

Kode>Nama Rumpun Ilmu:234/Pengolahan Hasil Perikanan

**LAPORAN AKHIR**

**PENELITIAN FUNDAMENTAL**



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

**Tahun Ke 2 dari 2 Tahun**

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

**UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO**

**OKTOBER 2015**

## LEMBAR PENGESAHAN

### HALAMAN PENGESAHAN

Judul : 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  
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Gorontalo  
NIDN : 0009107103  
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan  
Nomor HP : 081340152103  
Alamat surel (e-mail) : rinysulistijowati@gmail.com

**Anggota (1)**


Nama Lengkap : LUKMAN MILE S.Pi, M.Si  
NIDN : 0004128206  
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Gorontalo  
Institusi Mitra (jika ada) : -  
Nama Institusi Mitra : -  
Alamat : -  
Penanggung Jawab : -  
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun  
Biaya Tahun Berjalan : Rp 67.500.000,00  
Biaya Keseluruhan : Rp 100.065.000,00

Mengetahui,  
Dekan FPIK



(Dr. Abd. Hafidz Oliy, M.Si)  
NIP/NIK 197308102001121001

Gorontalo, 4 - 11 - 2015  
Ketua,



(Dr RIENY SULISTIOWATI S S.Pi, M.Si)  
NIP/NIK 197110092005012001

Menyetujui,  
Ketua Lembaga Penelitian



(Prof. Dr. ABD. KADIM MASAONG, M.Pd)  
NIP/NIK 196111141987031002

## RINGKASAN

Saat ini banyak bakteri patogen yang telah resisten terhadap antibiotik yang beredar di pasaran akibat penggunaan pengawet kimia untuk pangan semakin tinggi. Sehingga diperlukan antibiotik baru yang resisten terhadap bakteri patogen. Tujuan umum yang akan dicapai adalah pertama diperoleh konsentrasi filtrate asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Bacillus cereus*, *Staphilococcus aureus*, *Salmonella paratyphy* dan *Escherichia coli*. Kedua teridentifikasi isolat bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai antibiotik baru hasil isolasi dari usus ikan bandeng. Hasil tersebut diharapkan pada masa yang akan datang dapat digunakan sebagai pengembangan bioteknologi antibiotik baru untuk biopreservatif pada pengolahan hasil perikanan. Lokasi penelitian tahun kedua (2015) dilaksanakan di LPPMHP Propinsi Gorontalo dan LIPI Biotek Cibinong Jakarta. Metode penelitian yang digunakan untuk uji efektivitas filtrate asam laktat BAL yaitu eksperimen metode RAL faktorial 4 x 9, untuk identifikasi isolat menggunakan metode *Polimerase Chain Sistem (PCR)*. Berdasarkan hasil penelitian tahap pertama diperoleh konsentrasi filtrat asam laktat 50 sampai 100% menghambat bakteri patogen. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh isolat BAL adalah *Lactobacillus acidophilus ATTC4796*.

Kata kunci: Efektivitas, filtrat asam laktat, *Lactobacillus*, bakteri patogen, ikan bandeng.

## **PRAKATA**

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas kemurahanNya penelitian tahun kedua hibah fundamental telah dilaksanakan. Pada tahun kedua ini tujuan penelitian untuk mengetahui efektivitas filtrat asam laktat dari Bakteri Asal Lktat (BAL) hasil isolasi dari usus ikan bandeng terhadap bakteri patogen dan mengetahui species bakteri tersebut.

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 kelancapan penelitian serta ketiga kepada LPPMHP Prop.Gorontalo dan BIOTEK Cibinong yang banyak membantu sarana laboratorium yang diperlukan.

Penulis

## DAFTAR ISI

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
BAB III TUJUAN dan MANFAAT PENELITIAN.....	15
3.1 Tujuan Penelitian.....	15
3.2 Manfaat Penelitian.....	15
BAB IV METODE PENELITIAN .....	16
3.1 Waktu dan Tempat .....	16
3.2 Bahan dan Alat .....	16
BAB IV HASIL YANG DICAPAI .....	24
BAB VI KESIMPULAN dan SARAN.....	34
DAFTAR PUSTAKA.....	35
LAMPIRAN .....	37

## DAFTAR TABEL

<i>No.</i>	<i>Teks</i>	<i>Halaman</i>
1	Pengaruh Konsentrasi Filtrat Asam Laktat terhadap Rata-Rata Diameter Zona Hambat Patogen .....	26

## DAFTAR GAMBAR

<i>Teks</i>	<i>Halaman</i>
Gambar 1. Ikan Bandeng.....	4
Gambar 2. Internal Anatomi Ikan.....	5
Gambar 3. Diagram Metode Penelitian .....	23
Gambar 4. Grafik Pengaruh Konsentrasi Filtrat Asam terhadap Rata-Rata Hambat Bakteri Patogen.....	Diameter Zona 24
Gambar 5. Hasil Amplikasi DNA Genom Isolat BAL.....	28
Gambar 6 . Diagram Pohon Kekerabatan <i>L.acidophilus</i> .....	33

## DAFTAR LAMPIRAN

*Teks*

*Halaman*

Lampiran 1. Foto Kegiatan Penelitian..... 37

Lampiran 2. Personalia Tenaga Peneliti..... 43

.



## **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 jurnal internasional serta 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).

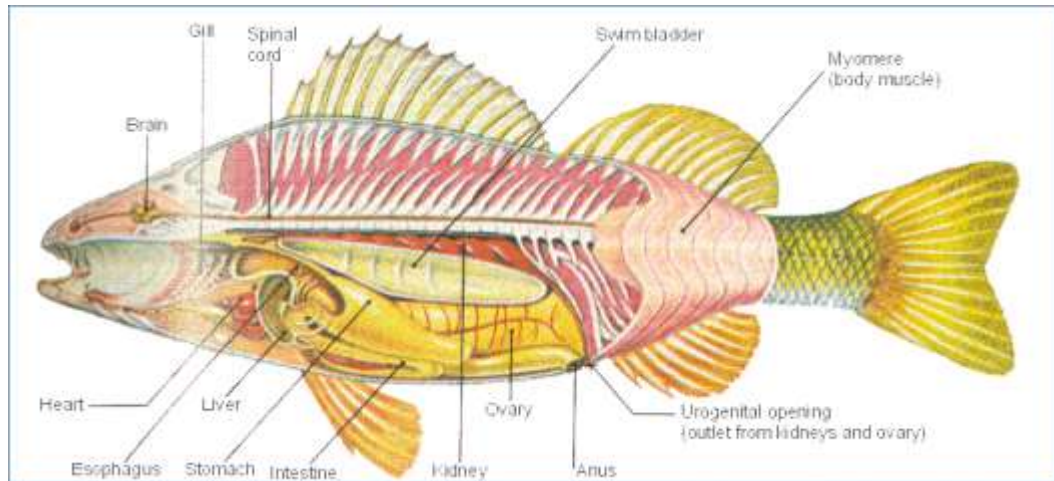
Klasifikasi ikan bandeng adalah sebagai berikut:

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 Sukanto (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 Sukanto 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.

### ***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 stapilokokus 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 *Propionicbacterium* 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*.

#### 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 tahun perta yang telah diperoleh adalah telah diisolasi 10 jenis bakteri asam laktat dari usus ikan bandeng.

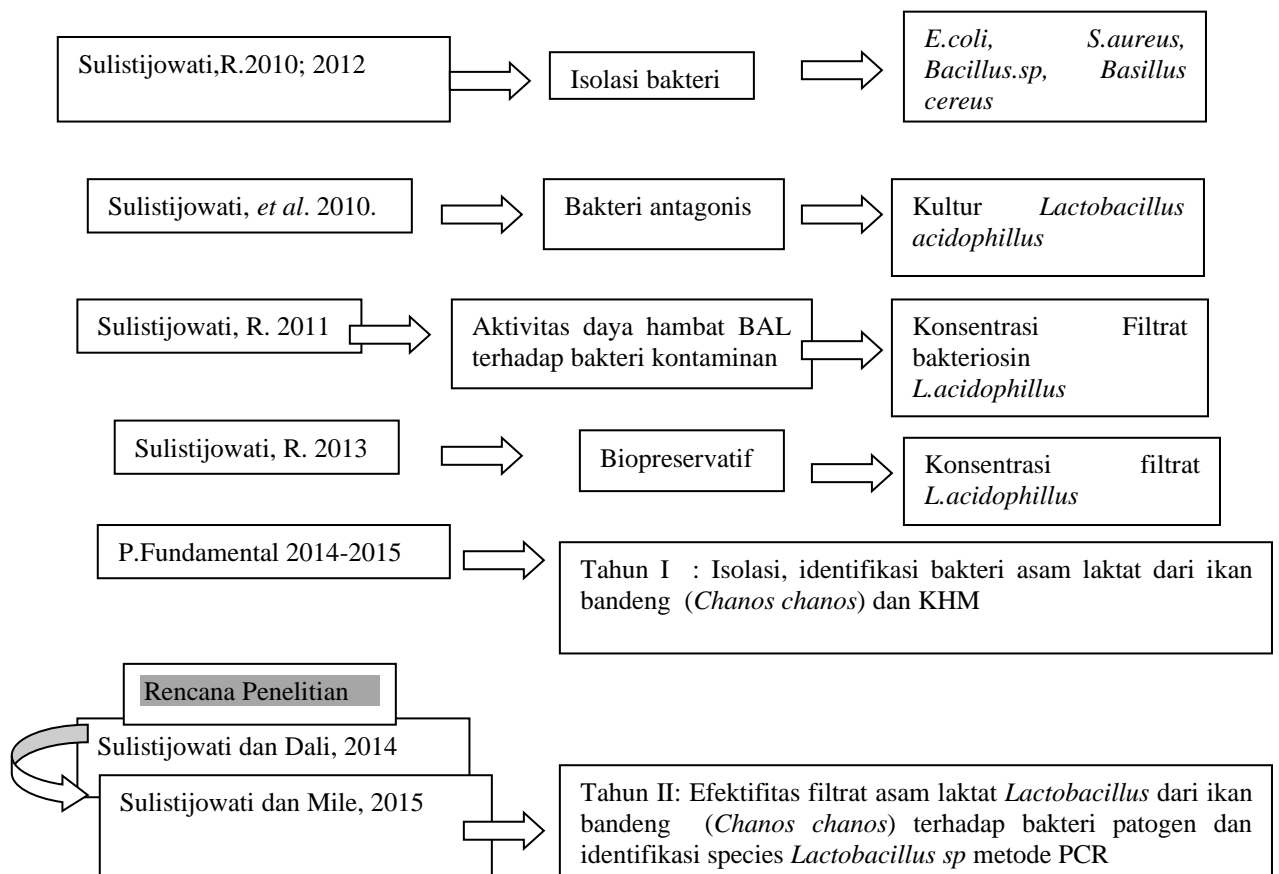
### 2.5 Metode Polimerase Chain Reaction

Reaksi berantai polimerase (*Polimerase Chain Reaction*, PCR) adalah suatu metode enzimatik untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuens nukleotida tertentu dengan cara *in vitro*. Metode ini pertama kali dikembangkan pada tahun 1985 oleh Kary B. Mullis, seorang peneliti di perusahaan *CETUS Corporation*. Metode PCR sangat sensitif dan dapat digunakan untuk melipatgandakan satu molekul DNA (Yuwono, 2006).

Selanjutnya dijelaskan bahwa empat komponen utama pada proses PCR adalah (1) DNA cetakan yaitu fragmen DNA yang akan dilipatgandakan, (2) Olinukletida *primer* , yaitu suatu sekuen oligonukleotida pendek (15-25 basa nukleotida) yang digunakan untuk mengawali sintesis utas DNA, (3) deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), terdiri atas dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dan (4) enzim DNA polimerase. Reaksi pelipatgandaan suatu fragmen DNA dimulai dengan melakukan denaturasi DNA *template* (cetakan) sehingga utas DNA ganda (*double stranded*) akan terpisah menjadi utas tunggal (*single stranded*). Denaturasi DNA dilakukan dengan menggunakan panas ( $95^{\circ}\text{C}$ ) selama 1-2 menit, kemudian suhu diturunkan menjadi  $55^{\circ}\text{C}$  sehingga *primer* akan menempel (*annealing*) pada cetakan yang telah terpisah menjadi utas tunggal. *Primer* akan membentuk jembatan hidrogen dengan cetakan pada daerah sekuen yang komplementer dengan sekuen *primer*. *Primer* yang digunakan dalam PCR ada dua yaitu oligonukleotida yang mempunyai sekuen yang identik dengan salah satu utas DNA cetakan pada ujung 5'-fosfat, dan oligonukleotida yang kedua identik dengan sekuen pada ujung 3'-OH utas DNA cetakan yang lain. Proses *annealing* biasanya dilakukan pada suhu  $55^{\circ}\text{C}$  selama 1-2 menit. Setelah dilakukan *annealing* oligonukleotida primer dengan DNA cetakan, suhu inkubasi dinaikkan menjadi  $72^{\circ}\text{C}$  selama 1,5 menit. Pada suhu ini DNA polimerase akan melakukan proses polimerasi rantai DNA yang baru berdasarkan informasi yang ada pada DNA cetakan. Setelah terjadi polimerasi, utas DNA yang baru akan membentuk jembatan hidrogen dengan DNA cetakan. DNA utas ganda yang terbentuk dengan

adanya ikatan hidrogen antara utas DNA cetakan dengan utas DNA baru hasil polimerasi selanjutnya akan didenaturasi lagi dengan menaikkan suhu menjadi 95<sup>0</sup>C. Utas DNA yang baru tersebut selanjutnya akan berfungsi sebagai cetakan bagi reaksi polimerasi berikutnya. Reaksi-reaksi tersebut diulangi sampai 25-30 kali (siklus) sehingga pada akhir siklus akan didapatkan molekul-molekul DNA utas ganda yang baru hasil polimerasi dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan yang digunakan.

Roadmap penelitian adalah sebagai berikut:.



## **BAB III**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **3.1 Tujuan Penelitian**

Tujuan Penelitian tahap kedua adalah untuk mengetahui efektivitas asam laktat hasil isolasi daribakteri asam laktat usus ikan bandeng terhadap bakteri patogen dan mengidentifikasi species isolat tersebut dengan metode Polimerase Chain Reaction (PCR).

#### **3.2 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian tahap kedua adalah diperoleh informasi efektivitas asam laktat hasil isolasi daribakteri asam laktat usus ikan bandeng terhadap bakteri patogen dan diperoleh species isolat tersebut melalui metode PCR.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Pelaksanaan penelitian direncanakan tahun 2015. Regenerasi *Lactobacillus* dan bakteri patogen serta Uji efektivitas filtrat asam laktat *Lactobacillus* terhadap bakteri patogen dilaksanakan di Laboratorium Pembinaan dan Pengujian Hasil Perikanan (LPPMHP) Propinsi Gorontalo. Identifikasi isolat metode PCR dilaksanakan di LIPI Cibinong.

#### 3.2 Bahan dan Alat

##### 1. Bahan

Penelitian ini menggunakan Isolat bakteri *Lactobacillus* hasil isolasi dari ikan bandeng. Bakteri patogen diperoleh dari Lab. Kesehatan dan isolat-isolat bakteri asam laktat dari usus ikan bandeng. Medium *deMan Rogosa Sharp* (MRS) *Broth*, *Nutrient Agar* (NA), NaCl fisiologis, akuades, plastik, kapas, kertas label, kertas lakmus, kertas antibiotik, *Nutrient Broth* (NB), *Brain Heart Infusion* (BHI) *Agar*, bulyon gula tebu, *Mueller Hinton* (MH) *Agar*, *Bismuth Sulfite Agar* (BSA), *Bullion* gula tebu, antibiotik, alkohol 95 persen, spritus, alkohol 70%, reagen PCR: *deoxyribonucleotide triphosphate* (dNTP) mix, larutan *buffer*, LA Taq, *primer* 1141R dan 765R, dH<sub>2</sub>O, *Big Dye Terminator*, gel agarosa, *buffer* TAE (1x) Merck 106023), DF *buffer* (Merck.71340), *wash buffer*,



*lotion buffer*, SyBr *safe*, EDTA (Merck.324503), natrium asetat (Merck. 106268), etanol (Merck.104025), alkohol 70% (Merck.117946).

## **2. Alat**

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, ose, inkubator (*Memmert*), *autoclaf* (*HL 36 Ae*), *spektrofotometer* (*U-2800 Hitachi*), *termohyrometer*, *pH-meter* (*Cyberscan 510 pc*), *sentrifugator*, *oven* (*Memmert*), tabung sentrifugasi, 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, peralatan analisis PCR: mesin PCR *Thermal cycler* Takara, mesin elektroforesis, *UV Transluminator Gel Doc Sys*-*Vilber Loumart*, alat sekuensing *ABI 3130 XL Genetic Analyzer*

## **3. Metode Penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dan eksperimental di laboratorium. Penelitian terdiri dari tahapan sebagai berikut:

### **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

### **Uji aktivitas antibakteri filtrat bakteri asam laktat dari usus ikan bandeng terhadap bakteri patogen (Ranjan *et al* 2012).**

Tahun kedua dilakukan secara eksperimen di laboratorium menggunakan RAL pola faktorial 4x9, faktor pertama adalah 4 strain bakteri patogen dan faktor kedua adalah 9 konsentrasi filtrat BAL dari ikan bandeng dan kontrol NaCl fisiologis. Penelitian dilakukan dengan 2 kali pengulangan.

Faktor pertama adalah bakteri patogen terdiri dari 4 jenis bakteri yaitu *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphi* dan *Escherichia coli*.

Faktor kedua konsentrasi filtrat BAL 9 taraf yaitu (NaCl fisiologis steril sebagai kontrol serta 8 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 *Lactobacillus* sp. menggunakan metode Polimerase Chain reaction / PCR (Maniatis, et al 1989)

Prosedur kerja PCR untuk identifikasi species *Lactobacillus* sp terdiri dari 7 langkah yaitu:

### 1. Isolasi DNA Genom Total menggunakan PrepMan Ultra Reagen

Sampel dimasukkan ke dalam *tube* ditambahkan 20  $\mu$ l PrepMan Ultra kemudian dihomogen menggunakan *vortex* selama 10-30 detik. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 100<sup>0</sup>C selama 10 menit pada *digital heatblock*, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 16000 x g selama 3 menit. Supernatan sebanyak 12  $\mu$ L dipindahkan ke dalam tube 1,5 mL dan disimpan pada suhu 4<sup>0</sup>C.

### 2. Amplifikasi DNA

DNA genom total yang telah diperoleh dari hasil isolasi diamplifikasi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *Thermal cyclers* pada daerah *Internal Transcribe Spacer* (ITS). DNA gen total tersebut dijadikan sebagai *template* dan ditambahkan dengan pereaksi-peraksi lain dengan komposisi sebagai berikut: 25 mM MgCl<sub>2</sub> 5  $\mu$ L, 2,5  $\mu$ M dNTP mix 4  $\mu$ L, 10 X buffer free Mg<sup>2+</sup> sebanyak 5  $\mu$ L, LA Tag 0,25  $\mu$ L, *template* 1  $\mu$ L, 10  $\mu$ M primer 1141R (urutan basanya 5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG

G- 3') 2  $\mu$ L, 10  $\mu$ M primer 765 R (urutan basanya 5'- TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') 2  $\mu$ L dan dH<sub>2</sub>O 30,75  $\mu$ L. Volume total campuran reaksi 50  $\mu$ L, selanjutnya dimasukkan dalam mesin PCR dengan program : Pemanasan awal 94<sup>0</sup>C selama 3 menit, denaturasi pada suhu 94<sup>0</sup>C selama 30 detik, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 55<sup>0</sup>C selama 20 detik, pemanjangan DNA pada suhu 72<sup>0</sup>C selama 1 menit. Setelah 30 siklus PCR dibiarkan pada suhu 72<sup>0</sup>C selama 7 menit kemudian suhu diturunkan sampai 4<sup>0</sup>C.

### 3. Elektroforesis

Pembuatan gel agarosa 1% ; 0,25 g agarosa dilarutkan dalam 25 mL buffer TAE (1x) kemudian dipanaskan sampai agarosa larut. Didinginkan sampai suhu 45<sup>0</sup>C ditambahkan 0,25  $\mu$ L SyBr *safe* lalu dituang ke dalam cetakan dan didiamkan sampai gel mengeras.

Elektroforesis; Produk PCR selanjutnya diperiksa dengan elektroforesis. Elektroforesis ini dilakukan dalam buffer TAE (1x). Sebanyak 50  $\mu$ L produk PCR dan 6x *loading dye* 10  $\mu$ L dihomogenkan dengan cara memipet secara berulang 2-3 kali dan selanjutnya dipipet dan dimasukkan ke dalam sumur gel. *Loading dye* berfungsi untuk meningkatkan densitas sampel sehingga tidak keluar dari sumur dan sampel menjadi berwarna yang dapat memudahkan pengamatan saat proses migrasi berlangsung. Dimasukkan juga ke dalam sumur gel yang lain sebagai pembanding (*marker*) 4 $\mu$ L 1 Kb DNA Ladder fermentas *GeneRuler DNA ladder Mix* untuk mempermudah dalam penentuan ukuran DNA. Elektroforesis dijalankan pada tegangan 100 Volt selama 25 menit, selanjutnya gel hasil elektroforesis dicek di atas UV *transluminator* dan difoto untuk dokumentasi. Kemudian pita DNA yang muncul pada 600 pasang basa dipotong untuk masuk tahap purifikasi.

#### 4. Purifikasi Gel Elektroforesis dengan GeneAid Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit.

Potongan gel ditambahkan *DF buffer* sebanyak 300  $\mu\text{L}$ , diinkubasi pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit pada *heat block* hingga gel larut kemudian *dispindown* lalu dimasukkan ke dalam *filter column* dan disentrifugasi pada 13000 x g selama 1 menit. Kemudian supernatan dibuang, lalu ditambahkan 600  $\mu\text{L}$  *wash buffer* ke dalam *filter column* lalu disentrifugasi pada 13000 x g selama 1 menit, buang supernatan dan sentrifugasi dalam keadaan kolom kosong untuk menghilangkan sisa *wash buffer* pada 13000 x g selama 3 menit kemudian pindahkan *filter column* ke dalam *ependorf* baru dan ditambahkan larutan *lotion buffer* sebanyak 40  $\mu\text{L}$  lalu diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang. Setelah itu disentrifugasi pada 13000 x g selama 2 menit. Buang *filter column*. Simpan supernatan pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$ .

#### 5. PCR Cycle sequencing

PCR *Cycle Sequencing* dilakukan menggunakan satu *primer*, yaitu 1141R dan 765R. Dalam PCR tube dimasukkan 2  $\mu\text{L}$  *Big Dye Terminator*, 5x buffer sekuensing 4  $\mu\text{L}$ , 1,6 pmol/ $\mu\text{L}$  *primer 1141R* sebanyak 4  $\mu\text{L}$ , *template DNA* 6  $\mu\text{L}$ , dan  $\text{dH}_2\text{O}$  4  $\mu\text{L}$ . Volume campuran reaksi 20  $\mu\text{L}$ , selanjutnya dimasukkan dalam mesin PCR dengan program: Pemanasan awal  $96^{\circ}\text{C}$  selama 10 detik, penempelan *primer (annealing)* pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 5 detik, pemanjangan DNA pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 4 menit. Setelah 25 siklus PCR kemudian suhu diturunkan sampai  $4^{\circ}\text{C}$ . Selanjutnya dilakukan hal yang sama pada primer 765R

#### 6. Purifikasi Cycle Sequencing

Sebanyak 20  $\mu\text{L}$  sampel hasil *cycle sequencing* ditambahkan ekuivalen  $\text{ddH}_2\text{O}$  (20  $\mu\text{L}$ ), kemudian dipindahkan ke tube 1,5 mL. Selanjutnya ditambahkan 4  $\mu\text{L}$  EDTA, 4  $\mu\text{L}$  natrium asetat, dan 100  $\mu\text{L}$  etanol absolut, diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit dalam keadaan tertutup dengan

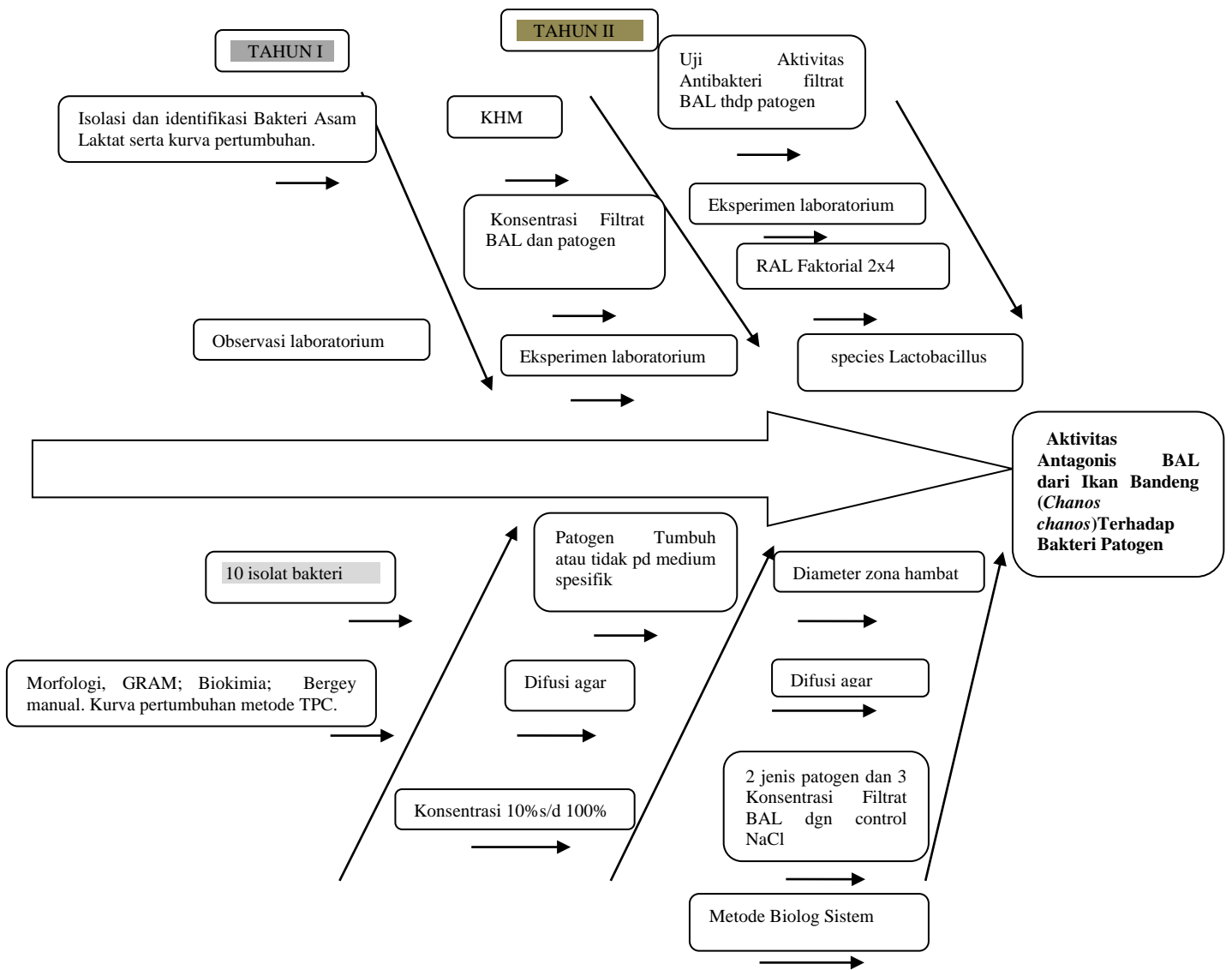
*aluminium foil*. Kemudian disentrifugasi pada 5000 x g selama 30 menit, lalu supernatan dibuang dan ditambahkan 140 µL alkohol 70% dan dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 3000 x g selama 15 menit. Selanjutnya supernatan dibuang, *spindown* dan dikeringkan dengan tisu, lalu divakum menggunakan desikator selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 16 µL dH<sub>2</sub>O, lalu di *spindown*. Terakhir dipanaskan menggunakan *heat block* pada suhu 52°C selama 10 menit. Sampel siap disekuensing.

#### 7. Sekuensing dan analisis *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST)

DNA hasil purifikasi *Cycle Sequencing* kemudian disekuensing menggunakan alat sekuensing ABI 3130 XL *Genetic analyzer* untuk menentukan urutan nukleotida dari fragmen DNA tersebut. Pada sekuensing ini terjadi perpanjangan atau ekstensi utas DNA yang dimulai pada situs spesifik pada DNA cetakan dengan menggunakan oligonukleotida pendek yang disebut *primer*. *Primer* yang digunakan yaitu 1141R sebagai *forward* dan 765 sebagai *reverse*. Sekuensing berjalan selama 1 jam. Selanjutnya urutan DNA hasil sekuensing dilakukan *assembly*, yaitu penggabungan basa dari pembacaan dua arah (*forward* dan *reverse*). Selanjutnya urutan DNA yang telah di *assembly* tersebut dikopi ke program *notepad* dalam bentuk FASTA untuk keperluan Analisis *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Analisis ini dilakukan menggunakan program situs: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> dengan mengkopi urutan DNA yang akan di BLAST, kemudian *paste* ke kolom tempat urutan DNA di *window* BLAST kemudian dilayar monitor muncul *window* hasil BLAST yang berisi diagram *similarity sequens* yang kita masukkan dengan sekuens yang ada di *gene bank*. Untuk mengetahui kekerabatan dari jamur yang diidentifikasi, dipilih sekuens yang memiliki prosentase kemiripan (*Query*) yang tinggi, kemudian data sekuens disimpan pada *notepad* dalam bentuk FASTA. Analisa data sekuens menggunakan program *CLUSTAL-X* dan *GeneDoc* untuk mengedit sekuens. Hasil analisa akan didapatkan dalam bentuk pohon kekerabatan (*phylogenetic tree*) yang dapat dibuka dengan program *Tree*

View. Dari pohon kekerabatan tersebut dapat diketahui spesies dan strain dari jamur yang diidentifikasi.

Diagram metode penelitian terlihat pada Gambar 3.



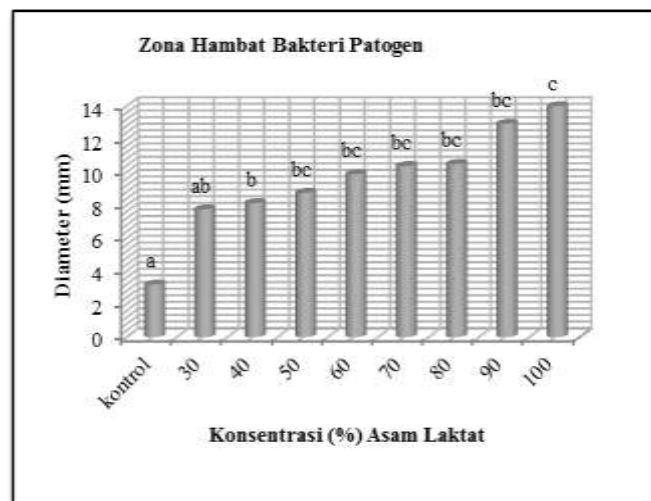
Gambar 3. Diagram Metode Penelitian

## BAB IV

### HASIL YANG DICAPAI

#### 4.1 Hasil Uji Efektivitas Filtrat Asam Laktat terhadap Bakteri Patogen

Efektivitas filtrat asam laktat terhadap bakteri patogen dapat dilihat pada Gambar 4. Pada Lampiran tersebut terlihat bahwa konsentrasi filtrat asam laktat 30 sampai 100 persen menghasilkan zona hambat pada setiap bakteri patogen.



Gambar 4. Grafik Pengaruh Konsentrasi Filtrat Asam terhadap Rata-Rata Diameter Zona Hambat Bakteri Patogen

Untuk menguji pengaruh konsentrasi filtrat asam laktat kultur terhadap bakteri patogen maka dilakukan analisis variansi. Berdasarkan hasil uji ANAVA menunjukkan bahwa konsentrasi filtrat asam laktat memberikan pengaruh sangat nyata terhadap diameter zona hambat bakteri patogen *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* dan *Salmonella paratyphi*. Hal ini berarti bahwa peningkatan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dengan pemberian berbagai konsentrasi filtrat asam laktat berbeda untuk setiap perlakuan. Untuk mengetahui kelompok perlakuan




sama atau berbeda dilakukan uji jarak berganda Duncan. Hasil uji jarak berganda Duncan tercantum pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil uji jarak berganda Duncan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa filtrat asam laktat konsentrasi 50 persen (diameter 8.75 mm) sampai 100 persen (diameter 14 mm) mampu memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen *B.cereus*, *S.aureus*, *S.paratyphi* dan *E.coli*. Filtrat *Lactobacillus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*, bahkan filtrat yang sudah disimpan selama 6 bulan memiliki kemampuan yang sama. *Lactobacillus* juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain yang merugikan atau patogen (Tagg *et al*, 1976; Chassy, 1987 dalam Hardiningsih dkk, 2005). Beberapa substansi antimikrobia yang dihasilkan bakteri probiotik, diantaranya adalah *L. acidophilus* menghasilkan acidotin, acidophilin, bacteriocin, lactocidin; *L.bulgaricus* (bulgarican), *L. plantarum* (lactolin), *L. brevis* (lactobullin, lactobrevin), dan *L. reuteri* (rauterin).

Tabel 1 Pengaruh Konsentrasi Filtrat Asam Laktat terhadap Rata-Rata Diameter Zona Hambat Patogen

Konsentrasi (%)	Diameter(mm)
<b>Kontrol</b>	3.19 a
<b>30</b>	7.75 ab
<b>40</b>	8.13 b
<b>50</b>	8.75 bc
<b>60</b>	9.88 bc
<b>70</b>	10.38 bc
<b>80</b>	10.5 bc
<b>90</b>	12.94 bc
<b>100</b>	14 c

Keterangan: Huruf yang sama secara vertikal menunjukkan tidak ada perbedaan pada derajat kepercayaan 99 %

 Perlakuan yang memberikan pengaruh yang sama pada derajat kepercayaan 99 %

Hasil penelitian Yusof et al, (1993), penggunaan asam laktat *Lactobacillus plantarum* konsentrasi 96% pada makanan fermentasi berbasis beras dapat menghambat pertumbuhan *E.coli*. 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, 2006).

Filtrat *Lactobacillus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*, bahkan filtrat yang sudah disimpan selama 6 bulan memiliki kemampuan yang sama. *Lactobacillus*

juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain yang merugikan atau patogen (Tagg *et al*, 1976; Chassy, 1987 dalam Hardiningsih dkk, 2005).

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 (Ray, 2004).

#### **4.2 Hasil Identifikasi Species BAL dengan Metode PCR dan Sequencing**

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri isolat BAL hasil isolasi dari usus ikan bandeng, memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri patogen. Untuk mengetahui spesies dan strain isolat tersebut, maka dilakukan identifikasi menggunakan metode PCR 18S rRNA dan *Sequencing*. Metode meliputi isolasi DNA, amplifikasi DNA menggunakan PCR, visualisasi DNA hasil amplifikasi secara elektroforesis.

##### **4.2.1 Isolasi DNA**

DNA genom total telah berhasil diisolasi dari isolat BAL yang memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri patogen. Isolasi DNA genom total menggunakan PrepMan Ultra Reagen.

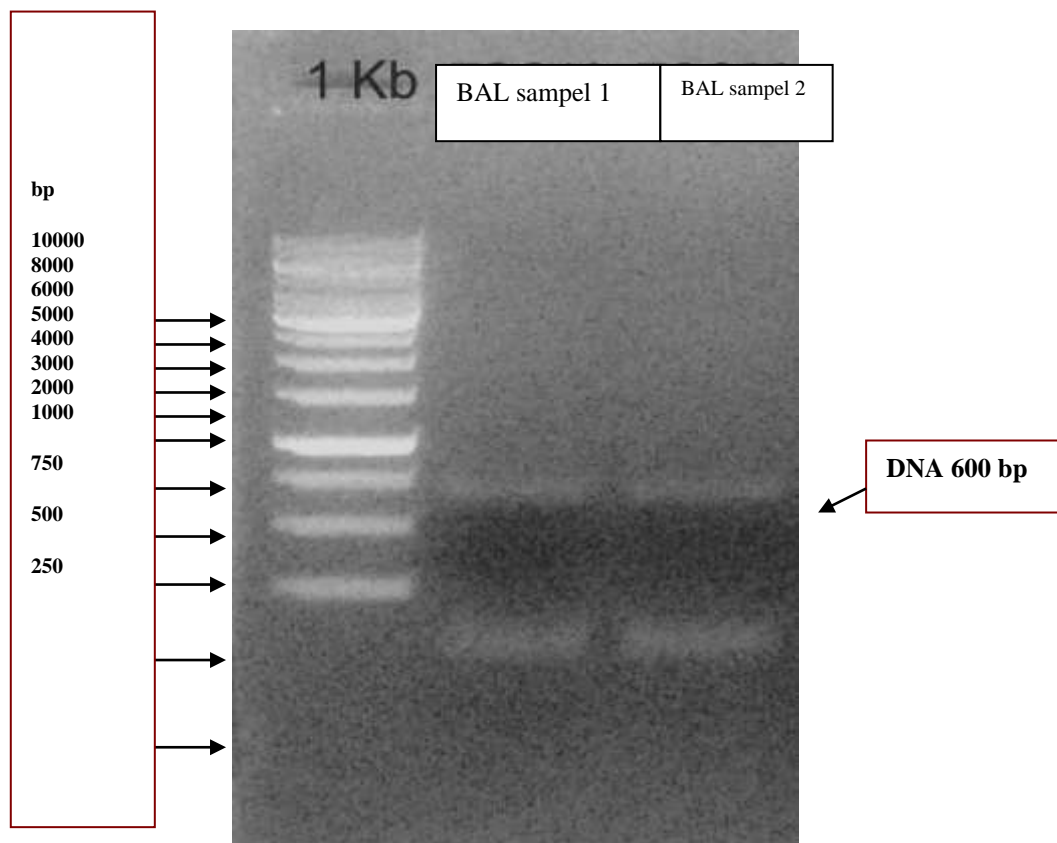
##### **4.2.2 Amplifikasi DNA**

DNA genom total isolat BAL diamplifikasi dengan teknik *Polimerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan *PCR Thermal Cycler*. Proses

amplifikasi DNA terdiri dari tiga tahapan yaitu denaturasi DNA, penempelan *primer* pada DNA cetakan dan ekstensi atau pemanjangan primer dengan bantuan enzim DNA polimerase. Amplifikasi DNA isolat BAL menggunakan pasangan *primer* 1141R dan 765R menghasilkan fragmen DNA yang sangat jelas dengan ukuran sekitar 600 *bp*.

#### 4.2.3 Elektroforesis

Hasil amplifikasi DNA menggunakan *primer* 1141R dan 765R menghasilkan fragmen DNA yang sangat jelas dengan ukuran sekitar 600 *bp* (Gambar 4) diperiksa dengan elektroforesis yang merupakan salah satu teknik utama dalam biologi molekuler.



Gambar 5. Hasil Amplifikasi DNA Genom Isolat BAL

Elektroforesis ini dilakukan menggunakan gel agarosa 1%. Gel agarosa tersebut mempunyai efektivitas pemisahan molekul DNA yang berukuran antara 0,4-7 kb (Maniatis *et al*, 1989). Pita-pita DNA di dalam gel agarosa terwarnai karena membentuk jembatan dengan zat warna SyBr *safe*. SyBr *safe* merupakan pewarna fluoresensi yang berinteraksi diantara basa-basa DNA sehingga saat disinari UV, DNA akan ikut berpendar. Gel hasil elektroforesis tersebut dapat dilihat di atas UV transluminator GelDoc Sys-Vilber Loumart panjang gelombang 302-365 nm.

#### 4.2.4 Purifikasi

Purifikasi DNA hasil PCR dilakukan dengan pereaksi-pereaksi dari produk *GeneAid* yaitu *DF buffer*, *wash buffer*, dan *elution buffer* yang berfungsi untuk mengelusi DNA dalam *filter column*. DNA yang telah dipurifikasi dijadikan *template* dalam *cycle sequencing*.

#### **Cycle Sequencing dan Purifikasi**

*Cycle Sequencing* dilakukan menggunakan 1 buah primer, yaitu 1141R dan 765R. *Big dye* digunakan sebagai penanda karena *Big Dye* bersifat *fluorescent* yang dapat menimbulkan warna pada basa-basa DNA (T,A,C,G) saat disinari dengan laser pada alat sekuensing. Pada tahap ini dilakukan berturut-turut penempelan *primer*, ekstensi oleh DNA polimerase dan denaturasi (peleburan atau *melting*) utas-utas DNA cetakan secara berulang sebanyak 25 siklus. Setiap tahap pada *cycle sequencing* ini ditempuh dengan mengubah temperatur reaksi

menggunakan PCR *Thermal Cycler* Takara. Cara tersebut didasarkan pada fakta bahwa dua utas DNA yang komplementer akan saling menempel (berhibridisasi) pada temperatur rendah dan berpisah (terdenaturasi) pada temperatur tinggi. Penambahan EDTA pada berfungsi sebagai penstabil reaksi serta pembentuk kompleks. Natrium asetat untuk mengendapkan DNA dan penyempurnaan pengendapan DNA, ditambahkan etanol absolut. Dalam inkubasi, sampel ditutup dengan *aluminium foil* karena sampel bersifat *fluorescent* akibat penambahan *Big Dye* pada saat *cycle sequencing*. Alkohol 70% untuk mencuci DNA dan dH<sub>2</sub>O untuk melarutkan DNA dengan bantuan pemanasan pada suhu 52<sup>0</sup>C selama 10 menit menggunakan *heat block*.

#### **4.2.5 Sekuensing dan Analisis *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST).**

DNA hasil *Cycle Sequencing* dijalankan pada alat sekuensing ABI 3130 XL *Genetic analyzer* untuk menentukan urutan nukleotida dari fragmen DNA. Pada sekuensing ini terjadi perpanjangan atau ekstensi utas DNA yang dimulai pada situs spesifik pada DNA cetakan dengan menggunakan *primer* 1141R sebagai *forward* dan 765R sebagai *reverse*. Sekuensing berjalan selama satu jam. Berikut ini adalah hasil *assembly*, yaitu pembacaan dari dua arah (*forward* dan *reverse*) urutan DNA dari isolat-isolat BAL ( 597 bp) yang memiliki aktivitas antibakteri

- **Sequen isolat BAL**

```
>Lactobacillus acidophilus 30 SC
```

CCTGCCCCATAGTCTGGGATACCACTTGAAACAGGTGCTAATACCGGATAAGA  
AAGCAGATCGCATGATCAGCTTATAAAAGGCGGCGTAAGCTGTCGCTATGGNNT  
GGCCCCGCGATTGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAAGTCGAGCGAGCTGAACCAAC  
AGATTCACTTCGGTGATGACGTTGGGAACGCGAGCGGCGGATGGGTGAGTAACA  
CGTGGGGAACCTGCCCCATAGTCTGGGATACCACTTGAAACAGGTGCTAATAC  
CGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTATAAAAGGCGGCGTAAGCTGTCG  
CTATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAACGGCCTACCAA  
GGCAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGGGACTGAGAC  
ACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAA  
AGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTC  
TGTTGTTGGTGAAGAAGGATAGAGGTAGTAACCTGGCCTTTATTTGACGGTAATC  
AACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGG  
CAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGAAGAATAAGT  
CTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAACTGCATCGGAAACTGTTTTTCT  
TGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATA  
TATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAG  
GCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGCAATGGACAGTACAACGAGGAGCAAGCC  
TGCGAAGGCAAGCGAATCTCTTAAAGCTGTTCTCAGTTCGGACTGCAGTCTGCA  
ACTCGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGT  
GAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTCTGCAA  
TGCCCAAAGCCGGTGGCCTATGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAA  
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCATTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACT  
CTAATGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAT  
CATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGTACAACGAGG  
AGCAAGCCTGCGAAGGCAAGCGAATCTCTTAAAGCTGTTCTCAGTTCGGACTGC

AGTCTGCAACTCGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAC  
GCCGC

>Lactobacillus acidophilus ATCC 4796

AAAAACGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATAC  
ATGCAAGTCGAGCGAGCTGAACCAACAGATTCACTTCGGTGATGACGTTGGGAA  
CGCGAGCGGCGGATGGGTGAGTAACACGTGGGGAACCTGCCCCATAGTCTGGGA  
TACCACTTGAAACAGGTGCTAATACCGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAG  
CTTATAAAAGGCGGCGTAAGCTGTCGCTATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGC  
TAGTTGGTAGGGTAACGGCCTACCAAGGCAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGA  
CTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCA  
GTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTG  
AAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTGGTGAAGAAGGATAGAGGTAG  
TAACTGGCCTTTATTTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGC  
CAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGATTTATTGGGCGTA  
AAGCGAGCGCAGGCGGAAGAATAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGA  
GAACTGCATCGGAAACTGTTTTTCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAACTCC  
ATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGG  
CTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGAT  
TAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTGGGAGGTT  
TCCGCTCTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGA  
CCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCA  
TGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCTAGTG  
CAATCCGTAGAGATACGGAGTTCCTTTCGGGGACACTAAGACAGGTGGTGCATG  
GCTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAA  
CCCTTGTCATTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTAATGAGACTGCCGGTG  
ACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGACCTG



```
GGCTACACACGTGCTACAATGGACAGTACAACGAGGAGCAAGCCTGCGAAGGCA
AGCGAATCTCTTAAAGCTGTTCTCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGC
ACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTT
CCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTCTGCAATGCCCAAAGC
CGGTGGCCTAACCTTCGGGAAGGAGCCGTCTAAGGCAGGGCAGATGACTGGGGT
GAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCCTGCGGCTGGATCACCTCCTTTCT
AAGGAAGCGAAGGATATGGAGAGTAGAAATACTAAGAGAAGTATCCAGAGCAAG
CGGAAGCACACTAAGAACTTTGTTTAGTTTTGAGGGTAGTACCTC
```

Urutan DNA yang telah dikopi ke program *notepad* dalam bentuk FASTA digunakan untuk keperluan analisis (BLAST) menggunakan program pada situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> , Kekerabatan dari jamur yang diidentifikasi, dipilih dari sekuens yang memiliki prosentase kemiripan yang tinggi > 90% dan dalam program *Tree view* diperoleh pohon kekerabatan (*filogenetic tree*), akhirnya diketahui spesies dan strain dari bakteri tersebut.

Berikut ini adalah diagram pohon kekerabatan dari isolat BAL yaitu *Lactobacillus acidophilus* ATTC 4796 .

Gambar 6 . Diagram Pohon Kekerabatan *L.acidophilus*

Berdasarkan diagram pohon kekerabatan tersebut diketahui bahwa isolat BAL mempunyai kemiripan >98% dengan bakteri spesies *Lactobacillus acidophilus* ATTC4796.

Taksonomi *Lactobacillus acidophilus* sbb:

Kingdom : Bacteria  
Divisio : Firmicutes  
Classis : Bacilli  
Ordo : Lactobacillales  
Familia : Lactobacillaceae  
Genus : *Lactobacillus*  
Species : *Lactobacillus acidophilus* (Moro 1900)  
Strain : ATTC 4796

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN dan SARAN**

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan:

1. Pada hasil uji efektivitas dengan menggunakan asam laktat yang dihasilkan isolate BAL. terhadap bakteri patogen, berbagai konsentrasi

filtrat asam laktat yaitu konsentrasi 50 sampai 100 persen mampu membentuk diameter zona hambat pertumbuhan bakteri patogen. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut efektif menghambat bakteri patogen (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratiph* dan *E.coli* ).

2. Hasil identifikasi isolate BAL menggunakan metode PCR diperoleh species *Lactobacillus acidophilus* ATTC4796

## 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 Mikroorganismes 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.
- Duerden, B.I., I.M.S. Reid, and J.M. Jewsbury. 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.
- Hardiningsih,R., Rostiati, R.N.N.,dan Titin, Y.2005. Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah" Pusat Penelitian Biologi-LIPI. Bogor. *Jurnal Biodiversitas* 7(1): 15-17.
- 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.
- Murtidjo, B.A. 2002. Bandeng. Karnisius. Yogyakarta.
- 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.
- 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.acidophillus* 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

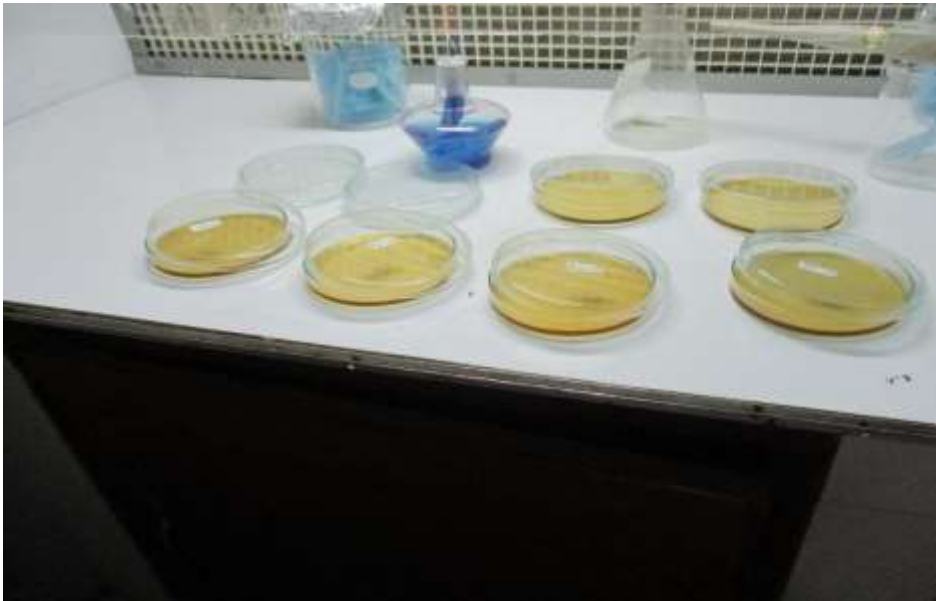
Kontaminan dan *Coliform* Grup pada Rebusan Daging Ikan Tongkol. Seminar Nasional dan Pameran MPHPI. Bandung.

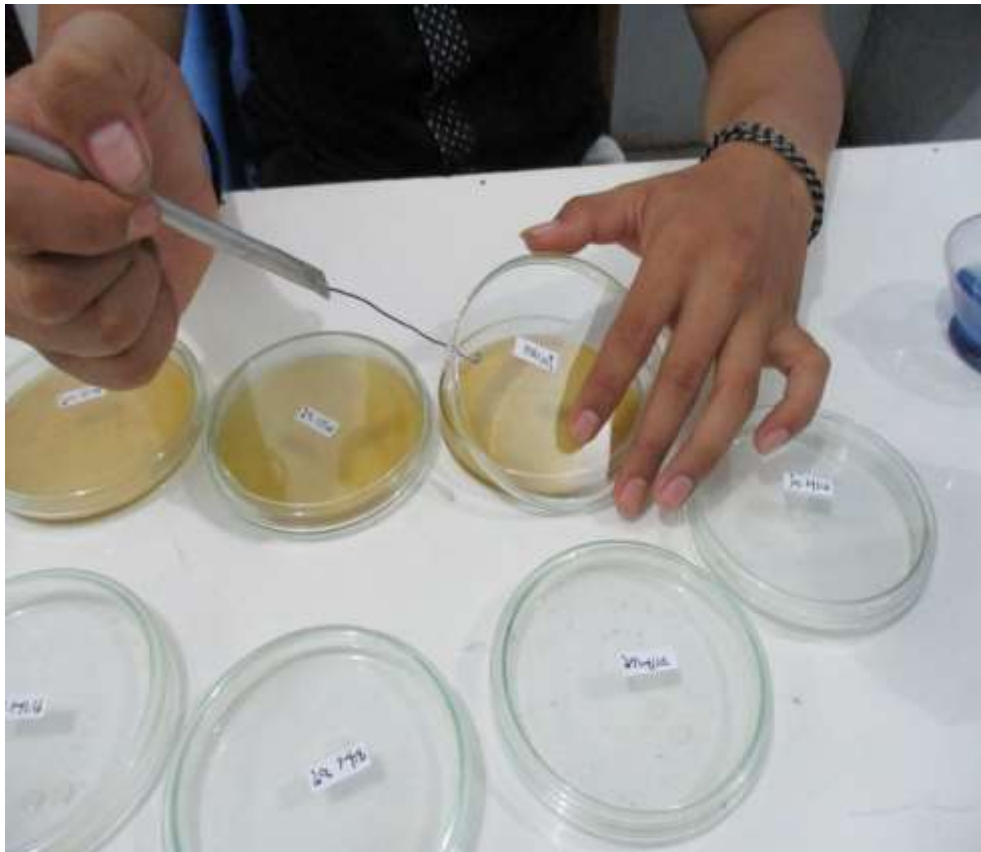
- Sulistijowati, R. 2011. Potensi Penghambatan Filtrat Bakteriosin *L.acidophilus* terhadap Bakteri Kontaminan dari Rebusan Daging Ikan Tongkol (*Auxis rochei*). *Prosiding. Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan III*. Jakarta.
- Sulistijowati, R. 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.
- Yusof, J.R.M., J.B. Morgan dan M.R Adam,. 1993. Bacteriological safety of a fermented weaning food containing L- lactate and nicin", *Jornal Food Protection* **56**. 414-417.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Kegiatan Penelitian











# ALAT



## Lampiran 2. Personalia Tenaga Peneliti

### Identitas Peneliti

#### a. Ketua Peneliti

1.	Nama Lengkap	Dr. Rieny Sulistijowati S. S.Pi,M.Si (P)
2.	Tempat dan Tanggal Lahir	Manado, 9 Oktober 1971
3.	NIP	197110092005012001
4.	Jabatan Fungsional	LEKTOR KEPALA
5.	Pangkat/Golongan	III/C
6.	Fakultas/Program studi	Perikanan dan Ilmu Kelautan / Teknologi Hasil Perikanan
7.	Alamat Rumah	Jl.Membramo1 Kel.Bulotadaa Timur Rt/Rw 01/02 Kec. Sipatana. Kota Gorontalo
8.	Nomor Telepon/Faks	081340152103
9.	Alamat Kantor	Univ.Negeri Gorontalo Jl.Jend.Sudirman No.06 Gorontalo
10.	Nomor Telepon/Faks	Telp. 0435821125 Fax, 0435 821752
11.	Alamat e-mail	rinyusulistijowati@gmail.com
12.	Mata kuliah yang diampuh	Pengantar THP,Pemanfaatan Limbah Hasil Perikanan, Mikrobiologi Hasil Perikanan, Mikrobiologi Dasar, Kimia Organik, Metode Penelitian,Rancangan Percobaan.

### b. Riwayat Pendidikan

Program	S3	S2	S1
<b>Nama PT</b>	Univ. Padjadjaran	Univ. Padjadjaran	Univ. Samratulangi
<b>Tempat</b>	Bandung	Bandung	Manado
<b>Bidang Ilmu</b>	Tek.Hasil Perikanan	Kimia/Mikrobiologi Proses	Tek.Hasil Perikanan
<b>Thn Masuk</b>	2009	2006	1990
<b>Tahun lulus</b>	2012	2008	1995
<b>Gelar</b>	Dr	M.Si	S.Pi
<b>Judul Disertasi, Tesis, Skripsi</b>	Kajian Mutu Mikrobiologis dan Kimiawi Sodabushi Ikan tongkol Menggunakan Biopreservatif <i>L.acidophilus</i> dan Difermentasi Oleh <i>A.oryzae</i>	Uji Aktivitas Antikanker Payudara Pada <i>cell line</i> T47D dan Identifikasi Isolat Jamur Endofitik Tumbuhan Taxus Sumatrana	Pengaruh cara pemasakan dan perbandingan ekstrak nenas terhadap mutu kecap udang galah

### c. Pengalaman Penelitian

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta Rp)
1.	2015	Aktivitas Antagonis Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi Dari Ikan Bandeng Terhadap Bakasap Patogen	Fundamental Tahun II	67.5
2.	2014	Aktivitas Antagonis Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi Dari Ikan Bandeng Terhadap Bakasap Patogen	Fundamental Tahun I	30
3.	2013	Peningkatan Kualitas Pembelajaran Mikrobiologi Melalui Media Audiovisual Di	Pascasarjana UNG	15

		SMK 1 Kota Gorontalo		
4.	2013	Kajian Sistem Pengendalian Mutu Ikan Cakalang Asap Di Kecamatan Tilango Kabupaten Gorontalo	PNBP	10
5.	2012	Studi Kandungan Kalsium Karbonat Pada Cangkang Kijing Lokal ( <i>Pilsbryoconcha</i> Sp.) Di Kabupaten Boalemo Provinsi Gorontalo.	PNBP Fak.Pertanian UNG	4
6.	2011	Pemanfaatan Bakteriოსin Produksi <i>L.acidophilus</i> Sebagai Biopreservatif Sodabushi Ikan tongkol	Hibah Doktor Dikti	50
7.	2009	Identifikasi Cepat Isolat Jamur Endofitik Potensial Antikanker Payudara Berbasis Biologi Molekuler	PNBP UNG	4.5
8.	2006	Kajian Rasio Ikan dan Tepung Pada Sosis Kakap Merah	PDM Dikti	10

#### d. Pengalaman Penulisan Artikel Ilmiah

No.	Thn	Judul Artikel	Volume/nomor	Nama Artikel
1.	2015	Pemanfaatan kitosan sebagai antibakteri pada bakso ikan tuna	Vol III No.1 2015	Jurnal Nike
2.	2014	Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Milkfish Intestine ( <i>Chanos chanos</i> ).	ISBN...	Proceeding Intenational Seminar  Innovation on Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology Towards the Asean Economic Community in 2015
3.	2014	Analisis <i>E.Coli</i> Pasca Pencucian pada Proses Pengolahan Udang Beku di PT.xx Gorontalo	Vol II No.3 2014 ISSN 2303-2200	Jurnal Nike
4.	2014	Studi Kelayakan Unit Pengolahan Udang Putih ( <i>Litopenaus vannamei</i> )	Vol II No.2 2014	Jurnal Nike

		Beku Tanpa Kepala di PT.xx Gorontalo	ISSN 2303-2200	
5.	2014	Uji Mutu Ikan Cakalang ( <i>Katsuwonus pelamis</i> ) Asap dari Unit Pengolahan Ikan di Provinsi Gorontalo	Vol II No.2 2014 ISSN 2303-2200	Jurnal Nike
6.	2013	The Influence Culture Age and Soaking Time Range with Filtrate <i>L.acidophilus</i> toward The Number of <i>Coliform</i> bacteria in Swordfish stew	Vol 3. No.4 ISSN2224-3208 ISSN2225-093x	Journal Biology Agryculture and Healthcare
7.	2013	Penentuan Perbandingan Es Curah dan ikan Nike Segar dalam Cool Box Berinsulasi terhadap Mutu Organoleptik dan Mikrobiologis Selama Pemasaran	Vol I No.2 2013 ISSN 2303-2200	Jurnal Nike
8.	2010	The influence of giving various concentrations and method of inoculums <i>L.acidophilus</i> according to immersion time for total <i>E.coli</i> in swordfish stew ( <i>Auxis rochei</i> )	ISBN 978-602-8743-67-9	Proceeding International Seminar Biotechnology for Enhancement the Tropical Biodiversity
9.	2009	Kajian Rasio Ikan dan Tepung pada Sosis Kakap Merah ( <i>Lutjanus altifrontalis</i> )	4/1	Jurnal Entropi
10.	2008	Studi Fermentasi Jamur Endofitik Tumbuhan <i>Taxus sumatrana</i> sebagai bahan antikanker payudara	3/2	Agrosains Tropis
11.	2008	Identifikasi Bakasap Actinomicetes Secara Molekuler	3/1	Agrosains Tropis

**e. Pengalaman Sebagai Pemakalah Dalam Seminar Ilmiah Internasional Dan Atau Seminar Ilmiah Nasional**

No	Tahun	Judul Artikel	Tema Seminar	Penyelenggara	Tempat
1.	2014	Kajian Sistem Pengendalian Mutu Ikan Cakalang Asap Di Kab.Gorontalo	Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia UNG	MIPA UNG	Gorontalo
2.	2014	Penerapan Rumah Asap Model Kabinet Untuk	Optimalisasi Kemandirian	PATPI SULUT	Manado

		Efisiensi Bahan Bakar, Lama Pengasapan dan Perbaikan Mutu Ikan Asap	Pangan Menyambut Asean Economic Community		
3.	2014	The effectiveness Inhibition Filtrate Bacteriocins <i>L.Acidophilus</i> toward Contaminant Bacteria from Swordfish ( <i>A.rochei</i> ) Stew	Microbial Use for Human Welfare	PERMI dan Univ.Andalas	Padang
4.	2014	Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Milkfish Intestine ( <i>Chanos chanos</i> ).	Innovation on Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology Towards the Asean Economic Community in 2015	Balai Penelitian Pengembangan Bioteknologi Produk Hasil Perikanan. KKP	Jakarta
5.	2013	Identifikasi Strain <i>L.acidophilus</i> potensial biopreservatif dengan metode PCR	Biotechnology and Biofarma Marine Diversity	B2RP2BKP dan UNSRAT	Manado
6.	2011	Potensi Penghambatan Filtrat Bakteriosin <i>L.acidophilus</i> terhadap Bakteri Kontaminan dari Rebusan Daging Ikan Tongkol ( <i>Auxis rochei</i> )	Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan III	B2RP2BKP KKP	Jakarta
7.	2010	Pengaruh Umur Kultur dan Rentang Waktu Perendaman dengan Filtrat <i>L.acidophilus</i> terhadap Jumlah Bakteri Kontaminan dan <i>Coliform</i> Grup pada Rebusan Daging Ikan Tongkol.	Seminar Nasional dan Pameran MPHPI	MPHPI & KKP	Unpad Bandung
8.	2010	The influence of giving various concentrations and method of inoculums <i>L.acidophilus</i> according to immersion time for total <i>E.coli</i> in swordfish stew ( <i>Auxis rochei</i> )	International Biotechnology for Enhancement the Tropical Biodiversity	LEMLIT UNPAD	Unpad Bandung

9.	2010	Identification of Endophytic Fungi Isolates From <i>Taxus sumatrana</i> Potential Invitro Against T747 Cell use PCR 18s rRna Sequencing Methode	International Biotechnology for Enhancement the Tropical Biodiversity	LEMLIT UNPAD	Unpad Bandung
----	------	---	---	--------------	---------------

#### f. Pengalaman Pengabdian pada Masyarakat

No.	Tahun	Judul	Sumber Dana	Jumlah (juta Rp)
1.	2015	Penguji eksternal UKKNasional Di Gorontalo	DIKNAS	20
2.	2014	KKS Pengabdian UNG Pengasapan Ikan Sistem Kabinet Di Desa Pasalae Kab.GORUT	PNBP UNG	25
3.	2014	Pemaasap "Pengemasan Ikan Asap Kering"Di Desa Pasalae Kab.Gorut	Tim MP3EI	10
4.	2014	Pengabdian pada masyarakat oleh Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan di Desa Tolotio Kec. Kabila Bone Kab. Bone Bolango.	Fak.Perikanan UNG	5
5.	2013	Bina Akrab dan Bersih Pantai UNG dengan Masyarakat Pemda Boalema	UNG	20
6.	2013	Pelatihan pengolahan Ikan Menjadi Aneka Menu Yang Sehat Kerjasama dengan FORHATI Wilayah Gorontalo	FORHATI	3
7.	2013	Pelatihan Penulisan Artikel Untuk Publikasi Jurnal Ilmiah Jurusan Tek.Perikanan UNG	PNBP	5
8.	2012	Bina Akrab Civitas Akademika Jurusan Tek.Perikanan dengan Masyarakat Bongo	PNBP	8
9.	2012	Bimbingan Teknis Pengelolaan Pelabuhan Perikanan	Ditjen Tangkap KKP	50
10.	2012	Temu Teknis Pembina Sentra Pengolahan Ikan Indonesia	P2HP KKP	80



11.	2012	Tim Pengembang Model Momongu Lipu Masyarakat Pesisir Danau Limboto Berbasis Pembelajaran Budaya Pembesaran Otili (sogili)	BPKB Provinsi Gorontalo	120
-----	------	---	-------------------------------	-----

**g. Pengalaman Penulisan Buku**

No.	Tahun	Judul Buku	Jumlah Halaman	No.ISBN	Penerbit
1.	2014	Mikrobiologi Hasil Perikanan	90	ISBN 978-6602-280-383-3	Deepublish
2.	2013	Seafood safety dan Implementasi Analisis SWOT Quality Sistem dalam buku Cakrawala Perubahan merangkai gagasan, kebijakan dan Harapan	8	ISBN 978-979-1340-56-4	UNG Press
3.	2011	Mekanisme Pengasapan Ikan	149	978-602-8743-86-0	Unpad Press

**h. Pengalaman Profesi**

No.	Tahun	Profesi
1.	2013 s/d sekarang	Anggota PERMI
2.	2012 s/d sekarang	Anggota MPHPI

Semua data saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidak-sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima resikonya.

**Gorontalo, Oktober 2015**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Rieny S.', is centered on the page. The signature is written in a cursive style with a small flourish at the end.

**Dr. Rieny Sulistijowati S.**

a. Anggota Peneliti

**1. Identitas Peneliti**

1.	Nama Lengkap (deng gelar)	Lukman Mile, S.Pi, M.Si (L)
2.	Tempat dan Tanggal Lahir	Manado, 4 Desember 1982
3.	NIP	198212042009121004
4.	Jabatan Fungsional	Lektor
5.	Pangkat/Golongan	Penata Muda Tingkat I/ IIIb
6.	Fakultas/Program Studi	Perikanan dan Ilmu Kelautan/ Teknologi Hasil Perikanan
7.	Alamat Rumah	Kec Sipatana. Kota Gorontalo
8.	Nomor Telepon/Faks	-
9.	Alamat Kantor	Univ. Negeri Gorontalo Jl. Jend. Sudirman No.06 Gorontalo
10.	Nomor Telepon/Faks	Telp. 0435821125 Fax, 0435 821752
11.	Alamat e-mail	<a href="mailto:Luqmanmile@yahoo.com">Luqmanmile@yahoo.com</a>
12.	Mata kuliah yang diampu	Pengantar THP, Peralatan Pengolahan, Rancangan Percobaan, Biokimia Hasil Perikanan

**2. Riwayat Pendidikan**

Program	S2	S1
Nama PT	Univ. Samratulangi	Univ. Samratulangi
Tempat	Manado	Manado
Bidang Ilmu	Ilmu Perairan	Tek. Hasil Perikanan
Thn Masuk	2006	2002
Tahun lulus	2008	2006
Gelar	M.Si	S.Pi

### 3. Pengalaman Penelitian

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (juta Rp)
1.	2010	Potensi Perikanan Tangkap 2010 Kabupaten Gorontalo Utara (APBD Gorut Tahun 2010-Anggota Peneliti)	APBD-Kab. Gorontalo Utara	50
2.	2011	Pengaruh Umur Panen terhadap Karakasapstik Kimia Karagenan Rumput Laut	PNBP	15
3.	2012	Karakasapstik Kemunduran Mutu Ikan Baronang ( <i>Siganus spp</i> ) Yang Di Es	Mandiri	5
4.	2013	Kajian sistem pengendalian mutu ikan cakalang asap ( <i>katsuwonus pelamis</i> l.) Di Kabupaten Gorontalo	PNBP	8,6
5.	2014	Analisis Kemunduran mutu ikan layang dan ikan kembung yang dipasarkan di TPI kota Gorontalo selama penyimpanan suhu <i>chilling</i>	PNBP	5

### 4. Pengalaman Penulisan Artikel Ilmiah

No.	Thn	Judul Artikel	Volume /nomor	Nama Artikel
1.	2011	Karakteristik Karaginan dari Rumput Laut ( <i>Kappaphycus Alvarezii</i> ) Pada Umur Panen Yang Berbeda	Vol 6/ Nomor 4/ 2011	Jurnal Sainstek UNG

2.	2011	Karakteristik Kemunduran Mutu Ikan Baronang ( <i>Siganus</i> spp) yang dieskan	Vol 6 / Nomor 2 /Tahun 2011	Jurnal Ilmiah Agrosains Tropis
3.	2013	Pengaruh Konsentrasi Garam Berbeda terhadap mutu ikan Tongkol ( <i>Euthynusaffinis</i> ) Asap	Vol 1 / Nomor 1/ Juni 2013	Jurnal Nike (Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan)
4	2013	Analisis TPC dan Total BakteriPsikrofilik pada ikan layang ( <i>Decapterusmacrosoma</i> ) selama penyimpanan suhu rendah	Vol 1 / Nomor 2/ Juni 2013	Jurnal Nike (Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan)

### 5. PengalamanPengabdianpadaMasyarakat

No	Tahun	Judul	Sumber Dana	Jumlah (jutaRp)
1.	2014	Pengabdian KKS denganTema " Pengasapanikan model kabinettermodifikasitermometer digital untukpemberdayaandanmemperbaikimutuikanasapbagipengolahikanasap di Kab. Gorut (Anggota)	PNBP	25
2	2014	PengabdianpadaMasyarakatden gantema "PerikanandanKelautanberkelanjutanramahlingkungan"	PNBP	5
3.	2014	Pengabdian Pada Masyarakat Dalam Rangka Hari Nelayan Nasional 2014	PNBP	5
4.	2013	BinaAkrabdanBersihPantai UNGdenganMasyarakat	UNG	20

		serta Pemda Boalemo		
5.	2013	Pelatihan Penulisan Artikel Untuk Publikasi Jurnal Ilmiah Jurusan Tek. Perikanan UNG	PNBP	5
6.		Pengabdian Pada Masyarakat Di Desa Langgula, Kab. Gorontalo	PNBP	5
7.	2012	Bina Akrab Civitas Akademika Jurusan Tek. Perikanan dengan Masyarakat Bongo	PNBP	8
8.	2011	One Day Fishing	PNBP	5
9.	2011	Pemberdayaan Masyarakat Pesisir Desa Huangobotu, Kec. Inengo. Kab. Bone Bolango	PNBP	5

## 6. Pengalaman Profesi

No.	Tahun	Profesi
1.	2010-sekarang	Anggota Pusat Studi Teluk dan Laut Dalam UNG
2.	2011-sekarang	Anggota HNSI

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidak-sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Gorontalo, Oktober 2015

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Lukman Mile', with a long horizontal stroke extending to the right.

Lukman Mile, S.Pi,M.Si



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO**

Jalan Jenderal Sudirman No. 6 Kota Gorontalo  
Telepon. (0435) 821125; Fax. (0435) 821752; laman : www.ung.ac.id

**KEPUTUSAN  
REKTOR UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO  
NOMOR : //3 JUN47/2015**

Tentang

**PENETAPAN PEMENANG PENELITIAN DESENTRALISASI DAN KOMPETITIF NASIONAL  
UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO TAHUN 2015**

**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 untuk meningkatkan penguatan kelembagaan dan mutu keterampilan di Universitas Negeri Gorontalo maka perlu digalakkan usaha-usaha penelitian;
  - bahwa berkenaan dengan diktum "b" di atas, maka ditetapkan pemenang Penelitian Desentralisasi dan Kompetitif Nasional atas biaya Dikti tahun pelaksanaan 2015;
  - Penetapan dosen peneliti yang dibiayai mutlak berdasarkan atas hasil penetapan oleh Ditabmas Dikti Kemdikbud;
  - bahwa mereka yang nama-namanya tersebut dalam lampiran surat keputusan ini dipandang mampu untuk melaksanakan penelitian dimaksud.
- Mengingat** :
- Undang-Undang No. 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. 66 tahun 2010 tentang perubahan atas PP No. 17 tahun 2010
  - Kepres No. 54 tahun 2004 tentang perubahan status IKP Gorontalo Menjadi Universitas Negeri Gorontalo;
  - Peraturan Pemerintah No. 60 Tahun 1999 tentang Pendidikan Tinggi;
  - Keputusan Presiden RI No. 193/MPK.AA/KP/2014 Tahun 2014 tentang Pengangkatan Rektor Universitas Negeri Gorontalo;
  - Keputusan Menteri Pendidikan Nasional No. 10 Tahun 2005 tentang Organisasi dan Tata Kerja (OTK) Universitas Negeri Gorontalo;
  - Keputusan Menteri Pendidikan Nasional RI No. 18 Tahun 2006 tentang Statuta Universitas Negeri Gorontalo;
  - Kepmerkeu 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).



### MEMUTUSKAN

- Menetapkan  
Pertama : Penetapan Pemenang Penelitian Desentralisasi dan Kompetitif Nasional Universitas Negeri Gorontalo tahun 2015 yang nama-namanya sebagaimana tercantum dalam lampiran Surat Keputusan ini.
- Kedua : Peneliti bertanggung jawab penuh secara teknis, sistematis dan administratif dengan mengacu pada Panduan Pelaksanaan Penelitian dan PPM Edisi IX yang mengantar secara rinci pelaksanaan penelitian atas biaya Dikti serta mematuhi segala bentuk kesepakatan yang tertuang dalam Surat Perjanjian Penelitian.
- Ketiga : Peneliti dalam pelaksanaan penelitian wajib melaporkan kemajuan hasil penelitian, laporan penggunaan keuangan serta memasukan Laporan Akhir Hasil Penelitian kepada Lembaga Penelitian dan SIM-LITABMAS.
- Keempat : Biaya yang timbul akibat pelaksanaan Surat Keputusan ini dibebankan pada anggaran yang tersedia untuk itu.
- Kelima : Surat Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan dengan ketentuan bila mana 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 : 13 Februari 2015



Tembusan :

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

NO	PENELITI	JUDUL PENELITIAN	SKIM	BIAYA	KET
14	Dr. Riery Sulistjowati S., M.Si Lukman Mlie, S.Pi, M.Si	Aktivitas Antagonis Bakteri Asam Laktat (Ba) Hasil Isolasi dari Ikan Bandeng (Chanos Chanos) Terhadap Bakteri Patogen	Fundamental	Rp 67,500,000	Lanjutan
15	Dr. Yuzsda K. Salimi, M.Si Dra. Nurhayati Bialang, M.Si	Kajian Senyawa Antioksidan dan Antiinflamasi Tanaman Obat Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Asal Gorontalo	Fundamental	Rp 75,000,000	Lanjutan
16	Dr. Abdul Hafidz Ofii, 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 72,000,000	Lanjutan
17	Drs. Marjan Paputungan, M.Si Rakhmawaty Ahmad Asul, M.Si	Pembuatan Katalis Modifikasi Pt/Batu Apung Untuk Mendukung Reaksi Konversi 3-Metil-1-butanol	Fundamental	Rp 73,500,000	Lanjutan
18	Idham Halid Lahay, ST, M.Sc Hasanuddin, S.T., M.Si Stella Junus, S.T., M.T	Evaluasi Ergonomi dan Perancangan Meja Serta Kursi Kerja Bagi Pengrajin Sulaman Karawo di Gorontalo	Hibah Bersaing	Rp 55,000,000	Baru
19	Yasin Mohamad, ST, MT Larto Mohamad Kamil Amali, S.T, MT Darwis Hineho, S.T, M.T	Feasibility Study dan Perancangan Pembangkit Listrik Tenaga Mikrohidro Dalam Menunjang Desa Mandiri Energi di Desa Mong'lo Induk Kecamatan Bulango Ulu Kabupaten Bone Bolango	Hibah Bersaing	Rp 50,000,000	Baru
20	Herwin Mopangga, SE, M.Si Rafin Hineho, S.Pd, M.Si	Pengembangan Wirausaha Berbasis Teknologi ( <i>Technopreneurship</i> ) di Provinsi Gorontalo	Hibah Bersaing	Rp 50,000,000	Baru
21	Dr. Novianty Djafri, M.Pd.I Dr. Arifin Tahir, M.Si	Rekonstruksi Model Kecerdasan Emosi Kepemimpinan Kepala Sekolah Lanjutan Tingkat Atas (SLTA) Se Provinsi Gorontalo	Hibah Bersaing	Rp 50,000,000	Baru
22	Pumama Ningsih Maspeke, S.TP, M.Sc Yoyanda Bait, S.TP, M.Si	Pengembangan Pangan Fungsional Permen Lunak Gula Aren dari Nira Tertolak pada Pengolahan Gula Aren Tradisional	Hibah Bersaing	Rp 52,500,000	Baru
23	Dra. Ruslin W. Badu, M.Pd Pupung Puspa Ardini, S.Pd., M.Pd Meylan Saleh, S.Pd, M.Pd	Pengembangan Media Pembelajaran Bagi Guru PAUD Dalam Merangsang Perilaku Sopan Santun Anak Usia Dini Melalui Bermain Peran Makro di Kota Gorontalo	Hibah Bersaing	Rp 62,500,000	Baru
24	Rahmiyati Kasim, S.TP, M.Si Suryani Une, STP., M.Sc Lisna Ahmad, S.Pi, M.Si	Pengembangan Snack Food Bars Berbasis Tepung Nike dan Tepung Jagung Nikstamal Sebagai Alternatif Pangan Darurat ( <i>Emergency Food Product</i> )	Hibah Bersaing	Rp 55,000,000	Baru
25	Tirtawaty Abdjul, S.Pd, M.Pd Nova Elysia Nitobuo, S.Pd, M.Pd	Pengembangan Perangkat Model Pembelajaran Berbasis Riset Pada Mata Kuliah Pembelajaran di Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo	Hibah Bersaing	Rp 50,000,000	Baru
26	Dr. Marini Susanti Hamidun, M.Si Dr. Dewi W. K. Baderan, M.Si Melinda Lestari Modjo, S.ST.Par, MM.Par	Model Pengembangan Pengelolaan Kawasan Konservasi berbasis Ekowisata	Hibah Bersaing	Rp 51,000,000	Baru
27	Prof. Dr. Ramli Utina, M.Pd Abubakar Sidik Ketili, S.Pd, M.Sc Drs. Mustamin Ibrahim, M.Si	Inventarisasi Spesies Burung Perairan dan Model Prediktif Rantai Makanan Kawasan Pesisir yang Tercemar Merkuri dari Limbah Pertambangan Rakyat di Kabupaten Pohuwato	Hibah Bersaing	Rp 65,000,000	Baru

NO	PENELITI	JUDUL PENELITIAN	SKIM	BIAYA	KET
71	Nonny Basalama, MA, Ph.D Kamila Machmud, MA, Ph.D	Peran Role Model Dalam Pembelajaran Bahasa Inggris Pada Konteks 'Foreign Language' : Suatu Penelitian Kualitatif Tentang Identitas & Budaya Dalam Pembangunan Karakter Bangsa	PUPT/IDB	Rp 150,000,000	Lanjutan
72	Dr. Lukman A.R. Laliyo, MM, M.Pd Dr. Elya Nusantari, M.Pd Citra Panigoro, ST, M.Si Dr. Sukirman Rahim, M.Si	Rekayasa Implementasi Teknologi Tepat Guna Melalui Pengembangan Model Pembelajaran Untuk Menumbuhkan Budaya Pemanfaatan Energi Terbarukan Pada Masyarakat Daerah Terpencil	PUPT/IDB	Rp 145,000,000	Lanjutan
73	Indriati Husain, SP, M.Si	Evaluasi Keragaman Genetik Putatif Mutan Jeruk Keprok Varietas SoE NTT Berdasarkan Analisis Morfologi dan Marka Molekuler ISSR	Disertasi Doktor	Rp 44,000,000	Baru
74	Abdul Haris Odja, S.Pd, M.Pd	Pengembangan Model Pembelajaran Berorientasi Kamandirian (Self Regulated Learning) Untuk Meningkatkan Keterampilan Pemecahan Masalah dan Pemahaman Konsep Kalor	Disertasi Doktor	Rp 43,000,000	Baru


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