patogen *Bacillus Sp* dan *Staphilococcus aureus* diamati jika ada pertumbuhan atau tidak pada cawan petri.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Isolasi bakteri asam laktat dari usus ikan bandeng yang dilakukan diperoleh 10 kultur isolat. Berdasarkan karakterisasi morfologi diketahui 7 isolat yaitu RS1, RS2, RS3, RS4, RS5, RS8 dan RS10) berbentuk kokus dan 3 isolat yaitu RS6, RS7 dan RS9 berbentuk batang. Identifikasi pewarnaan Gram menunjukkan seluruh isolat Gram positif. Warna kultur kuning keputihan berukuran 1 sampai 5 mm dan tanpa spora. Berdasarkan uji biokimia bahwa seluruh isolat tidak memproduksi catalase (katalase negatif). Sembilan isolat memfermentasi glukosa kecuali isolat RS8. Kesepuluh isolat tidak memfermentasi laktosa dan dapat tumbuh pada suhu 30-35<sup>0</sup>C. Data morfologi dan karakteristik isolat-isolat ditampilkan pada Tabel 1.

Berdasarkan karakteristik isolat bakteri asam laktat hasil isolasi dari usus ikan bandeng dilanjutkan penentuan identifikasi menggunakan Bergey manual. Hasil identifikasi diketahui bahwa isolat RS1,RS2,RS3,RS4,RS5,RS8 and RS10 adalah genus *Leuconostoc* dan isolat RS6, RS7 dan RS8 adalah genus *Lactobacillus*. Karakteristik genus isolat bakteri asam laktat ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Morfologi dan Karakteristik Fisiologi Isolat Bakteri Asam Laktat

Karakteristik	ISOLAT									
	RS1	RS2	RS3	RS4	RS5	RS6	RS7	RS8	RS9	RS10
Morfologi sel	Kokus	Kokus	Kokus	Kokus	Kokus	Batang	Batang	Kokus	Batang	Kokus
Pewarnaan Gram	G+	G+	G+	G+	G+	G+	G+	G+	G+	G+
Bentuk Spora	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morfologi Koloni	Putih kekuningan, 1 mm,	Putih kekuningan, 4 mm	Putih kekuningan, 1 mm,	Putih kekuningan, 5 mm	Putih kekuningan, 1 mm	Putih kekuningan, 5 mm	Putih kekuningan, 3 mm			
Katalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fermentasi Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Fermentasi Laktosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Suhu Pertumbuhan 30;35°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabel 2. Karakteristik Genus Isolat Bakteri Asam Laktat

Karakteristik	ISOLATE BAL	
	RS 1, RS 2, RS 3, RS 4, RS 5, RS 8, RS 10	RS 6, RS 7, RS 9
Morfologi Sel	Kokus	Batang
Pewarnaan Gram	+	+
Produksi Gas	+/-	+
Katalase	-	-
Tipe Fermentasi	Hetero/Homo	Hetero
GENUS	<i>Leconostoc</i>	<i>Lactobacillus</i>

Bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin, maka disebut *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan (Ray, 2004). BAL bermanfaat untuk peningkatan kualitas higiene dan keamanan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap mikroorganisme kontaminan berbahaya yang bersifat patogen sehingga BAL dapat berfungsi sebagai pengawet pangan.

*Lactobacillus* termasuk golongan bakteri asam laktat yang sering dijumpai pada makanan fermentasi, produk olahan ikan, daging, susu, dan buah-buahan (Napitupulu, dkk., 1997). Genus *Lactobacillus* mempunyai ciri-ciri: bakteri berbentuk batang/*rod*, Gram positif, dan uji katalase negatif. Sejauh ini telah diketahui bahwa keberadaan bakteri ini tidak bersifat patogen dan aman bagi kesehatan sehingga sering digunakan dalam industri pengawetan makanan, minuman dan berpotensi sebagai produk probiotik. Sifat yang menguntungkan dari bakteri *Lactobacillus* dalam bentuk probiotik adalah dapat digunakan untuk mendukung peningkatan kesehatan. Bakteri tersebut berperan sebagai flora normal dalam sistem pencernaan. Fungsinya adalah untuk menjaga keseimbangan asam dan basa sehingga pH dalam kolon konstan.

#### 4.2 Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Asam laktat terhadap Bakteri Patogen

Hasil penelitian KHM yaitu konsentrasi minimum asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen terdapat pada lampiran 4. Data KHM asam laktat *Lactobacillus* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Konsentrasi Hambat Minimum Asam Laktat terhadap Bakteri Patogen

Bakteri patogen	Ulangan	Konsentrasi (%)									
		10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
<i>Bacillus Sp.</i>	1x	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	2x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphilococcus aureus</i>	1x	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2x	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + ada pertumbuhan

\_ tidak terdapat pertumbuhan

Berdasarkan data di atas diketahui bahwa KHM asam laktat terhadap *Bacillus Sp.* adalah 80% dan 30% terhadap *Staphillus aureus*. Asam laktat merupakan metabolit utama yang dihasilkan oleh BAL dalam proses metabolisme karbohidrat. Metabolit ini bersifat antimikrobia terhadap pertumbuhan mikroorganisme sehingga berpotensi digunakan sebagai pengawet alami makanan. Mekanisme penghambatan terjadi karena asam laktat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus membran sel. Selain itu, asam laktat yang dihasilkan dalam fermentasi juga mampu menurunkan pH dan keadaan ini akan mengganggu aktivitas enzim sehingga sel tidak dapat melakukan aktivitas

metabolisme. Penggunaan asam laktat dengan konsentrasi sebesar 1 sampai 2 persen pada pH 5 dalam makanan, mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Pada pH dibawah 5, asam laktat yang dihasilkan efektif dalam mematikan jumlah populasi bakteri Gram negatif (Ray, 2004).

Menurut sifat-sifat khusus yang dimiliki, yaitu untuk meragikan glukosa menjadi laktat saja atau peragian lain dan karbondioksida maka laktobakteri dibagi menjadi 2 yaitu: peragian asam laktat homofermentatif dan peragian asam laktat heterofermentatif. Bakteri asam laktat homofermentatif membentuk murni laktat atau hampir 90 persen. Bakteri menguraikan glukosa melalui alur fruktosa difosfat, jadi memiliki juga enzim yang diperlukan, termasuk aldolase, dan memindahkan hidrogen yang terjadi pada dehidrogenasi gliseraldehid-3-fosfat pada piruvat, tergantung pada stereo enzim perantara spesifik yaitu laktat dehidrogenase dan tersedianya laktat rasemase, hanya sebagian kecil piruvat didekarboksilasi menjadi asetat, etanol, karbondioksida serta asetoin. Jumlah proporsi produk samping yang terbentuk tergantung pada oksigen yang masuk (Schlegel, 1994). Bakteri asam laktat heterofermentatif tidak mempunyai enzim-enzim utama dari alur fruktosadifosfat, yaitu aldolase dan triosafosfat isomerase. Penguraian glukosa dimulai melalui alur pentosa fosfat, sehingga glukosa-6-fosfat, 6-fosfoglukonat, dan ribulosa-5-fosfat, diubah oleh suatu epimerase menjadi xilulosa-5-fosfat. Tiamin pirofosfat dipecah oleh fosfoketolase menjadi gliseraldehidfosfat dan asetilfosfat.

## BAB VI

### RENCANA TAHAP BERIKUTNYA

Rencana Tahun ke-2

**1. Uji aktivitas antibakteri filtrat bakteri asam laktat dari usus ikan bandeng terhadap bakteri patogen (Ranjan *et al* 2012). Identifikasi species BAL yang potensial sebagai biopreservatif (Maniatis, Sambrook and Frietisch, 1989)**

Tahun kedua dilakukan secara eksperimen di laboratorium menggunakan RAL pola faktorial 4x4, faktor pertama adalah 4 strain bakteri patogen dan faktor kedua adalah 3 konsentrasi filtrat BAL dari ikan bandeng dan kontrol NaCl fisiologis. Penelitian dilakukan dengan 2 kali pengulangan.

Faktor pertama adalah bakteri patogen terdiri dari 2 jenis bakteri yaitu *Bacillus* sp, dan *Staphylococcus aureus*. Faktor kedua konsentrasi filtrat BAL 4 taraf yaitu (NaCl fisiologis steril sebagai kontrol serta 3 konsentrasi dari hasil KHM). Parameter yang diamati untuk uji aktivitas antibakteri yaitu diameter (mm) zona hambat yang terbentuk. Data kemudian dianalisis secara statistik dengan Analisis Varians (ANOVA) dilanjutkan dengan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) jika berbeda nyata.

**Rancangan Analisis Data (Steel dan Torrie, 1991)**

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \Sigma_{ijk}$$

Keterangan :

$Y_{ijk}$  = Nilai pengamatan pada satuan percobaan yang memperoleh kombinasi perlakuan pada taraf  $ij$  (taraf ke- $i$  dari jenis bakteri, taraf ke- $j$  dari konsentrasi filtrat dan ulangan ke  $k$ ).

$\mu$  = Nilai rata-rata umum

$\alpha_i$  = Pengaruh perlakuan  $\alpha$  (jenis bakteri pada taraf ke- $i$ )

$\beta_j$  = Pengaruh perlakuan  $\beta$  (konsentrasi filtrat filtrat BAL pada taraf ke- $j$ )

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Interaksi antara perlakuan  $\alpha$  taraf ke- $i$  dan perlakuan  $\beta$  pada taraf ke- $j$

$\Sigma_{ijk}$  = Pengaruh galat dari satuan percobaan yang memperoleh kombinasi perlakuan pada taraf  $ij$  dan ulangan ke- $k$ .

Model Matematis Uji Jarak Ganda Duncan's sebagai berikut:

$$s\hat{Y} = (S^2 / r)^{1/2}$$

Keterangan:

$s\hat{Y}$  = Galat baku dari nilai tengah perlakuan

$S^2$  = Kuadrat tengah galat

$r$  = Replikasi

2. Identifikasi species BAL menggunakan metode *Polimerase Chain Reaction*

(PCR) (**18S rRNA dan sequencing**) (Maniatis, Sambrook and Fritisch,1989).

## BAB VII

### KESIMPULAN dan SARAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan:

1. Genus *Leuconostoc* dan *Lactobacillus* adalah mikroflora normal bakteri asam laktat yang terdapat pada usus ikan bandeng asal Kabupaten Pohuwato. Genus dominan yaitu *Leuconostoc*.
2. Konsentrasi Hambat Minimum asam laktat *Lactobacillus* terhadap bakteri *Bacillus Sp.* adalah 80% dan 30% terhadap *Staphilococcus aureus*.

Mengingat keterlambatan realisasi anggaran maka saran pada pelaksanaan penelitian selanjutnya realisasi anggaran dapat tepat waktu.

## DAFTAR PUSTAKA

Anonimous.2013. Anatomi ikan.

[http://library.thinkquest.org/C0124402/data/html/2/2/anatomy\\_internal.htm](http://library.thinkquest.org/C0124402/data/html/2/2/anatomy_internal.htm) Diakses 23/4/3013

Balia, R.L. 2010. Penggunaan Biopreservatif Mikroorganisme Pada Produk Makanan Asal Ternak-Suatu Alternatif. *Mini - review*. Laboratorium Teknologi Hasil Ternak. Fakultas Peternakan Unpad. Bandung

Cappucino, J.G; Sherman, N. 2005. *Microbiology A Laboratory Manual*. New York.

Dali, A.F. 2010. Karakteristik *Bacillus* Sp. yang diisolasi dari rajungan (*portunus pelagicus*) segar dan produk kaleng di perusahaan X. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan* Vol 13 No.2 Thn 2010.

Dali, A.F. 2012. Skrining Bakteri Asam Laktat Sebagai Probiotik Potensial Diisolasi dari Bakasang. *Prosiding*, Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan III . Jakarta.

Duerden, B.I., I.M.S. Reid, and J.M. Jewsburg. 1993. *Microbial and Parasitic Infection*. Butler and Tanner Limited, Frome, Somerser, Great Britain.

Fardiaz. S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Penerbit Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Jebasingh, S.E.J and Marugan A. 2011. *Antagonis Activity of the Barnacle (Balanus Amphitrite) Associated Bacteria Against Human Bacterial Pathogen*. *Journal of Medical Sciences* 6 (1):36-41.2011.

Madigan, M.T., J.M. Martinko and J. Parker. 1997. *Brock Biology Of Microorganism*. 10<sup>th</sup> Edition. New Jersey: Prentice Hall International. 406-407.

Maniatis, T., Sambrook, J. and Fritisch, E.F. 1989. *Molecular Cloning A Laboratory Manual* 2<sup>nd</sup> ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press

Murtidjo, B.A. 2002. Bandeng. Karnisius. Yogyakarta.

- Napitupulu N.R., A. Kanti., T. Yulinery., R. Hardiningsih dan H. Julistiono. 1997. DNA plasmid *Lactobacillus* asal makanan fermentasi tradisional yang berpotensi dalam pengembangan sistem inang vektor untuk bioteknologi pangan. *Jurnal Mikrobiologi Tropis* 1: 91-96.
- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 2006. *Dasar-dasar Mikrobiologi* Jilid 1 . Penerjemah: Ratna Siri Hadioetomo : Penerbit UI Press. Jakarta. 117-119, 425, 433, 688, 696, 699,910 dan 917
- Ranjan, S., Dasgupta, N., Saha, P., Rakshit, M. and Ramalingam, C. 2012. Comparative study of antibacterial activity of garlic and cinnamon at different temperature and its application on preservation of fish. *Advances in Applied Science Research*. 3 (1):495-501.
- Ray, B. 2004. *Fundamental Food Microbiology*. 3<sup>rd</sup> Edition CRC Press, Boca Raton. New York. 225 – 238
- Schlegel, H. G. dan K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 315-318, 244.
- Steel, R.G.D., dan Torrie, J.H. 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Suatu Pendekatan Biometrik. PT Gramedia Pustaka. Jakarta.
- Sulistijowati, R. 2013. The Influence Culture Age and Soaking Time Range with Filtrate *L.acidophilus* toward The Number of Coliform bacteria in Swordfish stew. *Journal Agriculture*. *Journal Biology Agryculture and Healthcare* Vol 3 No.4.
- Sulistijowati, R. 2010. Pengaruh Umur Kultur dan Rentang Waktu Perendaman dengan Filtrat *L.acidophilus* terhadap Jumlah Bakteri Kontaminan dan *Coliform* Grup pada Rebusan Daging Ikan Tongkol. Seminar Nasional dan Pameran MPHPI. Bandung.
- Sulistijowati, R. 2011. Potensi Penghambatan Filtrat Bakteriosin *L.acidophilus* terhadap Bakteri Kontaminan dari Rebusan Daging Ikan Tongkol (*Auxis rochei*). *Prosiding. Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan III*. Jakarta.
- Sulistijowati, R. 2012. Kajian Mutu Mikrobiologis dan Kimiawi Sodabushi Ikan tongkol Menggunakan Biopreservatif *L.acidophilus* dan Difermentasi Oleh *A.oryzae*. Disertasi, UNPAD. Bandung.
- Sulistijowati, R., Nurhajati, J. and Amaliah I. 2010. The influence of giving various concentrations and method of inoculums *L.acidophilus* according to immersion time for total *E.coli* in

swordfish stew (*Auxis rochei*). *Proceeding The International Biotechnology for Enhancement the Tropical Biodiversity*. Bandung.

Supardi, I dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi Dalam Pengolahan Dan Keamanan Pangan*. Penerbit Alumni. Bandung.

Sutherland, P. S and Porritt, R.D. 1997. *Listeria monocytogenes*. Food Born microorganisms of Public health. 5<sup>st</sup> edition. AIFST.

Tortora, G.J.F., B.R. Case and C.L. Case. 1998. *Microbiology an Introduction*. California: Addison Wesley Longman, Inc. 532.

Wiiliams and Wilkins. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 1,2. Baltimore.

**Lampiran 1 Hasil Isolat Bal Usus Ikan Bandeng**



ISOLAT RS1 s/d RS 5



ISOLAT RS 6 s/d RS 10

**Lampiran 2 Hasil Uji IMVIC dan Katalase**



VOGES P



MRVP/Glukosa



INDOL/Tripton



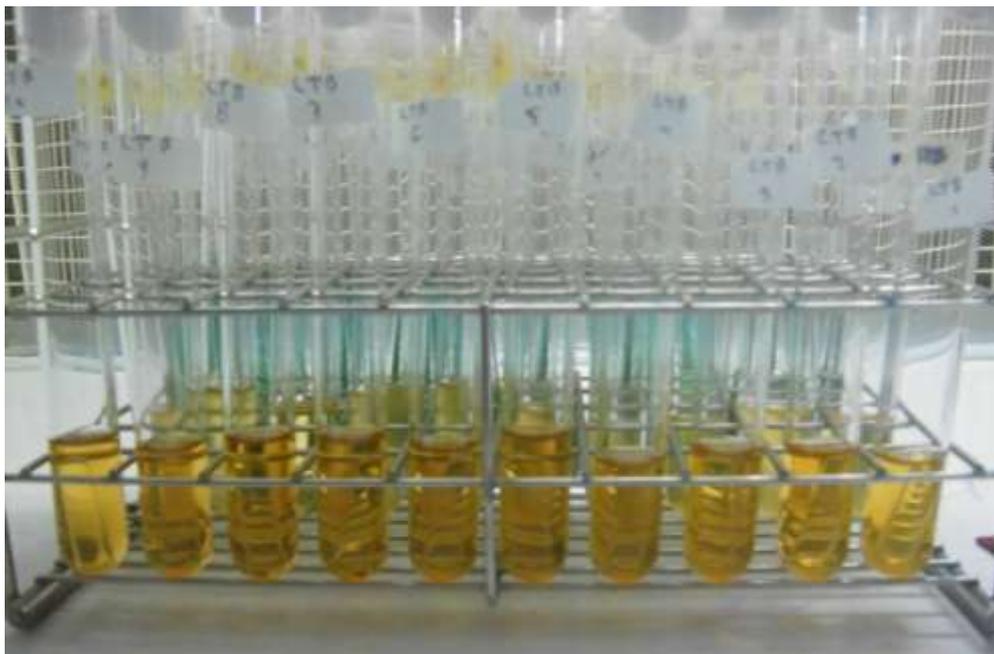
SIMON SITRAT



UJI METHIL RED



METHYL RED



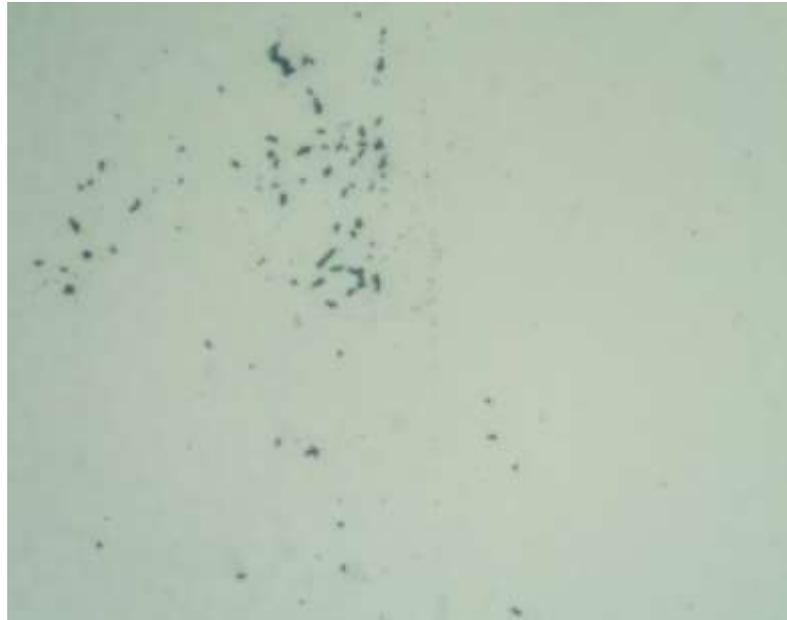
LTB



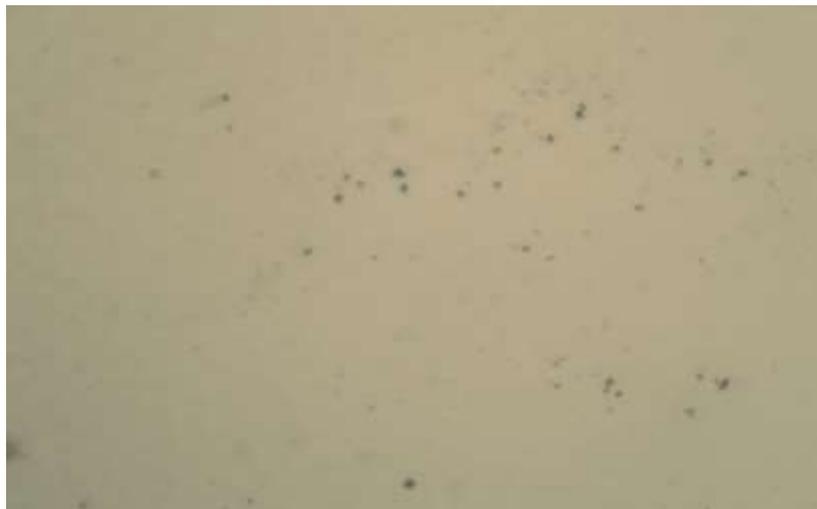
## KATALASE

**Lampiran 3. Hasil Pewarnaan Gram**

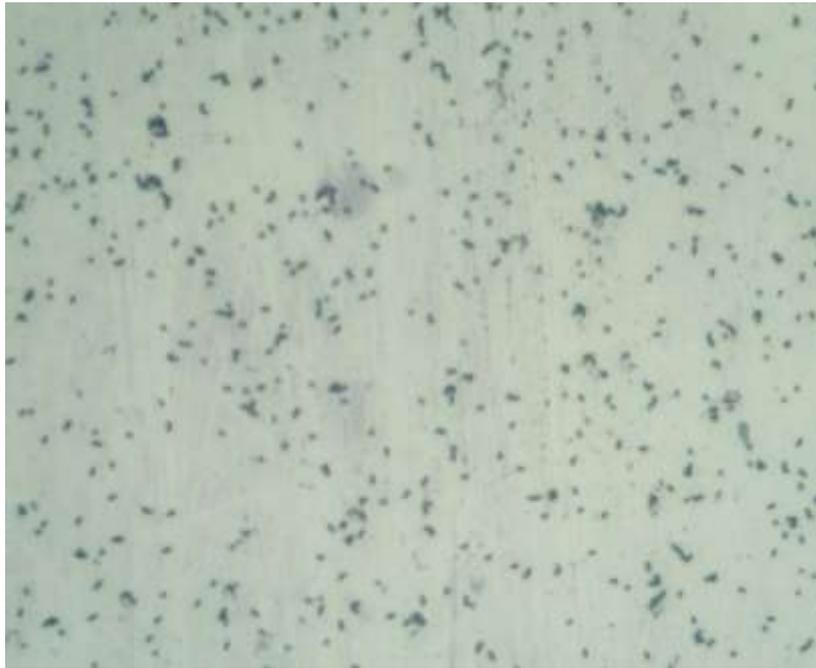
**HASIL PEWARNAAN GRAM DAN BENTUK BAL USUS IKAN BANDENG**



Isolat RS 1



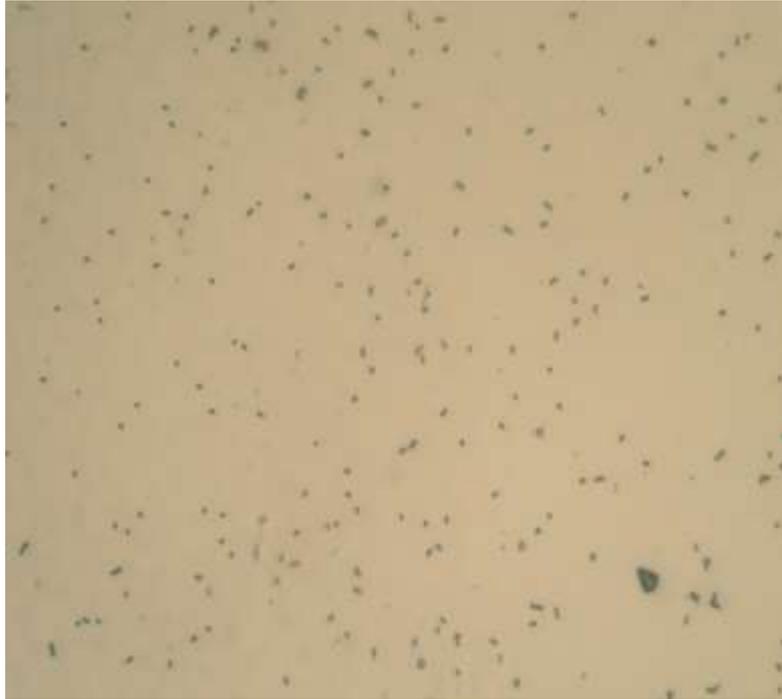
Isolat RS 2



ISOLAT RS 3



ISOLAT RS 4



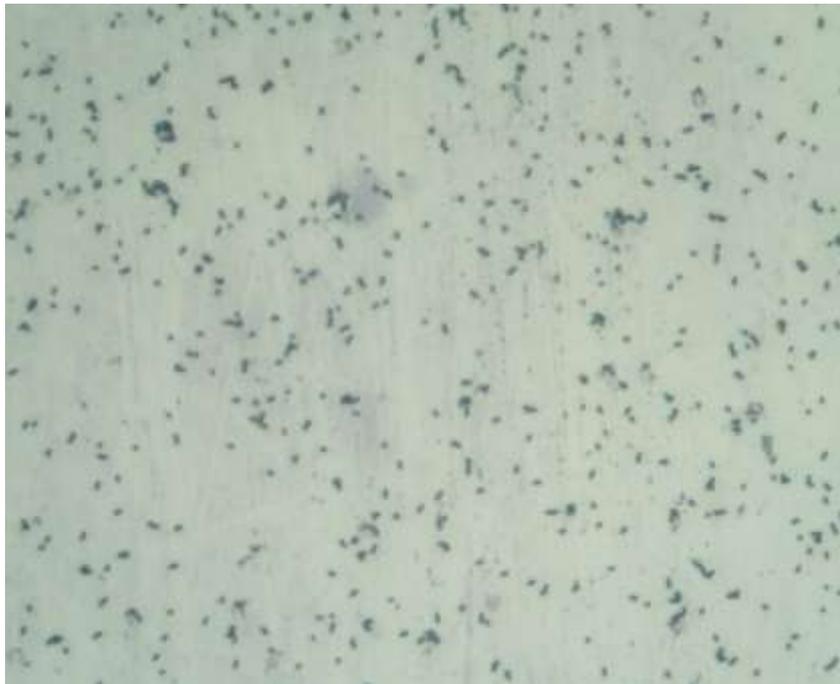
ISOLAT RS 5



ISOLAT RS 6



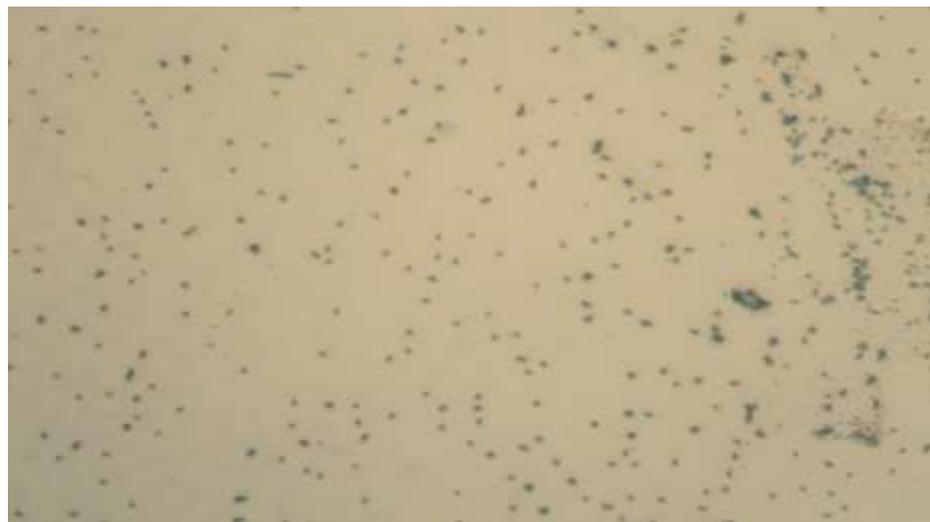
ISOLAT 7



ISOLAT RS 8



ISOLAT RS 9



Lampiran 4. Hasil Uji KHM



ulangan I

ulangan II

Filtrat Asam Laktat terhadap *Bacillus sp*



Ulangan I

Ulangan II

Filtrat Asam Laktat terhadap *Staphylococcus aureus*





KEPUTUSAN  
REKTOR UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO  
NOMOR : 217-b /UN47/2014

Tentang

**PENETAPAN PEMENANG PENELITIAN DESENTRALISASI BARU  
UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO TAHUN 2014**

**REKTOR UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO**

- Menimbang :
- bahwa kegiatan penelitian adalah salah satu unsur tridharma Perguruan Tinggi yang harus dijaga dan ditingkatkan mutunya demi penguatan kelembagaan Universitas Negeri Gorontalo;
  - bahwa penguatan kelembagaan merupakan salah satu hal penting dalam menjamin peningkatan mutu;
  - bahwa untuk kepentingan pengembangan mutu dan kualitas penelitian, maka perlu dilakukan upaya mengembangkan minat meneliti bagi dosen di lingkungan Universitas Negeri Gorontalo;
  - bahwa berkenaan dengan diktum "c" di atas perlu ditetapkannya pemenang atas penelitian Desentralisasi Baru Tahun Anggaran 2014;
  - Dosen pemenang merupakan hasil mutlak dari unsur penilaian yang dilaksanakan oleh tim reviewer pada Ditlitabmas Dikti Kemdikbud;
  - bahwa mereka yang nama-namanya tersebut dalam lampiran surat keputusan ini dipandang mampu untuk melaksanakan hal dimaksud.
- Mengingat :
- Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional;
  - UU No. 14 tahun 2005 tentang Guru dan Dosen;
  - PP No. 19 Tahun 2005 tentang Standar Pendidikan Nasional;
  - PP No, 68 tahun 2010 tentang perubahan atas PP No. 17 tahun 2010
  - Kepres No. 54 tahun 2004 tentang perubahan status IKIP Gorontalo Menjadi Universitas Negeri Gorontalo;
  - Peraturan Pemerintah Nomor 60 Tahun 1999 tentang Pendidikan Tinggi;
  - Keputusan Presiden RI Nomor 110/M Tahun 2010 tentang Pengangkatan Rektor Universitas Negeri Gorontalo;
  - Keputusan Menteri Pendidikan Nasional Nomor 10 Tahun 2005 tentang Organisasi dan Tata Kerja (OTK) Universitas Negeri Gorontalo;
  - Keputusan Menteri Pendidikan Nasional RI Nomor 18 Tahun 2006 tentang Statuta Universitas Negeri Gorontalo;
  - Kepmenkeu No. 131/KMK.05/2009 tentang penetapan Universitas Negeri Gorontalo pada Departemen Pendidikan Nasional sebagai instansi pemerintah yang menerapkan pengelolaan keuangan Badan Layanan Umum (PK-BLU).
  - Daftar Isian Pengguna Anggaran (DIPA) Universitas Negeri Gorontalo Nomor : 023-04.2.415196/2014 tanggal 05 Desember 2013.

**MEMUTUSKAN**

- Menetapkan  
Pertama : Penetapan Pemenang Penelitian Desentralisasi Baru Universitas Negeri Gorontalo tahun 2014 yang nama-namanya sebagaimana tercantum dalam lampiran Surat Keputusan ini.
- Kedua : Para dosen peneliti melakukan penelitian dan bertanggung jawab penuh secara teknis, sistematika dan administratif kegiatan penelitian yang dilaksanakan dengan mengacu pada ketentuan penelitian edisi IX Dikti yang mengatur secara rinci pelaksanaan penelitian serta mematuhi segala bentuk aturan pada perjanjian yang telah disepakati dalam Surat Perjanjian Penelitian yang telah disepakati.
- Ketiga : Biaya yang timbul akibat pelaksanaan Surat Keputusan ini dibebankan pada anggaran yang tersedia dalam DIPA Universitas Negeri Gorontalo tahun 2014.
- Keempat : Surat Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan dengan ketentuan bilamana dikemudian hari terdapat kekeliruan akan diperbaiki sebagaimana mestinya serta diberikan kepada yang bersangkutan untuk dilaksanakan dengan penuh rasa tanggung jawab.

DITETAPKAN DI : GORONTALO  
PADA TANGGAL : 4 Maret 2014  
REKTOR, 



Dr. Syamsu Qamar Badu, M.Pd  
NIP : 19600603 198603 1 003

- Tembusan Yth. :
1. Para Pembantu Rektor Universitas Negeri Gorontalo
  2. Para Dekan di lingkungan Universitas Negeri Gorontalo
  3. Kepala KPPN Gorontalo
  4. Bendahara Pengeluaran Universitas Negeri Gorontalo

Lampiran : Surat Keputusan Rektor Universitas Negeri Gorontalo  
 Nomor : 211-b/UN47/2014  
 Tanggal : 4 Maret 2014  
 Tentang : **PENETAPAN PEMENANG PENELITIAN DESENTRALISASI BARU UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO TAHUN 2014**

NO	NAMA DOSEN	JUDUL PENELITIAN	SKIM	BIAYA
1	Prof. Dr. Ansar, M.Si Prof. Dr. Abd. Kadim Masaong, M.Pd Dr. Asrin, M.Pd	Sinergitas Kecerdasan Intelektual, Kecerdasan Emosional dan Kecerdasan Spiritual dalam Pengembangan Kultur Akademik dan Pengelolaan Konflik Mahasiswa Universitas Negeri Gorontalo	Tim Pasca Sarjana	Rp 30,000,000
2	Prof. Dr. Hamzah B. Uno, M.Pd Dr. Lilan Dama, M.Pd Dr. Rustam I. Husain, M.Pd	Pengembangan Perangkat Pembelajaran Terinternalisasi Karakter Untuk Meningkatkan Hasil Belajar Matematika	Tim Pasca Sarjana	Rp 30,000,000
3	Akram La Kilo, S.Pd, M.Si La Alico, S.Pd, M.Si	Penentuan Hantaran Jenis Ion Tertinggi pada BIMEVOX (ME = Sb5+, Nb5+): Simulasi Komputasi melalui Metode Atomistik dan Dinamika Molekul	Fundamental	Rp 30,000,000
4	Dr. Rieny Sulistjowati, M.Si Faiza A. Dali, M.Si	Aktivitas Antagonis Bakteri Asam Laktat (BAL) Hasil Isolasi Dari Ikan Bandeng ( <i>Chanos chanos</i> ) Terhadap Bakteri Patogen	Fundamental	Rp 30,000,000
5	Drs. Mardjan Papatungan, M.Si Rakhmawaty Ahmad Asul, M.Si	Pembuatan Katalis Modifikasi Pt/Batu Apung Untuk Mendukung Reaksi Konversi 3-Metil-1-butanol	Fundamental	Rp 30,000,000
6	Dr. Yuszda K. Salimi, M.Si Dr. Nurhayati Bialangi, M.Si	Kajian Senyawa Antioksidan dan Antiinflamasi Tanaman Obat Binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) Asal Gorontalo	Fundamental	Rp 30,000,000
7	Prof. Dr. Yulianto Kadji, M.Si Prof. Dr. Asna Aneta, M.Si Roy Hasiru, S.Pd, M.Pd	Pemetaan Dampak Implementasi Kebijakan Pendidikan Bersubsidi Di Kota Gorontalo	Fundamental	Rp 30,000,000
8	Dr. Abdul Hafidz Oli, M.Si Muhlis, S.Pi, M.Sc Mohamad Sayuti Djau, S.IK, M.Si	Ekosistem dan organisme yang berasosiasi di perairan kwandang Kabupaten Gorontalo Utara	Fundamental	Rp 30,000,000
9	Drs. Ismail Djakaria, M.Si Nurwan, S.Pd, M.Si	Principal Component Analysis Pada Klasifikasi Obyek Multivariat	Fundamental	Rp 30,000,000
10	Dr. Sastro Mustapa Wantu, M.Si Dr. Udin Hamim, M.Si	Fenomena Representative Bureaucracy Dalam Rekrutmen Pejabat Birokrasi Pemerintahan Sebagai Pilar Memperkuat Integrasi Nasional di Provinsi Gorontalo	Fundamental	Rp 30,000,000
11	Karmila Machmud, S.Pd, MA, Ph.D Nonny Basalama, MA, Ph.D	21st Century Teaching and Learning: The Perspectives Toward The Implementation of Technology in English as A Foreign Language (EFL) Curriculum	Hibah Bersaing	Rp 30,000,000
12	Dr. Mohamad Karmin Baruadi, M.Hum Herman Didipu, S.Pd, M.Pd	Pengembangan Perangkat Pembelajaran Mulok Bahasa Gorontalo Berbasis Kearifan Lokal Untuk Sekolah Dasar	Hibah Bersaing	Rp 30,000,000

NO	NAMA DOSEN	JUDUL PENELITIAN	SKIM	BIAYA
37	Muh. Kasim, ST, MT Ahmad Zainuri, S.Pd, MT Nurbaka, S.Si, M.Sc Prof.Dr. rer.nat. Ir. A. M. Imran (mitra) Dr. Ulva Ria Inan, ST, MT (mitra)	Model Mineralisasi Sroki Wobudu dengan Pendekatan Metode Geologi dan Petrogenesis di Gorontalo	Pekerti	Rp 45,000,000
			Total	Rp 1,125,000,000


  
**REKTOR**

Dr. Syamsu Qamar Badu, M.Pd  
 NIP. 196006031986031003