

Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik Asal Susu Sapi

Skripsi



**Victor Tri Oktavianto
31150091**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2022**

Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik Asal Susu Sapi

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



**Victor Tri Oktavianto
31150091**

DUTA WACANA

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2022**

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI/TESIS/ DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Victor Tri Oktavianto
NIM : 31150091
Program Studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (None-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

“Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik Asal Susu Sapi”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/ Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak enyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap menyantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta

Pada tanggal : 3 September 2022

Yang menyatakan



(Victor Tri Oktavianto)

NIM: 31150091

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul :
SELEKSI BAKTERI ASAM LAKTAT YANG BERPOTENSI SEBAGAI
KANDIDAT PROBIOTIK ASAL SUSU SAPI

Telah diajukan dan dipertahankan oleh :
VICTOR TRI OKTAVIANTO
31150091

Dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada tanggal 3 September 2022

Nama Dosen

1. Dr. Charis Amarantini, M.Si.
(Ketua Tim Penguji/Pembimbing I)
2. Tri Yahya Budiarso, S. Si, MP.
(Dosen Pembimbing II/Penguji II)
3. Dr. Dhira Satwika, M. Sc.
(Dosen Penguji III)

Tanda Tangan



: _____
: _____
: _____

Yogyakarta, 3 September 2022

Disahkan Oleh :



Dekan,

(Drs. Guruh Prihatmo, MS.)
NIK: 874 E 055

Ketua Program Studi,



(Dr. Dhira Satwika, M. Sc.)
NIK: 904 E 146

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik Asal Susu Sapi
Nama Mahasiswa : Victor Tri Oktavianto
Nomor Induk Mahasiswa : 31150091
Hari/Tanggal Ujian : Sabtu/ 3 September 2022

Disetujui oleh :

Pembimbing I,



(Dr. Charis Amarantini, M.Si.)
NIK : 914 E 155

Pembimbing II,



(Tri Yahya Budiarso, S. Si, MP.)
NIK : 934 E 209

Ketua Program Studi Biologi



(Dr. Dhira Satwika, M.Sc.)
NIK : 904 E 146

DUTA WACANA

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Victor Tri Oktavianto

NIM : 31150091

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

“Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik Asal Susu Sapi”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 3 September 2022



Victor Tri Oktavianto

31150091

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur ke hadirat Tuhan Yesus Kristus atas berkat, rahmat serta kasih-Nya penelitian dan penulisan naskah skripsi dapat berjalan dengan baik. Skripsi dengan judul “**Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik Asal Susu Sapi**” merupakan persyaratan untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana sains (S.Si.) pada program studi Biologi Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, mendukung, dan memberikan motivasi baik secara langsung ataupun tidak langsung sehingga terselesaikannya skripsi ini terlebih khusus kepada :

1. **Tuhan Yesus Kristus** atas berkat, penyertaan dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu **Dr. Charis Amarantini, M. Si.** sebagai dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan maupun arahan yang sangat berguna dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak **Tri Yahya Budiarso, S. Si, MP.** sebagai dosen pembimbing II yang juga memberikan bimbingan maupun arahan yang sangat berguna dalam penyusunan skripsi ini.
4. Bapak **Dr. Dhira Satwika, M.Sc.** sebagai dosen penguji yang berkenan menilai dan memberikan tanggapan serta kelulusan naskah skripsi ini.
5. Teristimewa kepada Keluarga penulis terutama Orang Tua penulis Bapak **Haryanto Wigati** dan Ibu **Lita Setyowati** serta kepada saudari pertama **Dian Eka Susanti** dan saudari kedua **Rina Dwi Purnamasari** yang selalu mendoakan, memberikan motivasi, dan dukungan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Seluruh Staf Pengajar Fakultas Bioteknologi UKDW yang memberikan ilmu dan bimbingan selama menjalani masa perkuliahan.
7. Semua Sahabat dan rekan – rekan selama kuliah, terutama di Fakultas Bioteknologi Angkatan 2015 yang selalu memberikan dukungan dan semangat.

Demikian skripsi ini disusun, penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Karena itu, kritik dan saran selalu kami harapkan demi kesempurnaan dan semoga bermanfaat bagi kita semua.

Yogyakarta

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN JUDUL BAGIAN DALAM	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB II.....	3
2.1 Susu Sapi dalam Pangan Fermentasi	3
2.1.1 Kandungan dalam susu sapi	4
2.1.2 Bakteri asam laktat pada susu sapi.....	6
2.2 Pengertian Bakteri Asam Laktat	7
2.3 Karakteristik Bakteri Asam Laktat	9
2.4 Bakteri Asam Laktat Sebagai Probiotik.....	12
2.4.1 Ketahanan terhadap asam.....	13
2.4.2 Ketahanan terhadap garam empedu	13
2.4.3 Aktivitas antimikroba.....	14
BAB III	16
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	16
3.2 Alat.....	16
3.3 Bahan	17
3.3.1 Sampel Uji dan Bakteri Patogen	17
3.3.2 Media dan Reagen.....	17
3.4 Cara Kerja	17

3.4.1	Preparasi Sampel.....	18
3.4.2	“Enrichment”.....	18
3.4.3	Isolasi Bakteri Asam Laktat	18
3.4.4	Seleksi Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Probiotik.....	20
BAB IV	24
4.1	Isolasi dan Seleksi Bakteri Asam Laktat Pada Susu Sapi.....	24
4.2	Analisa Fenotipe Bakteri Asam Laktat	26
4.3	Seleksi Bakteri Asam Laktat Sebagai Probiotik	31
4.3.1	Uji Ketahanan Asam	31
4.3.2	Uji Garam Empedu	33
4.3.3	Uji Aktivitas Antimikroba.....	35
BAB V	39
5.1	Kesimpulan	39
5.2	Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

No	Judul Tabel	Halaman
Tabel 2.1	Komposisi susu dari berbagai mamalia dalam g/100 g susu	5
Tabel 2.2	Komposisi susu sapi dan kambing per100 gram susu (Cayot, 1998)	5
Tabel 2.3	Karateristik BAL (Axelsson, 2002)	11
Tabel 4.1	Hasil uji morfologis dan fisiologis BAL dari susu sapi	26
Tabel 4.2	Hasil uji ketahanan BAL pada kondisi asam dan garam empedu.....	31
Tabel 4.3	Aktivitas antibakteri isolat BAL terhadap bakteri patogen berdasarkan metode <i>agar well diffusion</i>	36



DAFTAR GAMBAR

No	Judul Gambar	Halaman
	Gambar 3.1 Tahap Penelitian dalam Diagram “fish bone”	18
	Gambar 4.1 Sampel susu sapi mentah dalam Erlenmeyer steril	24
	Gambar 4.2 Hasil isolasi bakteri asam laktat dari susu sapi mentah pada medium MRS+C _a CO ₃	25
	Gambar 4.3 Hasil permunian bakteri asam laktat pada medium MRS agar+ C _a CO ₃	26
	Gambar 4.4 Hasil pewarnaan Gram bakteri asam laktat pada Susu Sapi, (a) SP1.6.4 ; (b) SP1.6.5 ; (c) SP3.5.7 ; (d) SP3.6.8	28
	Gambar 4.5 Hasil uji katalase dari isolat BAL. (a) SP1.6.4 ; (b) SP1.6.5 ; (c) SP3.5.7 ; (d) SP3.6.8.....	29
	Gambar 4.6 Hasil uji produksi gas dari isolat BAL. (a) SP1.6.4 ; (b) SP1.6.5 ; (c) SP3.5.7 ; (d) SP3.6.8	30
	Gambar 4.7 Hasil uji ketahanan asam dari beberapa isolat	33
	Gambar 4.8 Hasil uji ketahanan garam empedu dari beberapa isolat	35
	Gambar 4.9 Efek penghambatan senyawa antimikroba yang dihasilkan dari isolat BAL SP3.6.8 terhadap <i>Salmonella typhi</i> NCTC 786 pengulangan 1 dan 2	38
	Gambar 4.10 Efek penghambatan senyawa antimikroba yang dihasilkan dari isolat BAL SP3.6.8 terhadap enam bakteri patogen pengulangan 1	38

DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul Gambar	Halaman
Lampiran 1.	Isolasi dan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat	46
Lampiran 2.	Pengecatan Gram Bakteri	47
Lampiran 3.	Uji Katalase Bakteri Asam Laktat	48
Lampiran 4.	Uji Produksi Gas Bakteri Asam Laktat	49
Lampiran 5.	Uji Aktivitas Antimikroba	50
Lampiran 6.	Borang Pemantauan Bimbingan Skripsi.....	52
Lampiran 7.	Daftar Tatap Muka Mahasiswa dengan Dosen Pembimbing	53



ABSTRAK

Seleksi Bakteri Asam Laktat yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik Asal Susu Sapi

VICTOR TRI OKTAVIANTO

Susu sapi merupakan bahan pangan yang mempunyai nilai gizi tinggi dan sering digunakan dalam industri pangan. Susu sapi secara alami mengandung bakteri asam laktat yang berpotensi menjadi probiotik. Dalam bidang pangan bakteri probiotik memiliki banyak manfaat untuk manusia. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi bakteri asam laktat alami yang berasal dari susu sapi di Yogyakarta serta mengetahui potensinya sebagai probiotik. Isolasi bakteri asam laktat dari susu sapi menggunakan medium selektif *De Man Ragosa Sharpe* (MRS) dengan 1% CaCO₃. Isolat bakteri terduga BAL di seleksi karakter morfologis dan fisiologis pada uji fenotipe BAL meliputi meliputi reaksi pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji produksi gas. Untuk mengetahui potensi BAL sebagai probiotik dilakukan pengujian berupa toleransi terhadap asam (pH2, pH3, pH4), toleransi terhadap garam empedu 0,3% 0,5% dan 1%, serta aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini ditemukan 10 isolat terduga bakteri asam laktat yang memiliki karakteristik gram positif, berbentuk basil, dan bersifat homofermentatif. Isolat yang terseleksi diuji potensinya sebagai probiotik dan didapati mampu mentoleransi dan tumbuh pada kondisi asam serta garam empedu. Dalam aktivitas antimikroba semua isolat memiliki daya hambat yang lemah melawan bakteri patogen. Semua isolat yang diperoleh dari penapisan dalam media MRS-CaCO₃ adalah bakteri asam laktat berdasarkan karakteristiknya sebagai gram positif, tidak memiliki aktivitas katalase dan tidak membentuk spora, berbentuk basil/batang. Ketahanan asam dan garam dapat menjadikan isolat BAL untuk mengkaji manfaatnya sebagai alternatif peningkatan kualitas pangan. Dalam hal aktivitas antibakteri masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimalkan produksi bakteriosin dan mengidentifikasinya

Kata kunci: Pangan, Susu sapi, Bakteri asam laktat, Probiotik

ABSTRACT

Selection of Lactic Acid Bacteria as Potential Probiotic Candidates from Cow's Milk

VICTOR TRI OKTAVIANTO

Cow's milk is a food ingredient that has high nutritional value and is often used in the food industry. Cow's milk naturally contains lactic acid bacteria that have the potential to become probiotics. In the food sector, probiotic bacteria have many benefits for humans. This study aims to select natural lactic acid bacteria from cow's milk in Yogyakarta and determine its potential as probiotics. Isolation of lactic acid bacteria from cow's milk used *De Man Ragosa Sharpe* (MRS) selective medium with 1% CaCO₃. Bacterial isolates suspected of LAB were selected for morphological and physiological characters in the LAB phenotype test including Gram staining reaction, catalase test, and gas production test. To determine the potential of LAB as a probiotic, tests were carried out in the form of tolerance to acids (pH2, pH3, pH4), tolerance to bile salts 0.3% 0.5% and 1%, as well as antimicrobial activity against pathogenic bacteria. The results obtained in this study were found 10 isolates suspected of lactic acid bacteria which have gram-positive characteristics, are bacilli-shaped, and are homofermentative. The selected isolates were tested for their potency as probiotics and were found to be able to tolerate and grow in acidic conditions and bile salts. In antimicrobial activity, all isolates had weak inhibitory zone against pathogenic bacteria. Acid and salt resistance can make LAB isolates to study their benefits as an alternative to improving food quality. In terms of antibacterial activity, further research is still needed to optimize the production of bacteriocins and identify them.

Keywords: Food, Cow's milk, Lactic acid bacteria, Probiotics

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu adalah produk dari pemerahan total, penuh dan tidak terputus dari seekor sapi perah betina dalam kesehatan yang baik, juga bergizi serta tidak banyak beraktivitas. Susu dikumpulkan harus dengan cara yang benar dan tidak mengandung kolostrum (Adib and Bertrand, 2009; Leseur and melik, 1991). Susu adalah makanan berwarna keputihan yang umumnya diproduksi oleh sel-sel sekretorik susu betina dalam proses yang disebut laktasi; itu adalah salah satu ciri khas mamalia. Susu yang dihasilkan oleh kelenjar terkandung di dalam ambing. Susu yang dikeluarkan pada hari-hari pertama setelah partus disebut kolostrum (Kebchaoui, 2012).

Dalam industri pengolahan susu, susu sapi perah merupakan jenis susu yang paling banyak digunakan. Sudah sejak lama pengolahan susu sapi dalam bidang pangan menghasilkan produk seperti susu fermentasi yaitu yoghurt, yakult, kefir, mentega, keju, dan lainnya. Produk susu fermentasi cukup beragam rasanya dipengaruhi jenis sapi yang digunakan, bakteri starter, dan negara asal susu di produksi. Susu sapi menjadi salah satu bahan pangan pangan yang tinggi kandungan nutrisinya karena di dalam susu terdapat kandungan nutrisi yang lengkap diantaranya lemak, protein, laktosa, vitamin, mineral, dan enzim. Kaya akan nutrisi memberikan susu nilai gizi yang tinggi (Nur *et al.*, 2015).

Berbagai mikroorganisme termasuk ragi, jamur dan bakteri hadir dalam susu mentah. Di antara organisme ini, hanya bakteri asam laktat (BAL) yang melalui proses fermentasi mampu memproduksi asam laktat dari gula susu dan dengan demikian BAL merupakan flora normal utama susu. Bakteri ini bertanggung jawab untuk sebagian besar transformasi fisiokimia dan aromatik intrinsik untuk produk susu fermentasi (Ogier *et al.*, 2002).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah mikroorganisme yang paling banyak dipelajari untuk kesehatan manusia sebagai probiotik dan lebih lanjut, sebagian

besar BAL telah dianggap sebagai mikroorganisme *generally recognized as safe* (GRAS) (Gupta *et al.*, 2018). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa susu sapi terkandung bakteri asam laktat seperti pada penelitian Aziz *et al.*, (2009) terhadap beberapa jenis susu, susu sapi perah ditemukan beberapa jenis bakteri asam laktat diantaranya *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, dan *Lactobacillus delbrueckii*. penelitian lain Franciosi *et al.*, (2009) menunjukkan keanekaragaman BAL pada susu sapi meliputi bakteri *Enterococcus*, *Lactococcus*, dan *Streptococcus*. Peran BAL sebagai agen probiotik dinilai sangat bermanfaat bagi manusia dan industri pangan, oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk memperoleh BAL yang secara alami terdapat pada susu sapi perah yang berfungsi sebagai probiotik.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah didalam susu sapi terdapat bakteri asam laktat yang alami berpotensi sebagai agen probiotik?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi bakteri asam laktat alami yang berasal dari susu sapi serta mengetahui potensinya sebagai probiotik.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini agar bakteri probiotik yang secara alami terkandung dalam susu dapat dimanfaatkan untuk pengembangan fermentasi pangan lebih lanjut.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Semua isolat yang diperoleh dari penapisan dalam media MRS-CaCO₃ adalah bakteri asam laktat (BAL) berdasarkan karakteristiknya sebagai gram positif, tidak memiliki aktivitas katalase dan tidak membentuk spora, berbentuk basil/batang. Sepuluh isolat yang terpilih dan diujikan sebagai kandidat probiotik, semua memiliki kemampuan dalam bertahan dan tumbuh pada pH asam dan garam empedu tetapi dalam uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen kurang optimal ditunjukkan lemahnya zona terang yang dihasilkan. Ketahanan asam dan garam dapat menjadikan isolat BAL untuk mengkaji manfaatnya sebagai alternatif peningkatan kualitas pangan. Pada uji aktivitas antibakteri masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimalkan produksi bakteriosin dan mengidentifikasinya.

5.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melihat potensi antimikroba isolat bakteri asam laktat dalam menghambat bakteri patogen guna memenuhi kandidat probiotik yang lebih bermanfaat.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap 10 isolat bakteri asam laktat terpilih untuk mengetahui keseluruhan jenis bakteri asam laktat yang ada pada sampel melalui identifikasi molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Adib A, Bertrand S., (2009). Risk Analysis transfer pesticides to milk. Institute of Livestock. National Interprofessional Centre: 9.
- Aritonang, S. N., Roza, E., Rossi E., Purwati, E., and Husmaini, H. 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from okara and evaluation of their potential as candidate probiotics. *Pakistan Journal of Nutrition*. 16(8). Pp: 618–628. doi: 10.3923/pjn.2017.618.628.
- Axelsson, L. (2002). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. (Eds.) *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. The 3rd Edition. *Marcel Dekker Inc.*, New York. Pp.1-67.
- Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-*, 139, 1-66.
- Baloch M N, Siddiqi R, Erum H and Zia M. (2015). Exploration of probiotic potential in indigenous lactic acid bacteria. *International Journal of Current Research* 7 13431-36
- Begley, M., Hill, C., & Gahan, C. G. M. (2006). Bile salt hydrolase activity in probiotics. In *Applied and Environmental Microbiology*. 72(3):1729-1738. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1729-1738.2006>
- Bron, P.A., M. Marco., S.M. Hoffer., E.V. Mullekom., W.M. de Vos, and M. Klereebezem. (2004). Genetic Characterization of The Bile Salt response in *Lactobacillus plantarum* and Analysis of Responsive Promoters In Vitro and In Situ in The Gastrointestinal Tract. *J. Bacteriol.* 186: 7829-7835.
- Otles, S., & Cagindi, O. (2003). Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. In *Pakistan Journal of Nutrition* (Vol. 2, Issue 2).
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2008). *Microbiology: a laboratory manual* (Vol. 9). Pearson Benjamin Cummings. San Fransisco
- Cayot PH. (1998). Structures and techno-functions of milk proteins. *Ari milk. Recherches*, ISBN. (15): 2 - 7430-02298-8
- Desmasures N., F. Bauin and M. Guequen. (1997). Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Cambert region of Normandy. *J. Appl. Microbiol.* 83(1):53-58.
- Djide, M. N., & Wahyudin, E. (2008). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu, dan Potensinya dalam penurunan kadar kolesterol secara in vitro. *Majalah farmasi dan Farmakologi*, 12(3), 73-78
- FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Meeting, & World Health Organization. (2006). *Safety evaluation of certain food additives* (Vol. 65).

- World Health Organization.
- Fernandez, B., le Lay, C., Jean, J., & Fliss, I. (2013). Growth, acid production and bacteriocin production by probiotic candidates under simulated colonic conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 114(3), 877–885. <https://doi.org/10.1111/jam.12081>
- Fillion MM. (2006). Improvement of the thermal stability of milk by modulation of the potential of oxydoréduction. Thèse : pp.23 – 447.
- Forsythe, S.J. (2000). The Microbiology of Safe Food. Berlin: Blackwell Science, Ltd.
- Frazier WC, Westhoff DC. (1988). Food Microbiology (4 th Edition). New York. McGraw Hill Book Company. p. 185
- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of Applied Bacteriology*, 66(5), 365-378.
- Gildberg, A., Mikkelsen, H., Sandaker, E., & Ringø, E. (1997). Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*). In *Hydrobiologia* (Vol. 352). Kluwer Academic Publishers.
- Gross, T., Faull, J., Ketteridge, S., & Springham, D. (1995). Introduction to the microbial world. In *Introductory Microbiology* (pp. 1-11). Springer, Boston, MA.
- Guetouache, Guessas, ;, Bettache, Medjekal, & Samir. (2014). Composition and nutritional value of raw milk. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(10), 115–122. <https://doi.org/10.15739/ibspr.005>
- Gupta, R., Jeevaratnam, K., Fatima, A., Scholar, P., & Graduate, P. (2018). Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review) (Vol. 5). JETIR. www.jetir.org
- Harimurti, S., Rahayu, E. S., Nasroedin, N., & Kurniasih, K. (2008). Bakteri Asam Laktat dari Intestin Ayam Sebagai Agensi Probiotik. *Animal Production, Jurnal Produksi Ternak*, 9(2).
- Hugenholz, J., W. Sybesma, M.N. Groot, W. Wisselink, V. Ladero, K. Burgess, D. van Sinderen, J.C. Piard, G. Eggink, E.J. Smid, G. Savoy, F Sesma, T. Jansen, P. Hols, and M. Kleerebezem. (2002). Metabolic Engineering of Lactic Acid Bacteria for The Produciton of Nutraceuticals. *Antonie van Leeuwenhoek* 82: 217-235.
- Rahmatullah, Widia. (2021). A Air Bacteria Identification By Using Gram Staining: Identifikasi Bakteri Udara Menggunakan Teknik Pewarnaan Gram. *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika*, 6(2), 83-91. Retrieved from <https://www.poltekkes-bsi.ac.id/jurnal/index.php/bsm/article/view/62>
- Jay, M.J. (1996). Modern Food Microbiology (5th Edition). International Thomson Publishing, Chapman & Hall Book, Dept. BC. p.469–471.
- Julianto, B., Rossi, E., Studi Teknologi Hasil Pertanian, P., & Teknologi Pertanian,

- J. (2016). Karakteristik Kimiawi Dan Mikrobiologi Kefir Susu Sapi Dengan Penambahan Susu Kedelai Chemical And Microbiology Characteristic Of Kefir From Cow Milk With Soy Milk Addition. In *Jom Faperta* (Vol. 3, Issue 1).
- Klayraung, S., & Okonogi, S. (2009). Antibacterial And Antioxidant Activities Of Acid And Bile Resistant Strains Of Lactobacillus Fermentum Isolated From Miang. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 757–766.
- Kleerebezem, M. and J. Hugenholtz. (2003). Metabolic Pathway Engineering in Lactic Acid Bacteria. *Curr. Opin. Biotechnol.* 14:232-237.
- Konte M. (1999). Le lait et les produits laitiers. Développement de systèmes de productions intensives en Afrique de l'ouest. Université de Nouakchott (R.I.M) Faculté des Sciences et Technologies des aliments, B. P. 5026. ISRA/URV – LNERV/FEVRIER : 2-25
- Kusumawati, N; Bettysri, L J; Siswa S; Ratihdewanti dan Hariadi. (2003). Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenous sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Menurunkan Kolesterol. *Journal Mikrobiologi Indonesia*.
- Lee, Y. K., & Salminen, S. (1995). The coming of age of probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 6(7), 241–245. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89085-8](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89085-8)
- Leseur R, Melik N (1990). Lait et produits laitiers. Edition: Cedex. Paris: pp.2 – 7.
- Leisner, J. J., Pot, B., Christensen, H., Rusul, G., Olsen, J. E., Wee, B. W., Muhamad, K., & Ghazali, H. M. (1999). Identification of lactic acid bacteria from chili bo, a Malaysian food ingredient. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(2), 599–605. <https://doi.org/10.1128/aem.65.2.599-605.1999>
- Ljungh, A., & Wadstrom, T. (2006). Lactic acid bacteria as probiotics. *Current issues in intestinal microbiology*, 7(2), 73-90.
- Morales, G., Sierra, P., Mancilla, A., Paredes, A., Loyola, L. A., Gallardo, O., & Borquez, J. (2003). Secondary metabolites from four medicinal plants from northern Chile: antimicrobial activity and biotoxicity against Artemia salina. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 48(2), 13-18.
- Moser, S. A., & Savage, D. C. (2001). Bile Salt Hydrolase Activity and Resistance to Toxicity of Conjugated Bile Salts are Unrelated Properties in Lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(8), 3476–3480. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.8.3476-3480.2001>
- Murad, H. A., Refaea, R. I., & Aly, E. M. (2011). Utilization of UF-permeate for production of β-galactosidase by lactic acid bacteria. *Pol J Microbiol*, 60(2), 139-144.
- Naidu, A. S., Bidlack, W. R., & Clemens, R. A. (2010). Critical Reviews in Food Science and Nutrition Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria (LAB) Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria (LAB). *Critical Reviews in Food*

- Science and Nutrition*, 38(August 2012), 37–41.
- Nowroozi, J., Mirzaii, M., & Norouzi, M. (2004). Study of Lactobacillus as probiotic bacteria. *Iranian Journal of Public Health*, 33(2), 1–7.
- Nur, N., & Muhammadiyah, A. (2018). Aktualisasi Peran Generasi Milenial Melalui Pendidikan, Pengembangan Sains, dan Teknologi dalam Menyongsong Generasi Emas (Vol. 3). ELF.
- Nur, F., Hafsan, H., & Paramitasari, D. (2015). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Berpotensi Probiotik dari Dangke Susu Sapi di Kabupaten Enrekang. *Jurnal Biotek: Jurusan Pendidikan Biologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*, 3(1), 1–15.
- Ogier J. C., O. Son, A. Gruss, P. Tailliez, and A. Delacroix-Buchet (2002). Identification of Bacterial Microflora in Dairy Products by Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 68(8):3691-701.
- Ooi, L. G., & Liang, M. T. (2010). Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: A review of in Vivo and in Vitro Findings. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(6), 2499–2522. <https://doi.org/10.3390/ijms11062499>
- Osmanagaoglu, O., Kiran, F., & Ataoglu, H. (2010). Evaluation of in vitro Probiotic Potential of *Pediococcus pentosaceus* OZF Isolated from Human Breast Milk. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2(3), 162–174. <https://doi.org/10.1007/s12602-010-9050-7>
- Otieno, D. O. (2011). Biology of Prokaryotic Probiotics (pp. 1–28). https://doi.org/10.1007/978-3-642-20838-6_1
- Park YW, Ju'arez M, Ramos M, Haenlein GFW. (2007). Physicochemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin Res* 68: 88-113.
- Parvez, S., Malik, K. A., Ah Kang, S., & Kim, H. Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171–1185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x>
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2008). Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I. Jakarta.
- Calo-Mata, P., Arlindo, S., Boehme, K., de Miguel, T., Pascoal, A., & Barros-Velazquez, J. (2008). Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. *Food and Bioprocess Technology*, 1(1), 43–63. <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0021-2>
- Pramono, H., Suciati, P., & Andriyono, S. (2015). Isolation of Lactic Acid Bacteria That Produce Protease and Bacteriocin-Like Substance From Mud Crab (*Scylla* sp.) Digestive Tract (Isolasi Bakteri Asam Laktat yang Menghasilkan Protease dan Senyawa Bacteriocin-Like dari Saluran Pencernaan Kepiting). *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 20(1), 33.

<https://doi.org/10.14710/ik.ijms.20.1.33-37>

- Prescott, S. L., Macaubas, C., Smallacombe, T., Holt, B. J., Sly, P. D., & Holt, P. G. (1999). Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *The Lancet*, 353(9148), 196-200.
- Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., Girbés, T., Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., & Girbés, T. (2014). Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review. *Food and Nutrition Sciences*, 05(18), 1765–1775. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.518190>
- Rizzoli, R. (2022). Dairy products and bone health. In *Aging Clinical and Experimental Research* (Vol. 34, Issue 1, pp. 9–24). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s40520-021-01970-4>
- Diaz-Gonzalez, J. A., Russell, J., Rouzaut, A., Gil-Bazo, I., & Montuenga, L. (2005). Targeting hypoxia and angiogenesis through HIF-1alpha inhibition. *Cancer biology & therapy*, 4(10), 1055-1062.
- Saranraj, P., & Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria-IJB Related papers Lact ic Acid Bact eria and it s Ant imicrobial Prop erties: A Review An overview of lactic acid bacteria International Journal of Biosciences (IJB). 1(3), 1–13.
- Sauer, S., & Kliem, M. (2010). Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 8(1), 74-82.
- Shah, N.P. 2000. Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *J. Dairy Sci.* 83: 894-907.
- Shah, N. P. (2000). Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83(4), 894–907. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74953-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74953-8)
- Shi, T., Nishiyama, K., Nakamata, K., Aryantini, N. P. D., Mikumo, D., Oda, Y., Yamamoto, Y., Mukai, T., Sujaya, I. N., Urashima, T., & Fukuda, K. (2012). Isolation of potential probiotic *Lactobacillus rhamnosus* strains from traditional fermented mare milk produced in Sumbawa Island of Indonesia. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 76(10), 1897–1903. <https://doi.org/10.1271/bbb.120385>
- Sujaya, I., Nocianitri, K., Aryantini, N., Nursini, W., Ramona, Y., Oriksasa, Y., Kenji, F., Urashima, T., & Oda, Y. (2016). Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Isolat Susu Segar Sapi Bali. *Jurnal Veteriner*, 17(2), 155–167. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.2.155>
- Sujaya IN, Ramona Y, Widarini NP, Suariani NP, Dwipayanti NMU, Nocianitri KA, Nursini NW. (2008a). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari susu kuda sumbawa. *J Veteriner* 9(1): 52-59
- Sujaya IN, Dwipayanti NMU, Suariani NLP, Widarini NP, Nocianitri KA, Nursini NW. (2008b). Potensi *Lactobacillus* spp isolat susu kuda sumbawa sebagai

- probiotik. J Veteriner 9(2): 33-40.
- Sunaryanto, R., Balai, M., Bioteknologi, P., & Teknologi, B. (2012). ISOLASI, Identifikasi, Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Dadih Susu Kerbau. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- Surono, I. S. (2004). Probiotik susu fermentasi dan kesehatan. YAPMMI, Jakarta.
- Tamime, A. Y. (2002). Fermented milks: A historical food with modern applications—a review. European Journal of Clinical Nutrition, 56, S2–S15. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601657>
- Toksoy, A., Beyatli, Y., & Aslim, B. (1999). Sucuk ve Sosislerden İzole Edilen Lactobacillus plantarum Suşlarının Bazi Metabolik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23(6), 533–540.
- Van-Niel, C. W., C. Feudtner, M. M. Garrison and D. A. Christakis (2002). Lactobacillus is Safe and Effective for Treating Children with Acute Infectious Diarrhoea. Pediatrics. 109(4): 678-684.
- Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2008). Probiotics-From Metchnikoff to bioactives. In International Dairy Journal (Vol. 18, Issue 7, pp. 714–728). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.004k>
- Vesterlund, S. (2009). Production of Antimicrobial Substances. In: Y.K. Lee and S. Salminen (Eds.). Handbook of Probiotics and Prebiotics. The 2nd Edition. Hoboken: John Wiley & Sons incPp. 392-395
- Waluyo, L. (2008). Teknik Metode Dasar dalam Mikrobiologi. UPT Penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Wassie, M., & Wassie, T. (2016). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw Cow Milk International Journal of Advanced Research in Biological Sciences Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw Cow Milk. Int. J. Adv. Res. Biol. Sci, 3(8), 44–49. <https://www.researchgate.net/publication/315681788>
- Widodo. 2003. Biotecnologi Industri Susu. Yogyakarta: Lacticia Press.
- Widyastuti, Y., & Sofarianawati, E. (1999). Karakter bakteri asam laktat Enterococcus sp. yang diisolasi dari saluran pencernaan ternak. Jurnal Mikrobiologi Indonesia, 4(2), 50-53.
- Yang, P. B., Tian, Y., Wang, Q., & Cong, W. (2015). Effect of different types of calcium carbonate on the lactic acid fermentation performance of Lactobacillus lactis. Biochemical Engineering Journal, 98, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.02.023>
- Yulvizar, C. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada Rastrelliger sp. Isolation and Identification of Probiotic Bacteria in Rastrelliger sp (Vol. 6, Issue 2).