



KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL IKAN RINUAH (PSILOPSIS SP) SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK HALAL DARI DANAU MANINJAU SUMATERA BARAT

CHARACTERIZATION AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF BACTERIA LACTIC ACID FROM RINUAH FISH (PSILOPSIS SP) AS A CANDIDATE FOR HALAL PROBIOTICS FROM MANINJAU LAKE, WEST SUMATRA

Annita*¹, Eliza², Heppy Setya Prima³

¹Prodi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Syedza Saintika, Padang, Indonesia

²Prodi Keperawatan, Universitas Syedza Saintika, Padang, Indonesia

³Prodi Biologi, Fakultas MIPA Universitas Negeri Medan, Medan, Indonesia

(Email: annitat67@gmail.com)

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat (BAL) akhir-akhir ini menjadi salah satu bagian dari pokok pembahasan bidang kesehatan, industri makanan, sains, peternakan, dan pertanian. BAL memainkan peran penting dalam upaya penurunan stunting melalui berbagai mekanisme yang berkaitan dengan kesehatan usus dan penyerapan nutrisi. Salah satu sumber BAL adalah fermentasi ikan Rinuah (*Psilopsis sp*) dari Danau Maninjau Sumatera Barat, Indonesia, yang diisolasi dari bakteri probiotik yang berpotensi sebagai antimikroba, namun harus dipastikan kehalalannya sesuai dengan ajaran agama Islam. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji potensi antimikroba BAL probiotik yang diisolasi dari ikan Rinuah (*Psilopsis sp*). Metode penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut: isolasi dan karakterisasi DNA BAL ikan Rinuah (*Psilopsis sp*), dilanjutkan dengan penilaian aktivitas antimikroba supernatan bakteriosin mentah. Kemudian, 16S rRNA digunakan untuk menilai spesies isolat BAL yang berpotensi memiliki aktivitas antimikroba. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 3 sampel ikan Rinuah (*Psilopsis sp*), setelah dilakukan uji kemampuannya dalam membunuh bakteri patogen dan ditemukan Isolat IR1 memiliki Aktivitas antimikroba terbesar terhadap *Escherichia coli* ATCC 0157 (30.27 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (25.65 mm) dan *Listeria monocytogenes* CFSAN 004330 (18.65 mm) sedangkan diameter zona hambat oleh supernatan bakteri asam laktat Bakteriosin mentah terhadap *Escherichia coli* ATCC 0157 sebesar 18.87 mm, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 22,67 mm sedangkan *Listeria monocytogenes* CFSAN 004330 tidak membentuk zona hambat. Hasil identifikasi molekuler menggunakan 16S rRNA menunjukkan bahwa bakteri asam laktat hasil isolasi memiliki kemiripan sebesar 99,64% yang diisolasi dari ikan Rinuah (*Psilopsis sp*) dengan *Lentilactobacillus buchneri* subsp. *silagei* CD034 strain 17-16, yaitu memiliki potensi antimikroba terhadap bakteri patogen. *Lentilactobacillus buchneri* subsp. *silagei* CD034 strain 17-16 dapat digunakan sebagai obat antidiare dan antitifoid pada manusia serta sebagai pengawet alami pada makanan yang terjamin halal.



Kata kunci : *Antimiroba, ikan rinuak, probiotik halal, ikan endemik, Lentilactobacillus buchneri subsp. silagei CD034 strain 17-16*

ABSTRACT

Lactic Acid Bacteria (LAB) have recently become one of the main topics of discussion in the fields of health, food industry, science, animal husbandry, agriculture. LAB plays an important role in efforts to reduce stunting through various mechanisms related to intestinal health and nutrient absorption. One source of LAB is fermented Rinuak fish (Psilopsis sp) from Lake Maninjau, West Sumatra, Indonesia, which is isolated from probiotic bacteria which have the potential to act as antimicrobials, but must be ensured that they are halal in accordance with Islamic religious teachings. The aim of this study was to examine the antimicrobial potential of probiotic LAB isolated from Rinuak fish (Psilopsis sp). The research methods carried out were as follows: isolation and characterization of Rinuak fish (Psilopsis sp) LAB DNA, followed by assessment of the antimicrobial activity of the raw bacteriocin supernatant. Then, 16S rRNA was used to assess LAB isolate species that potentially had antimicrobial activity. The results showed that 3 samples of Rinuak fish (Psilopsis sp), After testing its ability to kill pathogenic bacteria, it was found that IRI isolate had the greatest antimicrobial activity against Escherichia coli ATCC 0157 (30.27 mm), Staphylococcus aureus ATCC 25923 (25.65 mm) and Listeria monocytogenes CFSAN 004330 (18.65 mm) while the diameter of the inhibition zone by the supernatant of lactic acid bacteria Crude bacteriocin against Escherichia coli ATCC 0157 was 18.87 mm, Staphylococcus aureus ATCC 25923 was 22.67 mm while Listeria monocytogenes CFSAN 004330 did not form an inhibition zone. The results of molecular identification using 16S rRNA showed that the isolated lactic acid bacteria were 99.64% similar to those isolated from Rinuak fish (Psilopsis sp) with Lentilactobacillus buchneri subsp. silagei CD034 strain 17-16, which has antimicrobial potential against pathogenic bacteria. Lentilactobacillus buchneri subsp. silagei CD034 strain 17-16 can be used as an antidiarrheal and antityphoid drug in humans as well as a natural preservative in food that is guaranteed halal

Keywords: *Antimicrobial, Rinuak fish, halal probiotics, endemic fish, Lentilactobacillus buchneri subsp. Silagei CD034 strain 17-16*

PENDAHULUAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) akhir-akhir ini menjadi salah satu bagian dari pokok pembahasan bidang kesehatan, industri makanan, sains, peternakan, dan pertanian. BAL memainkan peran penting dalam upaya penurunan stunting melalui berbagai mekanisme yang berkaitan dengan kesehatan usus dan penyerapan nutrisi (Balthazar *et al.*, 2022). Stunting pada anak terjadi akibat kekurangan gizi kronis yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan anak, terutama pada 1000 hari pertama kehidupan (dari masa kehamilan hingga usia 2 tahun). BAL dapat membantu dalam proses ini karena memiliki manfaat langsung terhadap kesehatan pencernaan dan sistem kekebalan tubuh (Bhakta *et al.*, 2023).

BAL memiliki sifat fungsional menguntungkan bagi kesehatan manusia yaitu sebagai probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup apabila dikonsumsi dalam jumlah cukup, mampu memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya (Bhakta *et al.*, 2023). Peran Bakteri Asam Laktat dalam pencegahan dan penurunan stunting berfokus pada peningkatan kesehatan pencernaan, penyerapan nutrisi, pengurangan risiko infeksi, serta dukungan terhadap sistem kekebalan tubuh. Dengan intervensi berbasis probiotik yang mengandung BAL, serta konsumsi makanan fermentasi, BAL memberikan solusi yang efektif dan alami dalam mendukung tumbuh kembang



anak dan menurunkan prevalensi stunting (Pereira *et al.*, 2022)

BAL yang potensial perlu isolasi dan skrining BAL, identifikasi morfologi, karakterisasi biokimia, identifikasi DNA molekuler dan purifikasi hingga dapat digunakan sebagai probiotik untuk menjaga kesehatan total (Dang *et al.*, 2022). BAL yang potensial telah diidentifikasi dan karakterisasi secara molekuler maupun konvensional. dan telah dipatenkan yang mempunyai nilai tinggi pada berbagai bidang ilmu (Madjirebaye *et al.*, 2022). Hal ini karena BAL mempunyai keuntungan yaitu mencegah atau membunuh mikroba penyebab penyakit, maka diharapkan dapat mengatasi permasalahan di bidang Kesehatan terutama Stunting (Helmyati *et al.*, 2021).

Keberadaan beberapa strain BAL telah terbukti memiliki efek probiotik pada manusia. BAL dapat diisolasi dari produk hewan seperti pada produk ikan. Salah satunya ikan Rinuak (*Psilopsis SP*), merupakan sumber protein hewani yang potensial untuk dikembangkan karena memiliki kandungan gizi dalam dagingnya, yaitu protein sebesar 13,02 %, kandungan magnesium sebesar 0,18 %, kandungan fosfor sebesar 1,2 %, dagingnya mengandung kadar air sebesar 75,62 %, kandungan kadar abu sebesar 6,4 %, dan memiliki kandungan kalsium 40 % (Astuti *et al.*, 2016). Mengingat besarnya kandungan gizi dalam daging ikan Rinuak bagi kesehatan manusia, maka merupakan pilihan yang tepat untuk di kembangkan sebagai penghasil probiotik (Prima *et al.*, 2023)

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang, ketika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup, memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya, terutama dalam meningkatkan keseimbangan mikrobiota usus. Agar suatu strain mikroorganisme dapat dikategorikan sebagai probiotik, ia harus memenuhi serangkaian kriteria penting. Syarat-syarat ini penting untuk memastikan bahwa probiotik aman, efektif, dan mampu memberikan manfaat kesehatan yang diinginkan. Bakteri probiotik memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia, diantaranya

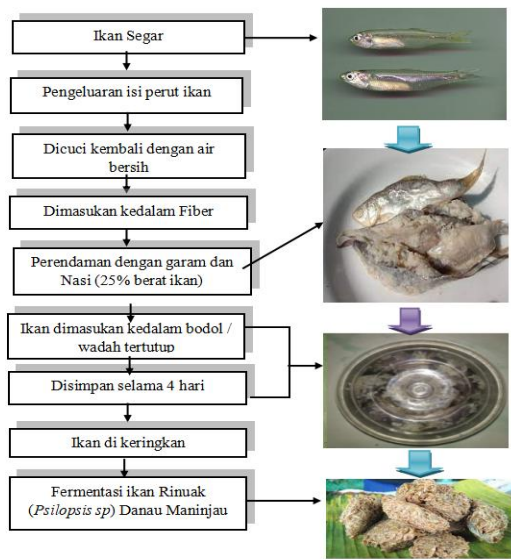
dalam sistem imunitas, sistem intestinal, sistem urogenital, dan manfaat lainnya (Prima *et al.*, 2023).

Isolasi dan identifikasi BAL asal ikan Rinuak (*Psilopsis SP*) perlu dilakukan untuk mendapatkan spesies BAL yang terdapat pada ikan Rinuak dan potensi sebagai probiotik yang bermanfaat bagi pangan, dan obat-obatan (Rosalina *et al.*, 2021). Berdasarkan hal tersebut, sangat penting dilakukan penelitian mengenai “Karakterisasi BAL Ikan Rinuak (*Psilopsis SP*) Sebagai Kandidat Probiotik Halal dari Danau Maninjau”. Adapun masalah dalam penelitian ini yaitu Bagaimana karakteristik dan Potensi BAL diisolasi dari Ikan Rinuak Danau Maninjau jika diidentifikasi secara makroskopis, mikroskopis dan molekuler.

BAHAN DAN METODE

Fermentasi ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) Danau Maninjau

Proses pembuatan fermentasi Ikan Rinuak sangat sederhana. Bahannya terdiri dari ikan, nasi, dan garam. Ikan dibersihkan, lalu ditambahkan garam dan nasi secukupnya, dimasukkan ke dalam botol dan ditutup rapat. Botol disimpan pada suhu ruang selama 4 hari dan di keringkan selama 3-5 hari (Prima *et al.*, 2022). Alur proses fermentasi ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) Danau Maninjau dapat di lihat pada gambar 1.



Gambar 1. Proses Fermentasi Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) oleh Masyarakat di Danau Maninjau

Lokasi Pengambilan Sampel Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*)

Sampel Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) dikumpulkan dari para nelayan di Danau Maninjau dilokasi berbeda di Kawasan danau dengan mempertimbangkan yaitu lokasi pengambilan yang mudah di akses, permukiman penduduk dikawasan danau, hulu Sungai di sekitar danau, kedalaman danau dan sumber makanan bagi Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*). Sampel dengan kode 1 itu di ambil di permukiman yang padat dan memiliki pasar tradisonal di Kawasan danau maninjau, Sampel dengan kode 2 itu diambil dari Tengah danau yang memiliki kedalaman sekitar ± 150 M, dan yang terakhir Sampel dengan 3 itu di Kawasan hulu dari Sungai yang Bernama Sungai Batang Sri Antokan yang mana di hulu Sungai tersebut terdapat [PLTA Maninjau](#). Setelah itu ikan langsung dipindahkan ke dalam cool box dan dibawa ke laboratorium Mikrobiologi Stikes yedza Saintika untuk dilakukan isolasi dan laboratorium Bioteknologi Universitas Andalas untuk dilakukan karaterisasi molekuler DNA BAL. Lokasi pengambilan sampel ditunjukkan pada Tabel 1.

Table 1. Lokasi Pengambilan sampel ikan Rinuak (*Psilopsis sp*), Danau Maninjau

Sample Code	Location	Fish Type	Lama Penyimpanan (hari)
IR 1	Nagari Koto Malintang	Ikan Rinuak	3
IR 2	Nagari Tanjung Sani	(<i>Psilopsis sp</i>)	4
IR 3	Nagari Maninjau		2

Karakterisasi BAL dari Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) Danau Maninjau Sumbar

1. Identifikasi Morfologi BAL

Identifikasi morfologi dilakukan secara makroskopik dengan menginokulasikan biakan BAL pada MRS Agar untuk melihat bentuk, warna, dan diameter isolat BAL. Selanjutnya karakterisasi morfologi dilanjutkan secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram, untuk mengetahui bentuk dan warna sel. Sementara itu, uji katalase dan uji tipe fermentasi digunakan untuk mengkarakterisasi sifat biokimia (Ebrahimi *et al.*, 2021).

2. Skrining BAL Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) Danau Maninjau Potensial Antimikroba

Tiga bakteri patogen yakni yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes* di uji untuk aktivitas antimikroba BAL dengan menggunakan metode yang sudah dimodifikasi untuk mengamati aktivitas antimikroba yang terdapat pada BAL terhadap bakteri patogen, yang mana metode yang digunakan ialah metode difusi kertas esai steril (Harun *et al.*, 2020). Singkatnya Kultur BAL yang sudah di enrichment selama 48 jam diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam Eppendorf steril. Kemudian disentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 10.000 rpm kemudian supernatannya diambil untuk uji resistensi antimikroba. Selanjutnya siapkan media Media Nutrient Agar sebanyak 0.4gram lalu dihomogenisasi serta dipanaskan diatas hot plate dan di sterilkan dalam autoclave. Kemudian sebanyak 40 μ l bakteri uji yang sudah di enrichment selama 24 jam di tuangkan kedalam cawan petri yang sudah berisi media sebanyak 20 ml, selanjutnya

di dinginkan sampai media agar mengeras. Sementara itu rendam paper disk di dalam isolat BAL selama kurang lebih 10 menit. Setelah agar memadat letakkan paper disk diatas permukaan medium NA yang telah berisi isolat bakteri patogen. Kemudian, 20 µl supernatan BAL diteteskan ke kertas uji steril sebagai kontrol positif (termasuk penisilin 10 g, kanamisin 30 g dan ampicilin 10 g) Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam secara anaerobik. Setelah 24 jam diukur diameter zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong (O'Connor *et al.*, 2020).

3. Isolasi dan karakterisasi 16S rRNA BAL

Dilakukan identifikasi dengan PCR amplifikasi gen 16s rRNA dan sekuensing genom dengan menggunakan primer 8F (50-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-30) dan 15R (50-AAG GAG GTG ATC CAR CCG CA-30) sebanyak 30 siklus. Hasil amplifikasi PCR dimurnikan dengan set primer PCR dan diproses dengan software BioEdit. Kekerabatan BAL ditentukan menggunakan BLASTN dengan urutan yang disesuaikan dari NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (Otunba *et al.*, 2021).

Diferensiasi menggunakan Satu set empat primer berbasis gen recA: paraF (50-GTC ACA GGC ATT ACG AAA AC-30), pentF (50-CAG TGG CGC GGT TGA TAT C-30), planF (50-CCG TTT ATG CGG AAC ACC TA-30), dan pREV (50-TCG GGA TTA CCA AAC ATC AC-30). Produk PCR dari PCR multiplex dielektroforesis dalam 2% (b/v) gel agarose dalam 1 TAE, kemudian produk PCR akan diwarnai dengan metode kolometri untuk memvisualisasikan hasil elektroforesis (Kumari *et al.*, 2023).

4. BLAST dan Analisis Filogenetik

Analisis filogenetik dilakukan berdasarkan metode yang dipublikasikan (Prima *et al.* 2023). Analisis filogenetik dilakukan dengan memasukkan sekuens DNA ke dalam Clustal W2 di <http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/> untuk

pencarian BLAST MEGA versi 6.0 (<http://www.megasoftware.net>) digunakan untuk membuat pohon filogenetik menggunakan metode neighbour-joining (NJ) (Prima *et al.*, 2023).

HASIL

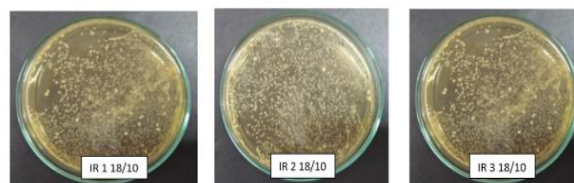
Total Koloni Bakteri Asam Laktat dari Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) Danau Maninjau

Perhitungan total koloni dilakukan untuk mengetahui jumlah koloni bakteri asam laktat menggunakan rumus perhitungan koloni Quebec. Keberadaan bakteri asam laktat dalam ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) memberikan dampak positif bagi konsumen, antara lain memberikan manfaat bagi kesehatan, terutama pada saluran pencernaan (Audisio, 2017). Jumlah total koloni bakteri asam laktat tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Total Koloni BAL pada Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) Danau Maninjau

Lokasi Sampel	Sampel	Total Koloni BAL (x10 ⁶ CFU/gr)
Nagari Koto Malintang	IR 1	66 ± 0.05
Nagari Tanjung Sani	IR 2	29 ± 0.02
Nagari Maninjau	IR 3	46 ± 0.03

Setelah BAL dikultur pada media agar MRS, perhitungannya dilakukan untuk mendapatkan total koloni BAL Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) di Danau Maninjau. Total koloni BAL ikan Rinuak dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni BAL ikan Rinuak pada MRS Agar (IR 1) sampel dari Nagari Koto Malintang, (IR 2) sampel dari Nagari Nagari Tanjung, (IR 3) sampel dari Nagari Maninjau

Jika Total koloni BAL pada ikan Rinuak fermentasi tinggi, maka ikan Rinuak Danau Maninjau tersebut bernilai lebih baik. Total koloni BAL dari isolat IB1 sebesar 66 x 10⁶ CFU g⁻¹, total koloni BAL dari isolat IR2 sebesar

29 x 10⁶ CFU g⁻¹ dan total koloni BAL dari isolat IR3 sebesar 46 x 10⁶ CFU g⁻¹. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total koloni BAL tertinggi dari isolat IR1 sebesar 66 x 10⁶ CFU g⁻¹, dibandingkan dengan penelitian pada kecap ikan selar yaitu sebesar 2,3 x 10² sampai 1,35 x 10⁴ CFU/g (Audisio, 2017). Total koloni BAL pada ikan nila berada pada kisaran 8,83– 10⁶ CFU g⁻¹; lebih tinggi dibandingkan penelitian Anggraini *et al.*(2019) yang melaporkan total koloni BAL pada kisaran 10⁶-10⁹ CFU g⁻¹ BAL dan 4,76 × 10⁶ sampai 5,30 × 10⁸ CFU g⁻¹ pada ikan Nila. Penelitian Syukur melaporkan total BAL pada kisaran 8,83 × 10⁸ CFU g⁻¹ (Syukur *et al.*, 2013).

Aktivitas antimikroba bakteri asam laktat Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*)

Aktivitas antimikroba dilakukan untuk menilai apakah BAL mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri patogen dalam penelitian ini meliputi *E. coli* O157:H7, *S. aureus* ATCC 25923 dan *L. monocytogenes* CFS-AN004330. *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* O157:H7 merupakan bakteri patogen penyebab penyakit pada saluran pencernaan, sedangkan *L. monocytogenes* CFSAN 004330 umumnya ditemukan pada makanan yang disimpan pada suhu rendah (Pereira *et al.*, 2022). Skrining menggunakan metode sumur difusi. Diameter zona bening isolat BAL tercantum pada Tabel 3.

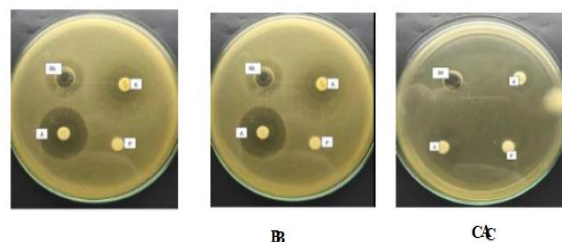
Tabel 3. Diameter zona bening uji aktivitas antimikroba (mm)

No	Isolat LAB	Diameter Zona Bening (Mm)		
		<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Listeria monocytogenes</i> CFSAN 004330
1	IR 1	30.27±0.02	25.65 ± 0.01	18.15 ± 0.01
2	IR 2	17.46 ± 0.02	19.11 ± 0.03	10.11 ± 0.04
3	IR 3	20.54 ± 0.04	12.14 ± 0.07	11.95 ± 0.09

Catatan: Nilai dinyatakan sebagai rata-rata ± standar deviasi; n=3

Zona hambat terbesar yang terbentuk pada kultur *E. coli* O157:H7 adalah milik IR1 dengan diameter 30.27 mm dan zona hambat terendah adalah milik IR2 dengan diameter 17,46 mm. Selanjutnya, diameter zona hambat

terbesar terhadap *S. aureus* ATCC 25923 adalah milik IR1 sebesar 25.65 mm dan zona hambat terendah terkait dengan IR3 dengan diameter besar 12,14 mm. Zona hambat terbesar terhadap *L. monocytogenes* CFSAN 004330 adalah milik IR1 dengan diameter 18,15 mm sedangkan zona hambat terendah terkait dengan IR2 dengan diameter 10.11 mm. Zona hambat isolat BAL terhadap ketiga bakteri patogen tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Uji aktivitas antimikroba BAL dan uji antibiotik. Keterangan: (A) Zona bening terbentuk terhadap bakteri *Escherichia coli* O157 (B) Zona bening terbentuk terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (C) Zona bening terbentuk terhadap bakteri *Listeria monocytogenes*

Isolat BAL IR1 memiliki zona hambat terbesar dengan diameter 30.27 mm terhadap *E. coli* O157:H7, diameter 25.65 mm terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dan diameter 18.15 mm terhadap *L. monocytogenes* CFSAN0043. Isolat IR 1 digunakan dalam penilaian daya hambat antimikroba terhadap bakteri patogen dengan menggunakan penisilin, kanamisin dan ampicilin sebagai kontrol positif.

Pemberian antibiotik dilakukan dengan menggunakan cakram kertas berisi konsentrasi tetap ampicilin 10 µg, kanamisin 10 µg, dan penisilin 10 µg. Untuk menilai resistensi dan sensitivitas bakteri, digunakan kontrol positif antibiotik. Hasil uji aktivitas antimikroba isolat BAL dari ikan Rinuak Danau Maninjau IR1 ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas antimikroba BAL IR1 dan uji antibiotik

Kode Sampel	Zona Hambat (mm)		
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Listeria monocytogenes</i> CFSAN 004330
IR1	30.27±0.02	25.65 ± 0.01	18.15 ± 0.01
Penicillin 10 µg	-	-	-
Ampicillin 10 µg	23.56±0.04	32.76±0.02	-
Kanamycin 30 µg	20.34±0.07	21.56±0.05	20.54±0.07

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 2 dan Tabel 4 dapat diketahui bahwa isolat BAL IR1 asal ikan Rinuak mampu menghambat pertumbuhan ketiga patogen tersebut. *L. monocytogenes* CFSAN0043 membentuk diameter sebesar 18,15 mm yang lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Ramos yang mengkaji aktivitas antimikroba pada makanan tradisional dadih, dimana *L. monocytogenes* CFSAN 0043 digunakan dan menghasilkan zona bening berukuran 9 mm (Sandra *et al.*, 2019). Pada penelitian ini, *E. coli* O157 menimbulkan zona bening dengan diameter 30,27 mm yang lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Chelule sebelumnya mengenai aktivitas antimikroba BAL yang diisolasi dari kulit kacang kedelai terhadap *E. coli* O157 dengan zona bening atau zona hambat sebesar 8,31 mm (Prima *et al.*, 2023). *S. aureus* ATCC 25923 membentuk zona bening sebesar 25,65 mm.

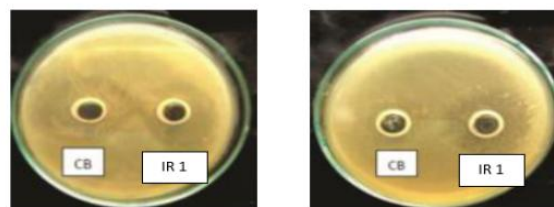
Aktivitas antimikroba dari supernatan bakteriosin mentah

Penilaian aktivitas antimikroba dari supernatan bakteriosin kasar dari isolat ikan Rinuak dilakukan setelah menetralkan pH supernatan BAL; dengan demikian, tidak terjadi aktivitas antimikroba dari asam organik. Komponen asam organik, terutama asam laktat, merupakan komponen utama senyawa antimikroba untuk BAL (Madjirebaye *et al.*, 2022). Tabel 5 menunjukkan aktivitas antimikroba dari supernatan yang dinetralkan terhadap *E. coli* O157:H7 dan *S. aureus* ATCC 25923; namun, aktivitas pada *L. monocytogenes* tidak ditunjukkan.

Tabel 5. Aktivitas antimikroba dari supernatan bakteriosin mentah dari IR1

Bakteri Patogen	Diameter zona hambat (mm)
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	18.87 ± 0.03
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	22.67 ± 0.02
<i>Listeria monocytogenes</i> CFSAN 004330	-

Catatan: Nilai dinyatakan sebagai rata-rata ± Standar deviasi; n=3



Gambar 3. Aktivitas antimikroba bakteriosin kasar setelah netralisasi pH (CB) dan sebelum netralisasi pH (IB1) terhadap *Escherichia coli* O157:H7 (A) dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (B)

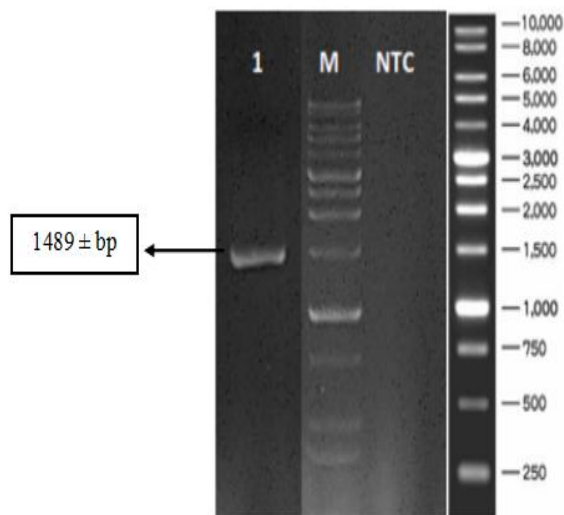
Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 4 dan gambar 5 yang menunjukkan aktivitas antimikroba setelah pH supernatan bakteri asam laktat dinetralkan terhadap *E. coli* O157: H7 sebesar 18,87 mm dan *S. aureus* ATCC25923 sebesar 22,67 mm (Gambar 6), namun aktivitas antimikroba tidak ditunjukkan pada *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat Ikan Rinuak Danau Maninjau Menggunakan 16S rRNA

1. Amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan reaksi berantai polimerase

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa PCR berhasil mengamplifikasi gen 16S rRNA bakteri dari isolat BAL ikan Rinuak. Hal ini dibuktikan dengan adanya fragmen produk PCR berukuran 1489 bp, menggunakan primer 27F AGAGTTTGATCCTGGCTGAG untuk arah maju dan primer 1525 R GTTTACCTTACGACTT untuk arah mundur. Hasil amplifikasi gen 16S rRNA BAL ikan Rinuak digunakan untuk memastikan keberhasilan proses isolasi DNA genomik. Selanjutnya, hasil amplifikasi gen 16S rRNA digunakan untuk mengidentifikasi BAL (Kumari *et al.*, 2023). Amplifikasi gen 16S rRNA

dilanjutkan dengan sequencing nukleotida. Hasil elektroforesis produk PCR dari isolat BAL ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil elektroforesis PCR isolate IR1 asal Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*) (M = Marker, asal Ikan Rinuak (*Psilopsis sp*))

Tujuan pendekatan molekuler adalah untuk menganalisis hubungan genetik BAL dengan membandingkan urutan RNA ribosom. Sebagai molekul yang relatif kecil, 16S rRNA dapat diurutkan secara langsung tanpa perlu mengkloning ampikon PCR (Prima *et al.*, 2022). Gambar 4 menunjukkan hasil amplifikasi DNA fragmen 1489-bp pada gel agarosa. Hal ini menunjukkan bahwa primer spesifik yang digunakan dalam penelitian ini mampu mengidentifikasi bakteri hingga tingkat strain.

2. Analisis sekuens gen 16S rRNA pada isolat ikan Rinuak (*Mystacoleucus padangensis*) di Danau Maninjau.

Hasil dari pengurutan bakteri IR1 dibandingkan dengan data pada GenBank, menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) dan homologi sekuens (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

>Sampel_IR 1

CATTGGGACTGAGACACGGCCCAAAC
TCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCT
TCCCATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAA
CGCCGCGTGAGTGATGAAGGGTTTCGGC

TCGTAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAAC
AGGTGTCAGAGTAACTGTTGACATCTTGA
CGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGT
AGGTGGCAAGCGTTGTCCGATTATTGG
GCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTA
GTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCG
GAGAAGTGCATCGGAAACCGGGAGACTT
GAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCA
TGTGTAGCGGTGAAATGCGTAATATATG
GAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGT
CTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGA
AAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGA
GTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTT
CAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACT
CCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTG
AAACTCAAGGAATTGACGGGGGCCCGCA
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCG
ATGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTT
GACATCTTCTGCCAACTAAGAGATTAGG
CGTTCCCTTCGGGGACAGAAATGACAGGT
GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTAAGTCCCCAACGAGCG
CAACCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTCA
GTGGGCATCTAGCAAGACTGCCGGTGAC
AAACGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA
ATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTAC
ACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGA
GTCGCGAAACCGCGAGGTCAAGCTAATC
TCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTA
GGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGA
ATCGCTAGTAATCGTGGATCAGCATGCC
ACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTA
ACACCCAAAGCCCGGTGAGGTAACCTCC
AGGAACCAGCCGTCTAAGGTGGACAAAT
GGGCC

Berdasarkan analisis data (Gambar 4) menggunakan BLAST, IR1 dari ikan Rinuak Danau Maninjau memiliki nilai similaritas yang tinggi yaitu 99,64% yang mendekati *Lentilactobacillus buchneri* subsp. *silagei* CD034 strain 17-16. Hal ini menunjukkan bahwa BAL pada ikan Rinuak Danau Maninjau memiliki kemiripan dengan *Lentilactobacillus buchneri* subsp. *silagei* CD034 strain 17-16

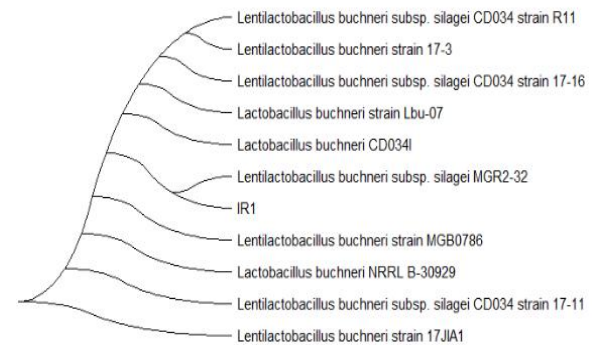
menurut penelitian Mutarim yang menyatakan bahwa isolat dengan similaritas sekuens 16S rRNA lebih dari 97% dapat mewakili spesies yang sama sedangkan similaritas sekuens sebesar 93-97% dapat mewakili bakteri pada tingkat genus dengan berbagai spesies (Bhakta *et al.*, 2023). Perbedaan sekuens gen 16S rRNA hanya sebesar 3% atau homolog sekuens sebesar 97%, homolog sekuens dengan nilai 97% ini setara dengan jumlah minimal hibridisasi sebesar 70% yang digunakan untuk mengekspresikan dua bakteri yang termasuk dalam satu spesies (Hayek *et al.*, 2012). Hasil analisis BLAST dari penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil BLAST BAL Ikan Rinuak IR1 (*Psilopsis sp*) Danau Maninjau, Sumatera Barat, Indonesia

No	Deskripsi galur Bakteri <i>Lactobacillus</i>	Query cover (%)	Accession number	Percent identification (%)
1	<i>Lentilactobacillus buchneri</i> strain MGB0786		CP043615.1	
2	<i>Lentilactobacillus buchneri</i> subsp. <u>silagei</u>		AP028329.1	
3	<i>Lactobacillus buchneri</i> CD034,		CP003043.1	
4	<i>Lactobacillus buchneri</i> NRRL B-30929		CP002652.1	
5	<i>Lentilactobacillus buchneri</i> strain 17JIA1.		OR029289.1	
6	<i>Lentilactobacillus buchneri</i> subsp. <u>silagei</u> CD034 strain R11	100 %	OL763404.1	99,64 %
7	<i>Lentilactobacillus buchneri</i> strain 17-3		OR029294.1	
8	<i>Lentilactobacillus buchneri</i> subsp. <u>silagei</u> CD034 strain 17-11		OL763411.1	
9	<i>Lentilactobacillus buchneri</i> subsp. <u>silagei</u> CD034 strain 17-16		OL763416.1	
10	<i>Lactobacillus buchneri</i> strain Lbu-07 16S		HM130539.1	

Berdasarkan hasil BLAST pada Tabel 6 menunjukkan bahwa IR1 termasuk similaritas yang tinggi yaitu 99,64% terhadap strain *Lentilactobacillus buchneri* subsp. silagei CD034 strain 17-16. Para ahli menyatakan bahwa suatu sekuens dapat dikategorikan homolog apabila sekuens tersebut memiliki similaritas lebih dari 70% (Madjirebaye *et al.*, 2022). Analisis hubungan bakteri pada BLAST kemudian divisualisasikan menggunakan Software MEGA v7.0 dan alignment dari Software BioEdit. Dari hasil visualisasi filogenetik terlihat bahwa isolat ikan Rinuak Danau Maninjau pada penelitian ini termasuk kekerabatan apomorfik dengan, sehingga karakter yang terbentuk bersifat apomorfik dan plesiomorfik. Karakter apomorfik merupakan

karakter yang dapat diubah, diwariskan dan dideteksi dalam kelompok, sedangkan karakter sinapomorfik merupakan karakter yang dapat diwariskan dan terjadi dalam kelompok monofiletik.



Gambar 5. Pohon filogenetik isolat IR1

Berdasarkan hasil PCR dan setelah dilakukan analisis menggunakan BLAST serta berdasarkan pohon filogenetik pada Gambar 5 diketahui bahwa isolat bakteri IR1 asal ikan Rinuak Danau Maninjau memiliki kemiripan sebesar 99,64% dengan *Lentilactobacillus buchneri* subsp. silagei CD034 strain 17-16. Suatu sekuens dikatakan homolog apabila memiliki kemiripan lebih dari 70%. Pohon filogenetik menunjukkan adanya hubungan kekerabatan yang erat antar strain *Lentilactobacillus buchneri*. Hal ini menunjukkan keandalan hubungan dekat antara bakteri dari nenek moyang yang sama.

Hasil penelitian ini bervariasi dari yang dilaporkan oleh Tjong pada isolat *Weissella paramesenooides* dari ikan budu dari Kabupaten Pasaman Barat (Prima *et al.*, 2023) sedangkan spesies *Pediococcus pentosaceus* dari Ikan Congkok dari daerah 50 Kota (Syukur *et al.*, 2013). Isolasi BAL dalam sampel dadih melaporkan 36 strain *Lactobacillus* dan *Streptococcus* Sp (Hayek *et al.*, 2012) Beberapa penelitian melaporkan *L. casei* sebagai BAL dominan pada ikan budu fermentasi dari Kabupaten Padang Pariaman, yang bervariasi karena proses pembuatan ikan fermentasi di setiap daerah bervariasi; dengan demikian,



bakteri juga dapat mencakup berbagai spesies (Sandra *et al.*, 2019).

PEMBAHASAN

Perbedaan jumlah total koloni BAL diduga karena pengaruh kondisi lingkungan pada lokasi pengambilan sampel, dimana lokasi pengambilan sampel IR1 (Nagari Koto Malintang) termasuk kepadatan penduduk rendah dan tidak termasuk pasar tradisional, dibandingkan dengan lokasi pengambilan sampel IR2 dan IR3. Kepadatan penduduk dan pasar tradisional pada lokasi pengambilan sampel menyebabkan terjadinya pencemaran pada ekosistem ikan Rinuak, dimana masyarakat membuang limbah rumah tangga dan pasar langsung ke Danau Maninjau. Kehidupan mikroorganisme sangat bergantung dan dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Namun, jumlah koloni BAL ikan Rinuak dari Danau Maninjau telah memenuhi kriteria *Food and Agriculture Organization/World Health Organization* (FAO/WHO) 2003 karena makanan probiotik tersebut mengandung 10^6 - 10^8 CFU g⁻¹ BAL. Secara teknis, warna BAL pada agar MRS adalah putih kekuningan. Hasil ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Purwati yang menghasilkan koloni BAL berwarna putih kekuningan pada agar MRS (Touret, *et al.*, 2018). Keragaman jumlah koloni isolat BAL ikan Rinuak disebabkan oleh berbagai morfologi, jenis fermentasi glukosa, pertumbuhan, dan waktu fermentasi, suhu dan kondisi nutrisi. Perbedaan dalam ekosistem BAL menghasilkan isolat BAL yang sangat bervariasi (Madjirebaye *et al.*, 2022).

Penisilin merupakan antibiotik yang dapat melawan bakteri Gram positif dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri, termasuk golongan beta laktam (Liu *et al.*, 2020). Ampisilin merupakan turunan penisilin yang memiliki spektrum lebih luas yang mampu bekerja melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Lebih jauh lagi, kanamisin termasuk golongan aminoglikosida bakterisida, yang biasanya bekerja melawan bakteri Gram positif penyebab infeksi.

Hasil penelitian ini relatif lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian yang telah ditemukan oleh Anggraini mengenai aktivitas antimikroba isolat BAL asal okara terhadap *S. aureus* patogen dengan zona bening sebesar 9,10 mm (Aviany *et al.*, 2020). Pada penelitian Galvez dilaporkan diameter zona bening yang lebih besar terhadap bakteri patogen yaitu berkisar 22-32,5 mm (Elida *et al.*, 2020). Perbedaan hasil tersebut dikarenakan isolat BAL dari berbagai sampel. Pada penelitian ini digunakan sampel isolat ikan Rinuak asal Danau Maninjau, berbeda dengan hasil penelitian yang menggunakan isolat dari ikan Budu terfermentasi (Prima, 2023). Selain itu jika dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya bahwa diameter zona hambat terhadap *S. aureus* yang terbentuk adalah 30,35-36,22 mm (Rizal *et al.*, 2020), sedangkan terhadap *E. coli* sebesar 32,38-34,06 mm (Riadi *et al.*, 2020). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat BAL dari ikan Rinuak asal Danau Maninjau mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang dapat membahayakan manusia, terutama *L. monocytogenes*. Bakteri ini menyebabkan aborsi pada manusia atau ternak. BAL dapat digunakan sebagai pengobatan berdasarkan zona hambat yang diujikan pada bakteri patogen. Aktivitas penghambatan dibagi menjadi empat kategori, yaitu aktivitas lemah (< 10 mm), sedang (10-20 mm), kuat (> 20-30 mm) dan sangat kuat (> 30-40 mm) (Liu *et al.*, 2020). Dengan demikian, terungkap bahwa BAL IR1 dari ikan Rinuak asal Danau Maninjau memiliki aktivitas penghambatan yang kuat terhadap ketiga bakteri tersebut.

Isolat BAL tidak memiliki aktivitas antimikroba setelah pH supernatan dinetralkan; oleh karena itu, disimpulkan bahwa aktivitas antimikroba berasal dari senyawa asam organik yang dihasilkan oleh BAL (Jawan *et al.*, 2021). Selanjutnya, *L. Plantarum* NS (9) dari isolat yang berasal dari ikan nila sebagai makanan untuk produk ikan fermentasi dari Sumatera Selatan (Elida *et al.*, 2020). Dilaporkan bahwa aktivitas antimikroba terkait dengan senyawa asam organik. Aktivitas antibakteri tertinggi



terhadap *E. coli*, *B. cereus* dan *L. monocytogenes* dilaporkan pada akhir fase pertumbuhan eksponensial (waktu inkubasi 12-15 jam). Selanjutnya beberapa hasil penelitian telah mengungkapkan bahwa aktivitas antimikroba kultur bebas sel supernatan *L. plantarum* yang diisolasi dari daging ikan fermentasi (bekasam) di Sumatera Selatan mampu menghambat *E. coli* dan *L. monocytogenes* (Fauzan *et al.*, 2020). Ditemukan bahwa Weissellicin 110, bakteriosin kelas II yang dihasilkan oleh Weissellicin 110 yang diisolasi dari plasmid, mampu menghambat bakteri Gram positif tanpa aktivitas antimikroba terhadap *L. monocytogenes* (Azemin *et al.*, 2015). Bakteriosin kasar dari BAL diisolasi dari Chao dan dinilai terhadap *S. aureus* FNCC 0047 dan *E. coli* FNCC 0049. Terdapat beberapa mekanisme untuk menghambat kerusakan sel target oleh bakteriosin (Rizal *et al.*, 2020).

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil identifikasi molekuler 16S rRNA dan primer 27F- 1525R menunjukkan produk PCR Bakteri IR1 berada pada 1489 bp dan memiliki potensi antimikroba BAL Probiotik HALAL terbaik di bandingkan dengan 3 isolat bakteri lainnya yang di isolasi dari ikan Rinuak (Danau Maninjau, Sumatera Barat, Indonesia). Bakteri IR1 merupakan strain baru pada ikan Rinuak Mirip dengan *Lentilactobacillus buchneri* subsp. *silagei* CD034 strain 17-16, spesies yang diisolasi saat ini dapat digunakan sebagai kandidat BAL anti diare dan anti tifoid pada manusia yang terjamin HALAL serta sebagai pencegah stunting. Namun demikian, pengkajian lebih lanjut terhadap bakteriosin yang dihasilkan BAL dari ikan Rinuak di Danau maninjau masih diperlukan, termasuk karakterisasi bakteriosin untuk biopreservasi makanan sebagai alternatif dalam penurunan stunting.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, L. *et al.* (no date) 'Molecular identification and phylogenetic analysis of GABA-producing lactic acid bacteria isolated from indigenous'.
- Astuti, T. and Mardiah, A. (2016) 'Studi Mutu Ikan Rinuak (*Psilopsis* Sp) Olahan di Danau Maninjau, Kecamatan Tanjung Raya Kabupaten Agam Sumatera Barat', *Article of Undergraduate Research, Faculty of Fisheries and Marine Science, Bung Hatta University*, 9(2).
- Audisio, M. C. (2017) 'Gram-positive bacteria with probiotic potential for the *Apis mellifera* L. honey bee: the experience in the northwest of Argentina', *Probiotics and antimicrobial proteins*, 9, pp. 22–31.
- Aviany, H. B. and Pujiyanto, S. (2020) 'Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*', *Berkala Bioteknologi*, 3(2).
- Azemin, A., Klappa, P. and Omar, M. S. S. (2015) 'Bacteriocin isolated from *Halomonas* sp.: a bacterial DING protein', *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 4, pp. 831–840.
- Balthazar, C. F. *et al.* (2022) 'The future of functional food: Emerging technologies application on prebiotics, probiotics and postbiotics', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(3), pp. 2560–2586.
- Bhakta, J. N. *et al.* (2023) 'Probiotic characterization of arsenic-resistant lactic acid bacteria for possible application as arsenic bioremediation tool in fish for safe fish food production', *Probiotics and antimicrobial proteins*, 15(4), pp. 889–902.
- Bu, Y. *et al.* (2022) 'Screening and probiotic potential evaluation of bacteriocin-producing *Lactiplantibacillus plantarum* in vitro', *Foods*, 11(11), p. 1575.
- Dang, Y. *et al.* (2022) 'Effects of probiotics on growth, the toll-like receptor mediated immune response and susceptibility to *Aeromonas salmonicida* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*', *Aquaculture*, 561, p. 738668.
- Ebrahimi, M. *et al.* (2021) 'Postbiotic and anti-



- aflatoxic capabilities of Lactobacillus kunkeei as the potential probiotic LAB isolated from the natural honey', *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13, pp. 343–355.
- Elida, M. *et al.* (2020) 'Viabilitas Sel dan Aktivitas Antimikroba Bio-Kapsul Probiotik Lb paracasei ssp paracasei ML3 Hasil Ekstrusi Karagenan-SKIM', *Jurnal Ilmiah INOVASI*, 20(3).
- Fauzan, F. *et al.* (2020) 'Karakterisasi Bakteriosin pada Bakteri Asam Laktat Lactobacillus Paracasei dari Virgin Coconut Oil', *Jurnal Katalisator*, 5(1), pp. 1–16.
- Harun, H. *et al.* (2020) 'Characterization of Lactic Acid Bacteria and Determination of Antimicrobial Activity in Dadih from Air Dingin Alahan Panjang District, Solok Regency-West Sumatera.', *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(3).
- Hayek, S. A. and Ibrahim, S. A. (2012) 'Antimicrobial activity of xoconostle pears (*Opuntia matudae*) against *Escherichia coli* O157: H7 in laboratory medium', *International Journal of Microbiology*, 2012.
- Helmyati, S. *et al.* (2021) 'Synbiotic fermented milk with double fortification (Fe-zn) as a strategy to address stunting: A randomized controlled trial among children under five in yogyakarta, indonesia', *Processes*, 9(3), p. 543.
- Jawan, R. *et al.* (2021) 'In vitro evaluation of potential probiotic strain *Lactococcus lactis* Gh1 and its bacteriocin-like inhibitory substances for potential use in the food industry', *Probiotics and antimicrobial proteins*, 13, pp. 422–440.
- Kumari, V. B. C. *et al.* (2023) 'Antidiabetic Activity of Potential Probiotics *Limosilactobacillus* spp., *Levilactobacillus* spp., and *Lacticaseibacillus* spp. Isolated from Fermented Sugarcane Juice: A Comprehensive In Vitro and In Silico Study.', *Nutrients*, 15(8), p. 1882.
- Liu, W. *et al.* (2020) 'Characterization of potentially probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from human colostrum', *Journal of Dairy Science*, 103(5), pp. 4013–4025.
- Madjirebaye, P. *et al.* (2022) 'In vitro characteristics of lactic acid bacteria probiotics performance and antioxidant effect of fermented soymilk', *Food Bioscience*, 49, p. 101952.
- O'Connor, P. M. *et al.* (2020) 'Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective', *Current opinion in biotechnology*, 61, pp. 160–167.
- Otunba, A. A. *et al.* (2021) 'Genomic, biochemical and microbial evaluation of probiotic potentials of bacterial isolates from fermented sorghum products', *Heliyon*, 7(12).
- Pereira, W. A. *et al.* (2022) 'Bacteriocinogenic probiotic bacteria isolated from an aquatic environment inhibit the growth of food and fish pathogens', *Scientific Reports*, 12(1), p. 5530.
- Prima, H. S. *et al.* (2023) 'Characterization of Gamma Aminobutyric Acid-producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Budu Fish in Padang Pariaman West Sumatra Indonesia and their Potentials as Probiotics', *Applied Food Biotechnology*, 10(4), pp. 257–270.
- Prima, H. S., Satrianto, A. and Amar, S. (2024) 'Antimicrobial Potential of *Limosilactobacillus Fermentum* Isolated from Bilih Fish (*Mystacoleucus padangensis*) of Singkarak Lake, West Sumatra, Indonesia', *Applied Food Biotechnology*, 9(4), pp. 297–309.
- Prima, H. S. and Yansen, F. (2023) 'POTENSI BAL PROBIOTIK DARI IKAN BILIH (*Mystacoleucus padangensis*) DANAU SINGKARAK DALAM APLIKASI PEMBUATAN SABUN PADAT EKSTRAK LIDAH BUAYA (*Aloe vera*)', *Jurnal Kesehatan Medika Saintika*, 14(1), pp. 254–265.
- Riadi, S. and Setiyawati, D. (2020) 'Isolasi Dan



- Uji Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Kimchii Dan Teh Kombucha Dalam Menghambat Bakteri Patogen', *Jurnal Kesmas Prima Indonesia*, 4(1), pp. 25–29.
- Rizal, S., Udayana, S. and Suharyono, S. (2020) 'Kajian potensi sari kulit buah nanas yang difermentasi dengan *Lactobacillus casei* sebagai minuman probiotik secara in vivo', *Jurnal Agroindustri*, 10(1), pp. 12–20.
- Rosalina, L., Manvi, K. I. and Pramudia, H. (2021) 'A Great Food for Children Base on Rinuak Shredded Fish (*Psilopsis* Sp)', in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, p. 12059.
- Sandra, A. *et al.* (2019) 'The chemical characteristics of yoghurt (*Lactobacillus fermentum* MGA40-6 and *Streptococcus thermophilus*) with additional puree from Senduduk fruit (*Melastoma malabathricum*, L.)', in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, p. 12024.
- Syukur, S. *et al.* (2013) 'Antimicrobial properties and Lactase activities from selected probiotic *Lactobacillus brevis* associated with green cacao fermentation in West Sumatra, Indonesia', *J Prob Health*, 1(4).
- Touret, T., Oliveira, M. and Semedo-Lemsaddek, T. (2018) 'Putative probiotic lactic acid bacteria isolated from sauerkraut fermentations', *PloS one*, 13(9), p. e0203501.