



Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Olahan Susu Kerbau Bakkun Bumbungan Asal Kabupaten Mamasa

Okta Sesilia Demmalino¹, Juniati Binti Lukman², Ade Irma³, Wahdaniar⁴, Muhammad Asri⁵

^{1,2,3,4,5}Program Studi Sains Biomedis, Universitas Megarezky Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia

Email: demalino17@gmail.com

Article Info

Article history:

Received June 20, 2026

Revised June 23, 2026

Accepted June 25, 2026

Keywords:

Lactic Acid Bacteria,
Bakkunbumbungan, Molecular
Identification, 16S rRNA.

ABSTRACT

Bakkunbumbungan is a traditional fermented buffalo milk-based food native to Mamasa Regency, West Sulawesi, which is produced spontaneously in bamboo containers without the addition of a starter culture. The unique geographical conditions and traditional processing methods are believed to have selected a specific community of indigenous lactic acid bacteria (LAB). However, scientific information regarding the diversity of LAB species in this product remains very limited. This study aims to identify lactic acid bacteria (LAB) and determine the LAB species present in "Bakkunbumbungan" processed buffalo milk. The research steps included BAL isolation, initial phenotypic characterization, DNA extraction, amplification of the 16S rRNA gene via polymerase chain reaction (PCR) using the universal primers 27F and 1492R, sequencing, and phylogenetic analysis using the Neighbor-Joining method in the MEGA software. Molecular identification results successfully demonstrated that all BAL isolates obtained from the bumbungan tank are very closely related to Lactiplantibacillus plantarum, with a homology level of 99%–100%. This indicates that this species is the dominant BAL and plays a crucial role in the traditional buffalo milk fermentation process in Mamasa Regency. The bakkunbumbungan buffalo milk product from Mamasa Regency contains lactic acid bacteria (LAB). The results of sequencing and BLAST analysis showed that isolates S1, S2, S3, and S4 exhibited a very high degree of similarity to the species Lactobacillus plantarum or Lactiplantibacillus plantarum, with identity values ranging from 99.25% to 100%.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Article Info

Article history:

Received June 20, 2026

Revised June 23, 2026

Accepted June 25, 2026

Kata Kunci:

ABSTRAK

Bakkun bumbungan merupakan pangan fermentasi tradisional berbasis susu kerbau khas Kabupaten Mamasa, Sulawesi Barat, yang dibuat secara spontan di dalam wadah bambu tanpa penambahan kultur starter. Keunikan geografis dan metode pengolahan tradisional ini diduga menyeleksi komunitas Bakteri Asam Laktat (BAL) ini digenus yang spesifik. Namun, informasi ilmiah mengenai keanekaragaman jenis BAL pada produk ini masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi BAL dan mengetahui spesies BAL yang ada pada olahan susu kerbau Bakkun bumbungan. Tahapan penelitian meliputi isolasi BAL, karakterisasi fenotipik awal, ekstraksi



Bakteri Asam Laktat, Bakkun
Bumbungan, Identifikasi
Molekuler, 16S Rrna

DNA, amplifikasi gen 16S rRNA dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer universal 27F dan 1492R, sekuensing, serta analisis filogenetik menggunakan metode *Neighbor-Joining* pada perangkat lunak MEGA. Hasil identifikasi molekuler berhasil menunjukkan bahwa seluruh isolat BAL yang diperoleh dari Bakkun bumbungan memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat dengan *Lactiplantibacillus plantarum* tingkat homologi sebesar 99%-100%. Hal ini mengindikasikan bahwa spesies tersebut merupakan BAL dominan yang berperan penting dalam proses fermentasi susu kerbau tradisional asal Kabupaten Mamasa. Olahan susu kerbau Bakkun bumbungan asal Kabupaten Mamasa mengandung bakteri asam laktat (BAL). Hasil analisis sekuensing dan BLAST menunjukkan bahwa isolat S1, S2, S3, dan S4 memiliki tingkat kemiripan yang sangat tinggi dengan spesies *Lactobacillus plantarum* atau *Lactiplantibacillus plantarum*, dengan nilai *identity* sebesar 99,25–100%.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

Okta Sesilia Demmalino
Universitas Megarezky Makassar
E-mail: demmalino17@gmail.com

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keberagaman hayati dan budaya yang tercermin dalam berbagai produk pangan fermentasi tradisional berbasis susu kerbau (Hillman et al., 2025). Masyarakat di berbagai daerah di Nusantara telah mengembangkan kearifan lokal dalam memanfaatkan susu kerbau menjadi produk olahan yang tidak hanya tahan lama tetapi juga memiliki nilai gizi dan fungsional yang tinggi. Produk-produk seperti produk pangan dadih yang berasal dari Sumatera Barat, dangke dari Sulawesi Selatan, dali ni horbo dari Sumatera Utara, serta bakkun bumbungan berasal dari Mamasa. Setiap produk memiliki keunikan tersendiri dalam hal metode pengolahan, wadah fermentasi, serta karakteristik mikrobiologis (Putri et al., 2021).

Salah satu produk fermentasi susu kerbau tradisional yang belum banyak dieksplorasi adalah bakkun bumbungan yang berasal dari Kabupaten Mamasa, Sulawesi Barat. Secara konseptual, produk ini memiliki kemiripan dengan dadih dari Sumatera Barat atau dangke dari Enrekang dengan bahan utama berupa susu kerbau yang difermentasi dalam wadah bambu (Mutmainna et al., 2025). Proses pengolahan bakkun bumbungan secara tradisional dilakukan dengan cara menyimpan susu kerbau segar ke dalam wadah bambu dan membiarkannya terfermentasi secara alami pada suhu ruang selama 2 sampai 3 hari. Keberadaan Bakteri Asam Laktat (BAL) indigenus yang secara alami terdapat dalam susu kerbau segar menjadi starter alami dalam fermentasi bakkun bumbungan. Kondisi lingkungan yang anaerobik dalam bambu serta kandungan karbohidrat dalam susu menyediakan kondisi ideal bagi pertumbuhan BAL (Sunaryanto et al., 2024).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri Gram positif yang memiliki kemampuan mengubah karbohidrat menjadi asam laktat sebagai produk utama metabolisme



fermentatif. Secara umum, BAL bersifat katalase negatif, tidak membentuk spora, dan dapat ditemukan pada berbagai bahan pangan, terutama produk fermentasi. Kelompok bakteri ini mencakup beberapa genus seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Enterococcus* yang memiliki karakter fisiologis dan metabolik serupa (Aýun *et al.*, 2023). Keberadaan BAL pada bahan pangan fermentasi berperan dalam proses pembentukan karakteristik produk melalui aktivitas fermentasi yang berlangsung secara alami maupun terkontrol. Identifikasi BAL saat ini tidak hanya didasarkan pada karakter morfologi dan biokimia, tetapi juga semakin banyak menggunakan pendekatan molekuler untuk memperoleh ketepatan identifikasi hingga tingkat spesies (Naulandari *et al.*, 2023)

BAL memiliki peran penting dalam bidang pangan, kesehatan, dan bioteknologi karena kemampuannya menghasilkan berbagai senyawa metabolit selama proses fermentasi. Dalam industri pangan, BAL banyak dimanfaatkan sebagai kultur starter untuk menghasilkan produk fermentasi dengan karakteristik mutu yang khas. Selain itu, beberapa spesies BAL diketahui memiliki sifat probiotik yang mampu mempertahankan keseimbangan mikrobiota usus dan mendukung fungsi fisiologis saluran pencernaan (Fatma *et al.*, 2022). Selain itu, BAL yang berasal dari pangan fermentasi dapat bermanfaat sebagai antimikroba yang efektif (Miladiarsi *et al.*, 2022). BAL juga berpotensi sebagai agen antikanker dan antiinflamasi (Dwinianti *et al.*, 2025). BAL dapat menghasilkan asam organik, metabolit primer serta menurunkan pH pada lingkungannya melalui eksresi senyawa penghambat bakteri patogen (Ardilla *et al.*, 2022). Dengan demikian, eksplorasi BAL dari bakkun bumbungan tidak hanya penting untuk melestarikan budaya, tetapi juga untuk pengembangan pangan fungsional berbasis sumber daya lokal.

Eksplorasi molekuler terhadap bal dari produk fermentasi tradisional seperti bakkun bumbungan menjadi langkah strategis dalam memetakan keanekaragaman hayati mikroba Indonesia. Hasil penelitian identifikasi BAL secara molekuler pada dadih dari Sumatera Barat telah berhasil mengidentifikasi berbagai spesies BAL seperti *Lactiplantibacillus plantarum* (Hillman *et al.*, 2025), *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis*, *Weissella paramesenteroides*, serta *Weissella sp.* (Wirawati *et al.*, 2019). Selain itu, pada dangke dari Sulawesi Selatan memiliki berbagai jenis BAL berupa *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum* (Kadir *et al.*, 2025).

Identifikasi BAL secara konvensional berdasarkan karakteristik morfologi koloni, pewarnaan Gram, serta uji fisiologi-biokimia (seperti uji katalase dan tipe fermentatif) seringkali menghadapi keterbatasan dalam membedakan spesies yang memiliki profil fenotipik mirip, terutama pada genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Weissella*. Metode konvensional juga memerlukan waktu yang relatif lama dan tingkat akurasi yang rendah dalam determinasi taksonomi hingga tingkat spesies. Oleh karena itu, pendekatan identifikasi molekuler menjadi suatu kepastian untuk memperoleh hasil yang akurat dan dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah. Teknik molekuler, terutama yang menargetkan wilayah gen 16S rRNA, telah menjadi "gold standard" dalam identifikasi bakteri karena tingkat konservasi dan variabilitasnya yang sesuai untuk analisis filogenetik (Sharma *et al.*, 2020).

METODE PENELITIAN

Metode penelitian dilakukan melalui beberapa tahapan Dimana dimulai dari bakteri asam laktat diisolasi dari sampel olahan susu kerbau Bakkun bumbungan dengan menerapkan teknik



pengenceran pada media MRSA. Proses aseptik dilakukan dengan melarutkan 1 gram olahan susu kerbau Bakkun bumbungan dalam air steril. Pengenceran bertahap dilakukan dari 10-1 hingga 10-6. Setiap seri pengenceran dituangkan sebanyak 0,1 mL ke medium MRS yang mengandung 0,5 % CaCO_3 , kemudian petri dish diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Ardeni et al., 2025). Kemudian dilanjutkan dengan peremajaan bakteri.

Peremajaan bakteri merujuk pada metode yang dilakukan (Asnita & Meryandini, 2023). Peremajaan isolate bakteri asam laktat dilakukan dengan menumbuhkan kembali biakan murni pada media MRSA (*de Man Rogosa Sharpe* Agar). Biakan diambil menggunakan ose steril, kemudian digoreskan pada permukaan media dalam cawan petri menggunakan teknik streak kuadran untuk memperoleh koloni terpisah. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dalam kondisi anaerob. Koloni yang tumbuh digunakan untuk uji molekuler.

Tahapan selanjutnya yaitu Ekstraksi DNA dilakukan untuk memisahkan DNA gemon dari senyawa lainnya. Tahap pertama sebanyak 1,5 mL kultur bakteri asam laktat yang telah ditumbuhkan pada media MRS Broth selama 24 jam disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit untuk memperoleh endapan. Setelah disentrifugasi selesai, supernatant dibuang secara hati-hati dan endapan yang terbentuk di dasar tabung digunakan sebagai bahan ekstraksi DNA.

Endapan sel kemudian dipindahkan ke dalam tabung ZR BashingBead™ Lysis Tube yang telah disediakan dalam kit. Selanjutnya ditambahkan 750 μL ZymoBIOMICS™ Lysis Solution. Sampel kemudian dihomogenkan menggunakan vortex berkecepatan tinggi selama ± 10 menit untuk membantu proses penghancuran dinding dan membran sel bakteri.

Setelah proses homogenisasi selesai, tabung disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit untuk memisahkan debris sel dengan supernatan yang mengandung DNA. Sebanyak ± 400 μL supernatant dipindahkan ke tabung baru dan ditambahkan 1.200 μL DNA Binding Buffer lalu dihomogenkan. Campuran kemudian dipindahkan ke kolom pemurnian DNA (spin column) dan disentrifugasi sehingga DNA dapat berikatan dengan membransilika pada kolom.

Kolom kemudian dicuci menggunakan DNA Wash Buffer sebanyak 500 μL dan dilakukan pengulangan dua kali untuk menghilangkan protein, sisa dinding sel, garam, dan kontaminan lainnya yang dapat mengganggu proses amplifikasi DNA. Setelah tahap pencucian selesai, kolom disentrifugasi kembali untuk menghilangkan sisa larutan pencuci yang masih tertinggal pada membran.

Tahap berikutnya adalah elusi DNA. Kolom dipindahkan ke tabung mikrocentrifuge steril yang baru, kemudian ditambahkan 50 μL DNA Elution Buffer tepat pada bagian tengah membrane kolom. Sampel didiamkan selama 1–2 menit pada suhu ruang agar DNA terlarut secara optimal. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit untuk memperoleh DNA hasil ekstraksi. Kemudian dilakukan Amplifikasi gen 16S rRNA dengan PCR.

Identifikasi molekuler dilakukan berbasis sekuensing gen 16S rRNA. Isolasi DNA genomik diekstraksi menggunakan kit DNA Zymo Research. Amplifikasi PCR menggunakan 5 μL templat DNA, GoTaq PCR mix, serta pasangan primer 27F dan 1492R. Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 25 μL yang terdiri atas 12,5 μL 2× PCR Master Mix, 1 μL primer forward 27F (10 μM), 1 μL primer reverse 1492R (10 μM), 2 μL DNA templat, dan nuclease-free water hingga mencapai volume akhir 25 μL . Program amplifikasi dilakukan sebanyak 35



siklus, diawali dengan denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan denaturasi pada 95°C selama 30 detik, annealing pada 55°C selama 30 detik, dan ekstensi pada 72°C selama 90 detik. Setelah 35 siklus selesai, dilakukan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit, kemudian sampel disimpan pada suhu 4° C hingga digunakan untuk analisis lebih lanjut. Produk PCR selanjutnya divisualisasikan menggunakan elektroforesis gel agarosa 1% untuk mengonfirmasi keberhasilan amplifikasi fragmen gen 16S rRNA dengan ukuran sekitar ± 1.500 bp. Kemudian dilakukan Elektroforesis dengan menggunakan gel agarosa 1%.

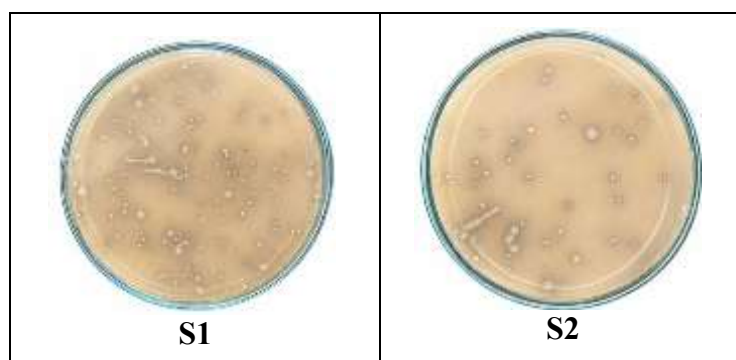
Visualisasi fragmen DNA hasil isolasi dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarosa 1%. Gel dibuat dengan melarutkan 0,50 gram bubuk agarosa dalam 50,00 mL buffer TAE 1x menggunakan *microwave* hingga mendidih. Setelah ditambahkan 1,00 μ L *Etidium Bromida* (EtBr) dan dihomogenkan, larutan dituangkan kedalam cetakan yang telah dipasang sisir sumuran. Setelah gel memadat, sisir dilepas dan gel dimasukkan kedalam tangki elektroforesis hingga terendam buffer TAE 1x. Sebanyak 1,00 μ L sampel DNA dicampur dengan 1,00 μ L *loading dye*, lalu dimasukkan ke dalam sumuran gel. Sebagai pembanding, digunakan DNA *ladder* 1 kb yang telah dicampur 1,00 μ L *loading dye*. Proses elektroforesis dijalankan pada tegangan konstan 80 V dan arus 400 mA selama 45 menit. Pita DNA yang terbentuk kemudian diamati dan didokumentasikan menggunakan *UV-transilluminator*.

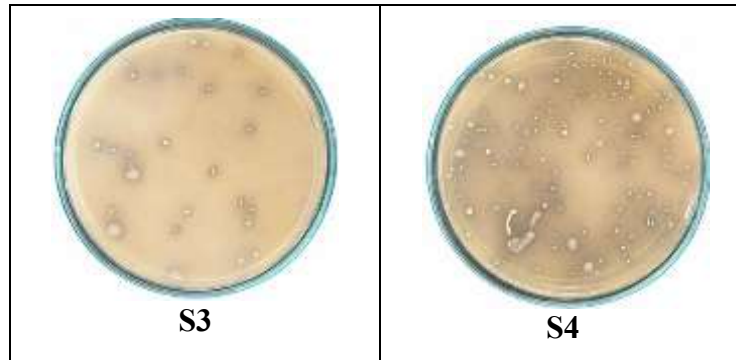
Data dianalisis secara deskriptif. Hasil PCR diamati melalui visualisasi pita DNA pada gel agarosa. Data sekuens gen 16S rRNA dianalisis menggunakan program BLAST pada database GenBank NCBI untuk menentukan tingkat kemiripan dengan spesies referensi. Hubungan kekerabatan isolat dianalisis menggunakan perangkat lunak MEGA dan disajikan dalam bentuk pohon filogenetik. Hasil analisis digunakan untuk menentukan identitas bakteri asam laktat yang terdapat pada olahan susu kerbau Bakkun bumbungan asal Kabupaten Mamasa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

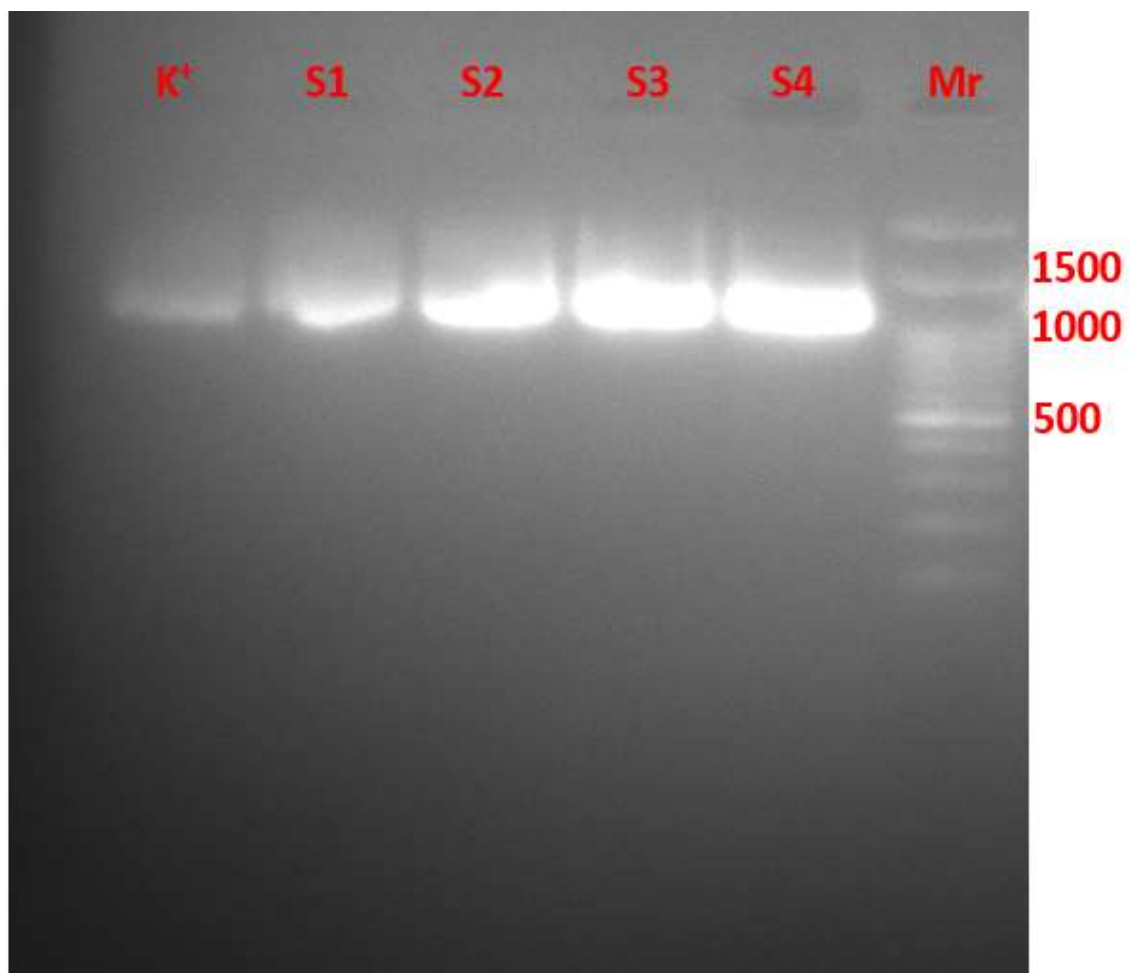
Berikut ini merupakan isolat bakteri asam laktat (BAL) hasil isolasi dari pangan fermentasi tradisional Bakkun bumbungan asal Mamasa. Hasil isolasi diperoleh 4 isolat BAL yang diberi kode S1 (sampel 1), S2 (sampel 2), S3 (sampel 3) dan S4 (sampel 4).





Gambar 4.1 Hasil isolasi bakteri asam laktat (BAL)

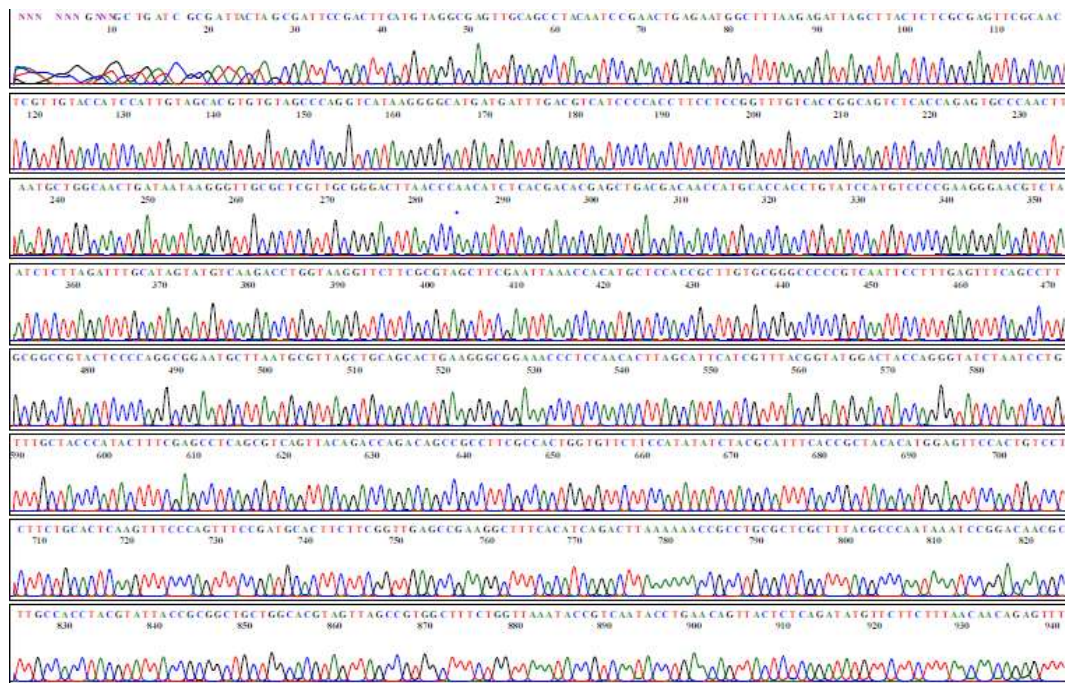
Hasil elektroforesis DNA bakteri asam laktat (BAL) dengan menggunakan gen penanda 16s rRNA. Adanya pita (*band*) hasil elektroforesis DNA menandakan bahwa DNA sampel BAL berhasil teramplifikasi.



Gambar 4.2 Hasil elektroforesis DNA bakteri asam laktat (BAL)

Keterangan :

- K⁺ = Kontrol positif berupa bakteri *Escherichia coli*;
- S1-S4 = Sampel olahan susu kerbau Bakkun bumbungan asal kabupaten Mamasa;
- Mr = Marker Ladder



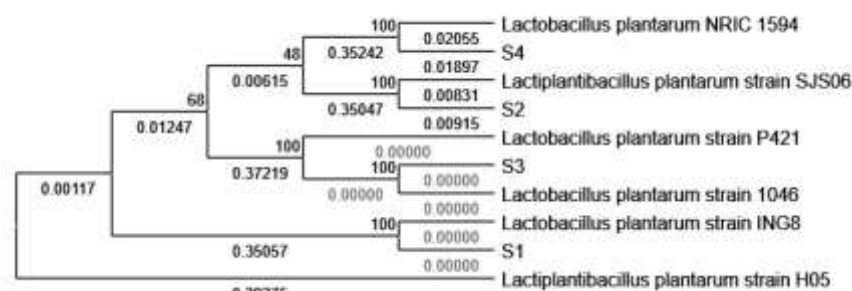
Gambar 4.3 Hasil Sekuensing DNA

Analisis homologi urutan basa nitrogen bakteri asam laktat (BAL) menggunakan BLAST yang terangkum dalam Tabel di bawah ini :

Tabel 4.1 Hasil Blast Data Squencing

Kode Sampel	Bakteri Asam Laktat (BAL)	Query Cover	Identities	Accession
S1	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain ING8	100 %	100 %	MT358332.1
S2	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> strain SJS06	100 %	100 %	PQ538500.1
S3	<i>Lactobacillus plantarum</i> strain P421	95 %	100 %	GQ360031.1
S4	<i>Lactobacillus plantarum</i> NRIC 1594	100 %	99.25 %	CP128870.1

Berikut ini adalah hasil analisis pohon filogenetik bakteri asam laktat (BAL) untuk melihat hubungan kekerabatan dan estimasi jarak genetik antara isolat uji (S1, S2, S3, dan S4) dengan strain acuan dilakukan melalui rekonstruksi pohon filogenetik.



**Gambar 4.4** Pohon Filogenik bakteri asam laktat (BAL)**B. Pembahasan**

Bakkun bumbungan adalah makanan fermentasi asal Mamasa dari olahan susu kerbau yang di simpan pada wadah bambu selama 2 sampai 3 hari. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri asam laktat (BAL) pada olahan susu kerbau fermentasi bakkun bumbungan asal Kabupaten Mamasa serta mengidentifikasi spesies BAL yang terdapat di dalamnya melalui pendekatan molekuler menggunakan analisis gen 16S rRNA.

Tahapawal penelitian ini dilakukan dengan isolasi bakteri dari sampel Bakkun bumbungan dengan penampakan zona bening di sekitaran koloni yang menandakan bahwa bakteri tersebut termasuk kedalam BAL yang dibuktikan pada gambar 4.1, terlihat bahwa terdapat 4 koloni murni yang berhasil diisolasi dan dilabeli dengan simbol S1-S4. Pada setiap koloni terlihat ada zona bening disekitarnya, ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ardeni dkk, 2025, yang menyatakan bahwa bakteri yang muncul dengan zona jernih (halo) yang mengelilingi koloni pada permukaan media MRSA dengan penambahan CaCO_3 0,5% termasuk dalam kategori bakteri asam laktat.

Tahap selanjutnya yaitu identifikasi secara molekuler, proses ini dimulai dengan ekstraksi DNA pada 4 sampel / bakteri yaitu S1-S4 dengan menggunakan KIT Zymo Research. Ekstraksi DNA dengan menggunakan KIT Zymo Research. Kultur bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit. Endapan sel kemudian dimasukkan ke dalam Lysis Tube dan ditambahkan larutan lisis. Sampel dihomogenisasi menggunakan vortex untuk melisiskan sel bakteri. Setelah proses lisis, sampel disentrifugasi dan supernatan dipindahkan ke kolom pemurnian DNA. DNA dimurnikan melalui tahap pengikatan pada membran silika, pencucian, penghilangan inhibitor PCR, dan elusi menggunakan DNA Elution Buffer dan selanjutnya masuk ditahap amplifikasi gen 16S rRNA.

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan metode PCR dengan primer universal 16S rRNA, yaitu primer forward 27F dan primer reverse 1492R. Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 25 μL yang terdiri atas master mix PCR, primer forward dan reverse, DNA templat, serta nuclease-free water. Program amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus, diawali dengan denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan denaturasi pada 95°C selama 30 detik, annealing pada 55°C selama 30 detik, dan ekstensi pada 72°C selama 90 detik. Setelah 35 siklus selesai, dilakukan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit, kemudian produk PCR selanjutnya divisualisasikan menggunakan elektroforesis gel agarosa 1% untuk mengonfirmasi keberhasilan amplifikasi fragmen gen 16S rRNA dengan ukuran sekitar ± 1.500 bp.

Metode identifikasi berbasis gen 16S rRNA saat ini menjadi standar dalam identifikasi bakteri karena mampu memberikan informasi taksonomi yang lebih akurat dibandingkan metode fenotipik konvensional, terutama untuk membedakan spesies yang memiliki karakteristik morfologi dan biokimia yang serupa (Johnson et al., 2019).

Berdasarkan hasil elektroforesis pada Gambar 4.2, terlihat adanya pita DNA pada seluruh sampel (S1, S2, S3, dan S4) dengan ukuran 1300, ini menunjukkan bahwa hasil pemisahan fragmen DNA hasil amplifikasi gen 16S rRNA dari keempat isolat sampel olahan susu kerbau (S1–S4) serta kontrol positif. Berdasarkan visualisasi pita, semua sampel menunjukkan satu pita tunggal yang tegas pada posisi yang sejajar dengan pita kontrol positif, yaitu diperkirakan berukuran sekitar 1300 pasang basa (bp) jika dibandingkan dengan penanda ukuran



(Mr *Ladder*). Ukuran ini sangat khas untuk gen 16S rRNA pada bakteri, sehingga mengonfirmasi bahwa proses amplifikasi berjalan secara spesifik. Tidak ditemukan pita tambahan atau *smear* (noda melebar) pada jalur mana pun, yang mengindikasikan bahwa tidak terjadi amplifikasi non-spesifik maupun degradasi DNA selama proses PCR (Jeong et al., 2022).

Primer 16S rRNA adalah sekuens pendek yang dirancang untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA, yang memiliki daerah konservatif di antara semua bakteri dan daerah variabel untuk identifikasi spesies (Johnson et al., 2019). Keunggulan primer universal ini adalah kemampuannya mendeteksi berbagai bakteri tanpa perlu kultur, sehingga sangat efisien untuk sampel kompleks seperti produk fermentasi. Keberhasilan amplifikasi ditandai dengan pita tunggal pada elektroforesis, yang membuktikan spesifisitas primer dan kelayakan hasil untuk identifikasi melalui analisis BLAST (Fontana et al., 2021).

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa intensitas cahaya pada pita sampel S1 dan S2 memiliki pita yang lebih terang dan jelas dibandingkan S3 dan S4. Perbedaan intensitas ini mencerminkan perbedaan konsentrasi produk PCR yang dihasilkan. Pita yang lebih terang menunjukkan bahwa jumlah templat DNA awal pada S1 dan S2 relatif lebih banyak atau kondisi PCR (seperti suhu anealing dan jumlah siklus) lebih optimal untuk kedua sampel tersebut. Sebaliknya, intensitas pita yang sedikit lebih redup pada S3 dan S4 masih dalam batas dapat diterima karena pita tetap tegas dan tidak putus-putus, sehingga produk PCR tersebut tetap layak untuk dilanjutkan ke tahap sekuensing (Tanimura et al., 2022).

Pita yang redup namun tunggal dan berukuran tepat masih cukup memberikan informasi genetik yang valid setelah proses pemurnian (Crossley et al., 2020). Secara keseluruhan, hasil elektroforesis ini membuktikan bahwa keempat isolat dari olahan susu kerbau bakkun Kabupaten Mamasa berhasil diamplifikasi gen 16S rRNA-nya tanpa kontaminasi, sehingga data ini menjadi dasar yang kuat untuk identifikasi spesies bakteri melalui analisis sekuensing dan BLAST (Millannia et al., 2023).

Penggunaan primer universal 16S rRNA tidak hanya berfungsi untuk mengonfirmasi keberadaan DNA bakteri, tetapi juga memastikan bahwa fragmen yang teramplifikasi berasal dari gen homolog pada semua isolat, sehingga analisis homologi sekuens untuk identifikasi spesies melalui BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) dapat dilakukan secara valid.

Setelah proses PCR berhasil mengamplifikasi fragmen gen 16S rRNA, selanjutnya dilakukan tahapan sekuensing DNA untuk menentukan nama spesies dari setiap isolat bakteri asam laktat. Sekuensing DNA bekerja dengan membaca urutan nukleotida penyusun fragmen gen yang telah diamplifikasi, sehingga diperoleh urutan basa nitrogen (A, T, G, C) yang unik untuk setiap pada setiap isolat bakteri asam laktat (BAL) (Zhang et al., 2022).

Berdasarkan data sekuensing yang tersaji pada Gambar 4.3, sampel S1 tersebut merupakan hasil terbaik di antara empat sampel yang dianalisis. Hal ini ditunjukkan oleh kualitas kromatogram yang relatif bersih, serta panjang sekuens yang terbaca mencapai lebih dari 1300 bp. Keberhasilan ini kemungkinan disebabkan oleh kemurnian produk PCR yang lebih baik pada sampel tersebut, seperti yang terlihat dari pita elektroforesis yang tegas dan terang. Sekuens basa yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan BLAST untuk menentukan spesies isolat.

Berdasarkan Tabel 4.1 menunjukkan bahwa sampel S1 teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* strain ING8 dengan nilai *query cover* 100% dan identity 100%.



Sampel S2 menunjukkan kemiripan 100% dengan *Lactiplantibacillus plantarum* strain SJS06. Sampel S3 memiliki *query cover* 95% dan *identity* 100% terhadap *Lactobacillus plantarum* strain P421, sedangkan sampel S4 menunjukkan *query cover* 100% dan *identity* 99,25% dengan *Lactobacillus plantarum* strain NRIC 1594.

Nilai *query cover* dan *identity* yang tinggi menunjukkan bahwa urutan DNA hasil penelitian memiliki kesamaan yang sangat dekat dengan spesies yang terdapat dalam database GenBank. Menurut Kumar *et al.*, 2023, nilai *identity* di atas 98,7% pada gen 16S rRNA umumnya sudah cukup untuk mengidentifikasi bakteri hingga tingkat spesies (Hackmann, 2025).

Temuan ini menunjukkan bahwa BAL yang mendominasi pada Bakkun bumbungan adalah kelompok *Lactiplantibacillus plantarum*. Spesies ini merupakan salah satu BAL yang paling sering ditemukan pada berbagai produk fermentasi tradisional berbasis susu, daging, sayuran, maupun sereal. Keberadaannya menunjukkan bahwa proses fermentasi pada Bakkun bumbungan berlangsung secara alami dengan dominasi bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat dalam jumlah tinggi.

Dominasi *Lactiplantibacillus plantarum* pada penelitian ini sejalan dengan berbagai penelitian terkini yang melaporkan bahwa spesies tersebut merupakan BAL utama pada produk fermentasi tradisional. Bakteri ini memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap berbagai kondisi lingkungan seperti pH rendah, kadar garam tinggi, dan variasi suhu selama proses fermentasi (Yilmaz *et al.*, 2022).

Selain berperan dalam fermentasi, *L. plantarum* juga dikenal sebagai bakteri yang memiliki potensi probiotik. Bakteri ini mampu menghasilkan asam laktat, bakteriosin, hidrogen peroksida, dan berbagai metabolit antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa *L. plantarum* berpotensi meningkatkan kesehatan saluran pencernaan, memperkuat sistem imun, dan menjaga keseimbangan mikrobiota usus (Wang *et al.*, 2023).

Keberadaan *L. plantarum* pada Bakkun bumbungan menunjukkan bahwa makanan tradisional tersebut tidak hanya memiliki nilai budaya dan ekonomi, tetapi juga berpotensi sebagai pangan fungsional yang mengandung mikroorganisme menguntungkan. Berdasarkan hasil analisis rekonstruksi pohon filogenetik Gambar 4.4, dapat diketahui hubungan kekerabatan serta kedekatan evolusioner antara keempat isolat sampel S1, S2, S3, dan S4 terhadap beberapa galur acuan (*reference strains*) dari kelompok bakteri asam laktat *Lactiplantibacillus plantarum* (dahulu diklasifikasikan sebagai *Lactobacillus plantarum*).

Isolat sampel S1 menunjukkan hubungan kekerabatan yang paling dekat dengan galur acuan *Lactobacillus plantarum* strain ING8. Kedua entitas ini berada dalam satu sub-klaster yang sama dengan nilai *bootstrap* sebesar 100, yang menandakan bahwa tingkat reliabilitas dan validitas dari pengelompokan tersebut bersifat mutlak dan sangat konsisten melalui pengujian replikasi. Kedekatan genetik yang sangat identik ini diperkuat oleh nilai jarak genetik horizontal sebesar 0,00000 baik pada cabang isolat S1 maupun cabang *strain* ING8. Nilai desimal nol tersebut mengindikasikan tidak adanya perbedaan sekuens nukleotida atau bersifat homolog pada fragmen gen yang dianalisis. Menurut Fatma *et al.*, 2022, nilai jarak genetik mutlak (0,00000) yang didukung nilai *bootstrap* tinggi menunjukkan tingkat konservasi urutan basa yang sangat stabil pada galur lokal terhadap database referensi global NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Adapun angka desimal 0,35057 yang terletak di bawah lengan



internal merupakan jarak evolusioner yang memisahkan sub-klaster (S1 dan *strain* ING8) dari simpul leluhur bersama (*common ancestor*) di atasnya.

Isolat sampel S2 mengelompok bersama dengan galur acuan *Lactiplantibacillus plantarum strain* SJS06 pada klaster tersendiri yang didukung oleh nilai *bootstrap* maksimal sebesar 100. Tingginya nilai dukungan ini menegaskan kepastian taksonomi yang kuat pada tingkat percabangan tersebut. Meskipun berada dalam satu klaster yang kokoh, kedua bakteri ini menunjukkan adanya divergensi genetik minor yang ditunjukkan oleh perbedaan nilai panjang cabang horizontal. Isolat S2 memiliki nilai jarak genetik sebesar 0,00831, sedangkan *strain* SJS06 memiliki nilai sebesar 0,01897 dari simpul pembaginya. Munculnya variasi nilai jarak genetik yang minor pada isolat lokal ini dapat dipahami sebagai bentuk mikroevolusi atau adaptasi lingkungan. Mao et al., 2021, menyatakan isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari ekosistem atau geografis berbeda cenderung mengakumulasi mutasi titik (*Single Nucleotide Polymorphism*/SNP) minor guna beradaptasi dengan substrat spesifiknya, yang secara visual terefleksi sebagai perbedaan panjang lengan pada pohon filogenetik. Lengan internal yang menghubungkan simpul bersama klaster ini menuju percabangan utama di atasnya memiliki nilai jarak genetik sebesar 0,35047.

Hubungan filogenetik pada isolat sampel S3 memperlihatkan pengelompokan yang sangat kuat bersama galur acuan *Lactobacillus plantarum strain* 1046 dengan nilai *bootstrap* mutlak sebesar 100. Kedekatan yang bersifat identik ditunjukkan oleh nilai jarak genetik horizontal yang bernilai 0,00000 pada cabang isolat S3 maupun cabang *strain* 1046, yang berarti tidak ada perbedaan sekuens basa nitrogen yang terdeteksi pada fragmen gen target. Sub-klaster ini selanjutnya membentuk kelompok yang lebih besar dengan *Lactobacillus plantarum strain* P421 yang didukung oleh nilai *bootstrap* 100. Hubungan evolusioner dengan *strain* P421 dipisahkan oleh nilai jarak genetik internal sebesar 0,37219, diikuti oleh jarak genetik ke arah *strain* P421 sebesar 0,00000 yang menandakan *strain* P421 juga memiliki sekuens yang identik pada titik percabangan tersebut. Hubungan kelompok besar ini menuju simpul leluhur di atasnya dijematani oleh jarak genetik basis sebesar 0,01247 dengan nilai *bootstrap* internal sebesar 68. Nilai *bootstrap* 68 menunjukkan tingkat kepercayaan yang moderat, di mana terdapat variasi topologi sebesar 32% pada simulasi pengujian, namun tetap dianggap valid dalam batas rekonstruksi filogenetik standar (60–70%).

Isolat sampel S4 ditemukan berada pada klaster yang sama dengan galur acuan *Lactobacillus plantarum* NRIC 1594 dengan dukungan nilai *bootstrap* pembagi sebesar 48. Nilai *bootstrap* sebesar 48 ini tergolong rendah (di bawah 50), yang mengindikasikan bahwa pengelompokan antara S4 dan *strain* NRIC 1594 memiliki variabilitas topologi yang tinggi atau kurang stabil saat dilakukan pengujian replikasi berulang. Selain itu, kedua galur ini telah mengalami divergensi evolusioner yang cukup signifikan, dibuktikan oleh nilai jarak genetik horizontal yang cukup kontras. Isolat S4 memiliki nilai panjang cabang sebesar 0,35242, sedangkan *strain* NRIC 1594 hanya sebesar 0,02055. Tingginya nilai desimal pada isolat S4 mengindikasikan banyaknya akumulasi mutasi atau substitusi basa nitrogen yang terjadi pada isolat lokal ini sejak terpisah dari leluhur bersama mereka.

Dominasi *Lactiplantibacillus plantarum* pada olahan susu kerbau Bakkun bumbungan diduga berkaitan dengan kemampuannya memanfaatkan laktosa sebagai sumber energi dan menghasilkan asam laktat selama proses fermentasi. Produksi asam laktat menyebabkan penurunan pH sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk maupun



patogen. Selain itu, beberapa strain *L. plantarum* diketahui mampu menghasilkan bakteriosin dan senyawa bioaktif lain yang berkontribusi terhadap keamanan pangan dan potensi probiotik produk fermentasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa olahan susu kerbau bukkun bumbungan asal Kabupaten Mamasa mengandung bakteri asam laktat (BAL). Hasil analisis sekuensing dan BLAST menunjukkan bahwa isolat S1, S2, S3, dan S4 memiliki tingkat kemiripan yang sangat tinggi dengan spesies *Lactobacillus plantarum* atau *Lactiplantibacillus plantarum*, dengan nilai *identity* sebesar 99,25–100%. Dengan demikian, dapat dinyatakan bahwa spesies bakteri asam laktat yang ditemukan pada olahan susu kerbau bukkun bumbungan dalam penelitian ini adalah *Lactiplantibacillus plantarum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardeni, I., Irma, A., & Binti Lukman, J. (2025). *Characterization Of Lactic Acid Bacteria From Chao Pangkep Food Fermentation Products Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Produk Fermentasi Makanan Chao Pangkep Article Info Abstract*. 2(2).
- Ardilla, Y. A., Anggreini, K. W., & Rahmani, T. P. D. (2022). Peran bakteri asam laktat indigen genus *Lactobacillus* pada fermentasi buah durian (*Durio zibethinus*) sebagai bahan pembuatan tempoyak. *Berkala Ilmiah Biologi*, 13(2), 42–52. <https://doi.org/10.22146/bib.v13i1.4619>
- Asnita, D., & Meryandini, A. (2023). *Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik dari Susu Kuda Bima Lactic Acid Bacteria from Bima Horse's Milk as a Probiotic Candidates. Sumberdaya Hayati*, 9(2), 49–54. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/sumberdayahayati>
- Ayun, Q., Muthiah, S. N., & Sukmalara, D. (2023). Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Jus Tempe Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 8(2), 171. <https://doi.org/10.36722/sst.v8i2.1673>
- Crossley, B. M., Bai, J., Glaser, A., Maes, R., Porter, E., Killian, M. L., Clement, T., & Toohey-Kurth, K. (2020). *Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 32(6), 767–775. <https://doi.org/10.1177/1040638720905833>
- Dwinianti, E., Neliana, I. R., & Prasetyo, F. H. H. (2025). Review: Potensi Bakteri Asam Laktat (Bal) Untuk Meningkatkan Mutu Produk Pangan. *Jurnal Biosense*, 8(3), 263–278. <https://doi.org/10.36526/biosense.v8i3.5219>
- Fatma, I. I., Nuraida, L., & Faridah, D. N. (2022). Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat Asal Madu dari Tiga Jenis Lebah yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 33(2), 189–199. <https://doi.org/10.6066/jtip.2022.33.2.189>
- Fontana, D. C., Neto, D. D., Pretto, M. M., Mariotto, A. B., Caron, B. O., Kulczynski, S. M., & Schmidt, D. (2021). *Using essential oils to control diseases in strawberries and peaches. International Journal of Food Microbiology*, 338, 108980. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108980>
- Hackmann, T. J. (2025). *Setting new boundaries of 16S rRNA gene identity for prokaryotic taxonomy. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 75(4). <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006747>



- Hillman, P. F., Titisari, G. L., & Syafrizayanti, S. (2025). *Harnessing Indigenous Fermentation: Probiotic Lactic Acid Bacteria from West Sumatera's Dadih*. *Jurnal Riset Kimia*, 16(2), 39–50. <https://doi.org/10.25077/jrk.v16i2.853>
- Jeong, M., Nam, G. W., Heo, E. J., Kim, M.-G., Kwak, H.-S., Kim, S. H., & Suh, S. H. (2022). *Comparison of enrichment methods for isolating Enterohemorrhagic Escherichia coli in kimchi*. *Journal of Microbiological Methods*, 200, 106543. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2022.106543>
- Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B.-Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S. R., Hanson, B. M., Agresta, H. O., Gerstein, M., Sodergren, E., & Weinstock, G. M. (2019). *Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis*. *Nature Communications*, 10(1), 5029. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>
- Mao, B., Yin, R., Li, X., Cui, S., Zhang, H., Zhao, J., & Chen, W. (2021). *Comparative Genomic Analysis of Lactiplantibacillus plantarum Isolated from Different Niches*. *Genes*, 12(2), 241. <https://doi.org/10.3390/genes12020241>
- Miladiarsi, Irma, A., & Wahdaniar. (2022). *Produksi Minuman Fermentasi Probiotik yang Bermanfaat Bagi Kesehatan Tubuh di Kantor Desa Moncongloe Bulu, Kecamatan Moncongloe, Kab. Maros*. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Teknologi Kesehatan*, 3(2), 22–28.
- Millannia, S. K., Khairullah, A. R., Effendi, M. H., Utama, S., Kurniawan, S. C., Afnani, D. A., Silaen, O. S. M., Ramadhani, S., Ramandinianto, S. C., Waruwu, Y. K. K., Widodo, A., Putra, G. D. S., Farizqi, M. T. I., & Riwu, K. H. P. (2023). *Phenotypic detection strategies of multidrug-resistant Staphylococcus aureus isolated from cat nasal swab in Madiun city, Indonesia*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(2). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240233>
- Mutmainna, A., Arief, I. I., Budiman, C., Abidin, Z., & Wulandari, Z. (2025). *Profiling of Dominant Bacteria in Traditional Buffalo Milk Cheese “Dangke” Based on 16S rRNA Sequencing*. *Tropical Animal Science Journal*, 48(5), 450–461. <https://doi.org/10.5398/tasj.2025.48.5.450>
- Naulandari, M., Kurniatuhadi, R., & Rahmawati. (2023). *Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Rebung Bambu Apus (Gigantochloa apus) yang Difermentasi*. *Life Science*, 12(1), 18–31. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/LifeSci>
- Putri, M. T., Juliyarsi, I., Roza, E., & Purwati, E. (2021). *Proximate analysis of Dadih from Kapau, Agam Regency, West Sumatera, Indonesia*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 888(1), 012044. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/888/1/012044>
- Sharma, A., Lee, S., & Park, Y.-S. (2020). *Molecular typing tools for identifying and characterizing lactic acid bacteria: a review*. *Food Science and Biotechnology*, 29(10), 1301–1318. <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00802-x>
- Sunaryanto, R., Lentaya, H. O., Putra, I. G. E. P., Rudyono, Damayanti, E., Wahono, S. K., & Basuki, W. (2024). *Isolation and characterization of bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum derived Indonesian traditional fermented buffalo milk*. 060009. <https://doi.org/10.1063/5.0183929>
- Tanimura, Y., Hiroaki, Y., Mori, M., & Fujiyoshi, Y. (2022). *Cell-based flow cytometry assay*



- for simultaneous detection of multiple autoantibodies in a single serum sample. Analytical Biochemistry*, 650, 114721. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2022.114721>
- Wang, Y., Zhang, C., Liu, F., Jin, Z., & Xia, X. (2023). *Ecological succession and functional characteristics of lactic acid bacteria in traditional fermented foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(22), 5841–5855. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2025035>
- Wirawati, C. U., Sudarwanto, M. B., Lukman, D. W., Wientarsih, I., & Srihanto, E. A. (2019). *Diversity of lactic acid bacteria in dadih produced by either back-slopping or spontaneous fermentation from two different regions of West Sumatra, Indonesia. Veterinary World*, 12(6), 823–829. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.823-829>
- Yilmaz, B., Bangar, S. P., Echegaray, N., Suri, S., Tomasevic, I., Manuel Lorenzo, J., Melekoglu, E., Rocha, J. M., & Ozogul, F. (2022). *The Impacts of Lactiplantibacillus plantarum on the Functional Properties of Fermented Foods: A Review of Current Knowledge. Microorganisms*, 10(4), 826. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040826>
- Zhang, J., Shen, C., Shang, T. H., & Liu, J. L. (2022). *Difference responses of soil fungal communities to cattle and chicken manure composting application. Journal of Applied Microbiology*, 133(2), 323–339. <https://doi.org/10.1111/jam.15549>