



Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Ikan Budu sebagai Kandidat Probiotik dari Kabupaten Padang Pariaman

Characterization of Lactic Acid Bacteria from Budu Fish as Probiotic Candidates from Padang Pariaman Regency

Heppy Setya Prima¹, Malikil Kudus Susalam^{2*}, Fajri Maulana³, Fadhli Fajri³

¹ Prodi Biologi, FMIPA Universitas Negeri Medan, Sumatera Utara, Indonesia

² Prodi Peternakan, FMIPA Universitas Negeri Padang, Sumatera Barat, Indonesia

³ Prodi Teknologi Pakan Ternak, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Politeknik Negeri Tanah Laut, Kalsel, Indonesia

* Corresponding Author: malikilsusalam@unp.ac.id

ARTICLE HISTORY:

Submitted: 25 February 2025

Revised: 25 April 2025

Accepted: 07 May 2025

Published: 01 July 2025

KATA KUNCI:

Ikan Budu
antimikroba
Lactobacillus *parabucneri* strain
HBUAS56106

ABSTRAK

Sumatera Barat adalah daerah yang mempunyai sejumlah besar produk pangan fermentasi salah satu diantaranya adalah ikan fermentasi yang disebut Budu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi isolat Bakteri Asam Laktat dari ikan Budu dari Kab. Padang Pariaman dan mengevaluasi potensi probiotiknya. Metode penelitian ini adalah sebagai berikut: isolasi Bakteri Asam Laktat dari ikan Budu, dilanjutkan dengan penilaian uji Ketahanan terhadap pH Lambung dan Gram Empedu dan aktivitas antimikroba. Kemudian, 16S rRNA digunakan untuk menilai spesies isolat bakteri asam laktat. Dari 10 sampel, satu sampel Isolat MKS4, dengan aktivitas antimikroba potensial dilaporkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakteristik morfologi dan biokimia Bakteri Asam Laktat meliputi bakteri Gram positif, berbentuk basil dan katalase negatif termasuk dalam kelompok bakteri homofermentatif. Aktivitas antimikroba terbesar ditunjukkan oleh *Escherichia coli* MKS4 0157:H7 (14,79 mm), *S. aureus* ATCC 25923 (14,89 mm) dan *enteritidis* ATCC 13076 (16,64 mm) Hasil identifikasi molekuler menggunakan 16S rRNA menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang diisolasi memiliki kemiripan dengan strain *Lactobacillus parabucneri* strain HBUAS56106, yaitu potensi antimikroba terhadap bakteri patogen. *Lactobacillus parabucneri* strain HBUAS56106 dapat digunakan sebagai agen antidiare dan senyawa antimikroba terbaik tergolong bakteri probiotik

ABSTRACT

West Sumatra is an area that has a large number of fermented food products, one of which is fermented fish called Budu. The purpose of this study was to isolate and identify Lactid Acid Bacteria isolates from Budu fish from Padang Pariaman Regency and evaluate their probiotic potential. The research method is as follows: isolation of Lactid Acid Bacteria from Budu fish, followed by assessment of resistance tests to gastric pH and bile salts and antimicrobial activity. Then, 16S rRNA was used to assess the species of lactic acid bacteria isolates. Of the 10 samples, one sample of Isolate MKS4, with potential antimicrobial activity was reported. The results showed that the morphological and biochemical characteristics of Lactid Acid Bacteria include Gram-positive bacteria, bacilli and

KEYWORDS:

Budu Fish
Antimicrobial
Lactobacillus *parabucneri* strain
HBUAS56106

© 2025 The Author(s). Published by
Department of Animal Husbandry, Faculty
of Agriculture, University of Lampung in
collaboration with Indonesian Society of
Animal Science (ISAS).
This is an open access article under the CC
BY 4.0 license:
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

catalase negative included in the homofermentative bacteria group. The greatest antimicrobial activity was shown by Escherichia coli MKS4 0157:H7 (14.79 mm), S. aureus ATCC 25923 (14.89 mm) and enteritidis ATCC 13076 (16.64 mm). The results of molecular identification using 16S rRNA showed that the isolated lactic acid bacteria had similarities with the Lactobacillus strain parabucneri strain HBUAS56106, namely antimicrobial potential against pathogenic bacteria. Lactobacillus. parabucneri strain HBUAS56106 can be used as an antidiarrheal agent and the best antimicrobial compound is classified as a probiotic bacteria.

1. Pendahuluan

Sumatera Barat adalah daerah yang mempunyai sejumlah besar produk pangan fermentasi salah satu diantaranya adalah ikan fermentasi yang disebut *Budu*. Ikan fermentasi dilakukan secara tradisional oleh masyarakat pesisir yaitu di daerah Sungai Limau Kab. Padang Pariaman, produk Ikan *Budu* ini mempunyai rasa dan aroma yang khas yang dihasilkan selama fermentasi yang belum diketahui mikroba apa saja yang berperan dalam menghasilkan aroma dan rasa tersebut, dan zat gizi yang di metabolisme oleh mikroba tersebut belum ada yang melaporkan. Mulyani et al. (2023) menemukan bakteri asam laktat yang diisolasi dari *Budu* dan dapat menghasilkan asam glutamat yang dapat memperbaiki kualitas karkas broiler dengan peningkatan warna dan aroma daging broiler. Marlida et al. (2023) menambahkan bahwa bakteri asam laktat asal *Budu* dapat menghasilkan gamma amino asam butirat (Gaba) yang dapat menurunkan efek stres pada broiler dengan kepadatan kandang yang tinggi. Penelitian eksplorasi BAL yang berpotensi sebagai probiotik terus diteliti oleh ilmuwan di dunia sampai saat ini, sejalan dengan bertambahnya konsumsi pangan probiotik (Mulaw et al. 2019).

Keberadaan beberapa strain bakteri asam laktat (BAL) telah terbukti memiliki efek probiotik pada manusia. Susalam et al. (2022) menyatakan syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestin dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin. Menurut Syukuy et al. (2022) bakteri probiotik memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia, diantaranya dalam sistem imunitas, sistem intestinal, sistem urogenital, menurunkan efek energi, dan manfaat lainnya. Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang apabila dikonsumsi oleh manusia atau hewan dalam jumlah cukup, mampu memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya Ardita et al. (2015). Probiotik harus dapat bertahan melewati lambung dan usus halus, sehingga probiotik harus toleran terhadap suasana asam dan adanya garam empedu Reuben et al. (2020).

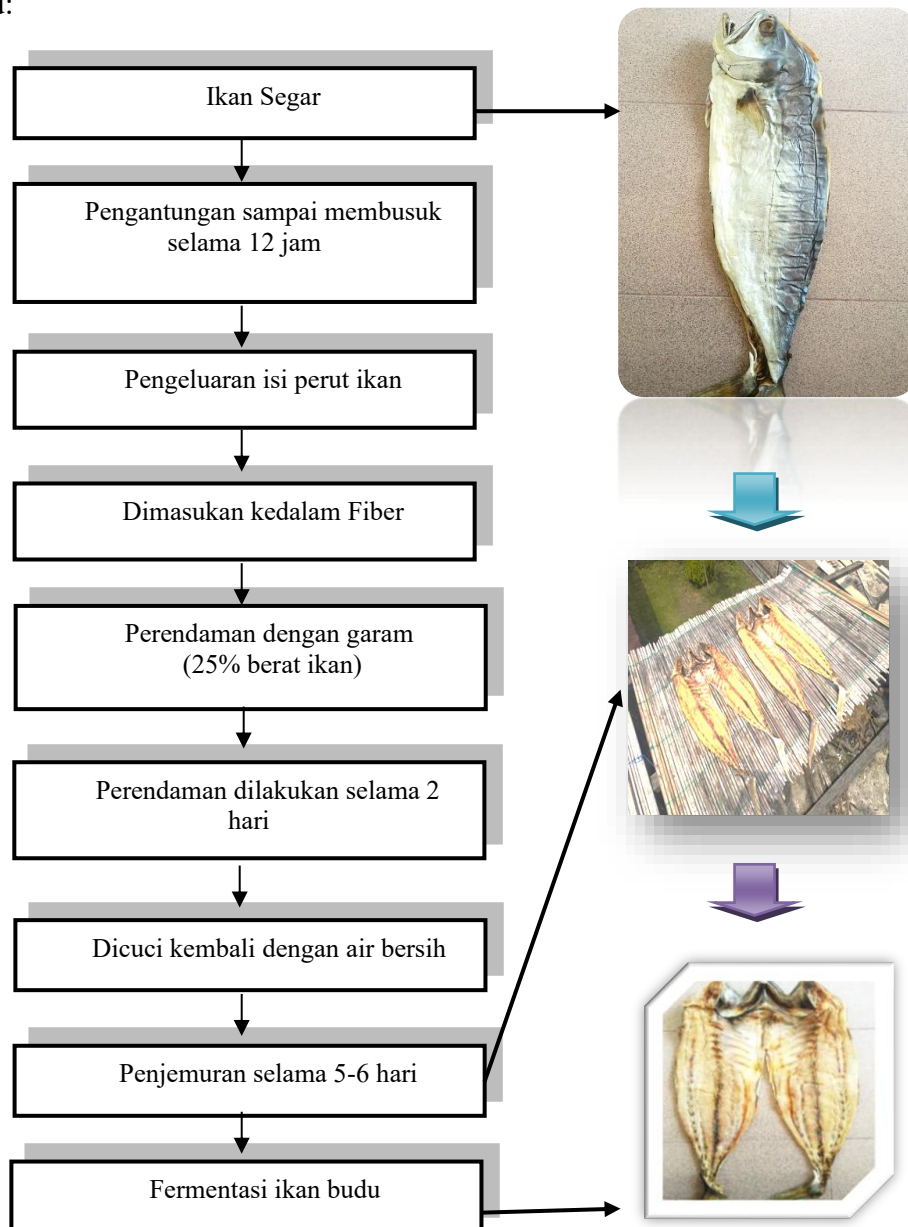
Tidak semua jenis bakteri dapat kategorikan sebagai probiotik akan tetapi ada beberapa sebagian jenis bakteri yang bisa di kategorikan probiotik. Untuk bisa dijadikan probiotik maka, bakteri tersebut harus memenuhi karakteristik aman untuk di konsumsi, dapat bertahan hidup dalam saluran pencernaan dan tidak patogen Prima et al. (2023). Bakteri asam laktat dominan ditemukan pada produk fermentasi dan bakteri tersebut memiliki aktivitas antimikroba serta potensi sebagai kandidat probiotik. Berdasarkan hal tersebut dapat diduga bahwa bakteri asam laktat asal ikan Budu berpotensi sebagai probiotik, akan tetapi informasi aspek potensi kandidat probiotik dari bakteri asam laktat asal ikan Budu masih terbatas. Hal ini karena belum dipelajari secara terperinci dan hampir tidak ada laporan ilmiah yang berhubungan dengan potensi BAL asal ikan Budu, khususnya ikan Budu hasil olahan dari pengolah lokal yang ada di Indonesia terutama di Kabupaten Padang Pariaman sebagai kandidat probiotik. Fakta tersebut mendorong perlunya dilakukan penelitian untuk menentukan dan menyeleksi isolat BAL dari ikan Budu dan menggali potensinya sebagai kandidat probiotik (Malikil Kudus, 2023).

Pangan probiotik banyak diminati oleh masyarakat Indonesia tetapi probiotik yang di gunakan masih impor. Hal ini disebabkan ketersediaan probiotik di Indonesia belum banyak dan mengakibatkan produk pangan probiotik indonesia masih tergantung akan impor sehingga dibutuhkan probiotik yang memang berasal dari Indonesia agar ketergantungan impor bahan baku dari produk pangan probiotik dapat berkurang (Harnentis et al. 2020). Indonesia adalah salah satu negara yang kaya akan sumber probiotik, berbagai penelitian tentang sumber probiotik di Indonesia terus dilakukan tetapi hanya berfokus kepada produk susu dan daging (Ramadhanti et al. 2021). Namun baru sebatas penelitian di Laboratorium dan belum diaplikasikan secara komersial serta belum dilakukan pada produk fermentasi ikan, khususnya produk fermentasi ikan asli Indonesia. Hal itulah yang melatarbelakangi pentingnya adanya penelitian bakteri probiotik yang bersumber dari produk fermentasi ikan asli Indonesia, yaitu Ikan Budu.

2. Materi dan Metode

2.1 Fermentasi Ikan Budu

Fermentasi ikan budu yang dilakukan di beberapa daerah di Kabupaten Padang Pariaman berdasarkan hasil survei yang telah dilakukan dari September -Oktober 2024 yaitu:



Gambar 1. Proses Fermentasi ikan Budu oleh Masyarakat di Kabupaten Padang Pariaman

2.2 Isolasi BAL dari Ikan Budu

Proses isolasi BAL diawali dengan proses enrichment, dimana 1 g sampel Ikan Budu dimasukkan ke dalam 9 mL MRS Broth (Merck) dan di Homogenkan dan didapatkan pengenceran 10^{-1} lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C . Setelah itu sampel di encerkan di dalam tabung Eppendorf dengan menggunakan media pepton water (Merck). Hasil pengenceran ini disebut pengenceran 10^{-2} . selanjutnya diambil 100 μL dari pengenceran 10^{-2} ditambahkan ke dalam tabung Eppendorf yang berisi 900 μL pepton water sehingga didapatkan pengenceran 10^{-3} , Pengenceran dilakukan hingga pembuatan pengenceran 10^{-9} . Sebanyak 100 μL sampel dari pengenceran 10^{-9} disebarkan pada cawan petri yang berisi agar MRS untuk dilakukan proses plating. Inokulum disimpan menggunakan wadah anaerobik. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam menggunakan inkubator. Koloni BAL tunggal yang tumbuh pada permukaan media dimurnikan kembali dengan cara menginokulasikan koloni ke dalam media MRS Agar (Merck) secara gores dan diinkubasi secara anaerob pada suhu 37°C Selama 24 jam (Yusra et al. 2022).

2.3 Karakteristik BAL dari Ikan Budu

2.3.1 Proses Pembuatan Tepung Rumput Laut (*Gracilaria sp*)

Karakterisasi morfologi dilakukan secara makroskopis dengan menginokulasikan kultur bakteri BAL pada agar MRS untuk mengetahui bentuk, warna, dan diameter isolat bakteri BAL. Kemudian, karakterisasi morfologi dilakukan secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram untuk mengetahui bentuk dan warna sel. Selanjutnya, dilakukan uji katalase dan fermentasi. digunakan untuk mengkarakterisasi karakteristik biokimia dan uji penghambatan bakteri patogen digunakan untuk menyelidiki potensi probiotik (Ilyanie et al. 2022).

2.3.2 Seleksi BAL dari Ikan Budu sebagai Kandidat Probiotik

1. Ketahanan Isolat BAL Ikan Budu Padang Pariaman Terhadap pH Lambung

Pada pengujian terhadap asam untuk mendapatkan Isolate BAL yang mempunyai toleransi tinggi terhadap kondisi lambung (pH 3). Dilakukan dengan ditambahkan 0,1 ml suspensi bakteri dari MRS Broth ke dalam satu seri tabung yang berisi 9 ml MRS Broth steril dan diinkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C .

(pH diatur dengan penambahan HCl). Kemudian diinkubasi dalam kondisi anaerob selama 24 jam pada suhu 37°C (Sim et al. 2015). Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan. Ketahanan isolat dinyatakan dengan persentase. Menurut Tokatli et al. (2015) persentase ketahanan isolat bakteri asam laktat dapat dihitung menggunakan rumus.

$$\% \text{ Ketahanan} = \frac{\text{Pertumbuhan isolat BAL pada pH 2.5}}{\text{Pertumbuhan isolat BAL pada pH 6.8}} \times 100$$

2. Ketahanan Isolat BAL Ikan Budu Terhadap Garam Empedu

Metode uji ketahanan terhadap garam empedu diuji berdasarkan metode modifikasi dari Vinderola dan Reinheimer (2003). Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan 22 isolat bakteri asam laktat. Pengujian dilakukan dengan menambahkan konsentrasi garam empedu 0%, 0.3%, dan 0.5% pada medium MRS broth. Medium disterilisasi dengan autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. Isolat bakteri sebanyak 0.5 ml dimasukkan ke dalam 5 ml MRS broth yang sudah ditambah dengan oxgall 0%, 0.3%, dan 0.5% dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 jam. Kontrol yang berisi MRS Broth tanpa penambahan konsentrasi garam empedu (konsentrasi 0%) dibandingkan dengan perlakuan. Pertumbuhan diukur dengan melihat absorbansi, pada panjang gelombang 600 nm. (Marlida et al. 2023). Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan. Ketahanan isolat dinyatakan dengan persentase. Menurut Tokatli et al. (2015) persentase ketahanan isolat bakteri asam laktat dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Ketahanan} = \frac{\text{Pertumbuhan isolat BAL pada 0.3 atau 0.5\%}}{\text{Pertumbuhan isolat BAL pada 0\%}} \times 100$$

3. Skrining BAL Potensial Antimikroba

Uji resistensi antimikroba BAL menggunakan metode difusi sumur agar (well diffusion methode) dilakukan terhadap tiga bakteri uji yaitu *Escherichia coli* O157, *S. aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella enteritidis* ATCC 13076. Kultur BAL 1 ml disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit dengan suhu 27°C, supernatan digunakan untuk resistensi antimikroba. Media Mueller Hinton Agar (MHA) sebanyak 20 ml ditambahkan 0,2% bakteri uji yang sudah diremajakan,

didiamkan hingga agar mengeras dalam cawat petri. Kemudian lubang dibuat pada media MHA diameter $\pm 6,5$ mm. Selanjutnya, ditambahkan antibiotik (penisilin, kanamisin, dan ampisilin) sebagai kontrol positif untuk dapat membandingkan zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji patogen. Antibiotik diberikan menggunakan kertas disk yang sudah mengandung antibiotik untuk mengetahui resistensi dan sensitifitas bakteri uji patogen menggunakan kontrol positif antibiotik. Selanjutnya diinjeksikan 50 μ l supernatan BAL. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan terhadap zona bening yang berbentuk lingkaran setelah 24 jam dengan menggunakan jangka sorong (Prima et al.2022.).

2.3.3 Isolasi dan karakteristik 16S rRNA BAL

Isolasi genom dilakukan menggunakan Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, Pure-Link, AS) mengikuti petunjuk pabrik pembuatnya. Lisozim (PureLink, AS) digunakan pada 20 mg.ml⁻¹ untuk melisiskan dinding sel bakteri dan dengan demikian efisiensi ekstraksi protein atau asam nukleat dapat meningkat. DNA genom bakteri terpilih digunakan untuk amplifikasi gen 16S rRNA. Amplifikasi dilakukan menggunakan primer forward 63F (5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA G TC-3') dan primer reverse 1387R (5'-GGG CGG GGT GTA CAA GGC-3'). Campuran PCR meliputi 25 μ l DreamTaq Green DNA Polymerase (Thermo Fisher Scientific, AS), 22 μ l MQ, 1 μ l masing-masing primer forward atau reverse (masing-masing 10 μ M, sintesis IDT) dan 1 μ l template. Kondisi amplifikasi ditetapkan sebagai berikut: pemanasan awal pada suhu 95 °C selama 5 menit, tahap denaturasi pada suhu 95 °C selama 30 detik, pemanasan primer pada suhu 58 °C selama 30 detik, tahap ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit dan 35 siklus tahap ekstensi pasca-siklus pada suhu 72 °C selama 5 menit menurut (Harnentis et al. 2020) menggunakan thermal cycler (Biometra T-Personal Thermal Cycler, AS).

2.3.4 BLAST dan Analisis Filogenik

Analisis filogenetik dilakukan berdasarkan teknik yang telah dilaporkan sebelumnya. Perangkat lunak BioEdit digunakan untuk mengumpulkan data sekuensing dan data dikonversi ke format FASTA dan dianalisis menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov-/blast/cgi>). Analisis filogeni dilakukan dengan mengeksplor sekuens DNA ke Clustal W2 <http://ww->

w.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/). BLAST MEGA v6.0 (<http://www.megasoftware.net>) digunakan untuk membuat pohon filogenetik menggunakan metode neighbor-joining (NJ) (Otunba et al. 2021)

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolasi BAL dari Ikan Budu

Pada penelitian ini menggunakan fermentasi ikan Budu yang diambil di Kab. Padang Pariaman. Isolasi BAL dilakukan pada media MRS broth di inkubasi selama 24 jam suhu 37 °C diperoleh sebanyak 10 isolat yaitu MKS1, MKS2, MKS3, MKS4, MKS5, MKS6, MKS7, MKS8, MKS9, MKS10, Kesepuluh isolat telah dilakukan pengujian menggunakan CaCO_3 untuk menentukan bahwa Kesepuluh isolat tersebut merupakan bakteri asam laktat. Hasil dari uji CaCO_3 menunjukkan Kesepuluh isolat tersebut membentuk zona bening disekitarannya, berdasarkan hasil pewarnaan Gram di dapatkan hasil Gram positif, katalase negatif dan homofermentatif. Hal ini berarti 10 isolat tersebut tergolong bakteri asam laktat (Maslami, 2019). Pernyataan ini didukung oleh Chizhayeva et al. (2022) isolat yang tergolong bakteri asam laktat apabila ditambahkan CaCO_3 akan membentuk zona bening disekitaran koloninya.

Ikan Budu diproduksi Kab. Padang Pariaman merupakan ikan segar pada proses pembuatan, proses distribusi dan lamanya ikan Budu terpapar udara mempengaruhi jenis BAL yang ada pada ikan Budu tersebut. Jenis ikan yang digunakan untuk pembuatan ikan Budu ini yaitu ikan Tenggiri (*Scomberomorus guttatus*). Menurut Efendi et al. (2017) ikan Budu biasanya terbuat dari ikan pelagis dengan ukuran besar dan dagingnya putih seperti ikan Tenggiri (*Scomberomorus guttatus*) dan ikan talang-talang (*Chorinemus tala*).

3.2 Seleksi BAL dari Ikan Budu sebagai Kandidat Probiotik

3.2.1 Ketahanan Isolat BAL Ikan Budu terhadap PH Lambung

Pengujian ketahanan BAL terhadap pH lambung dilakukan pengujian pada pH 2.5 karena pH di dalam proventriculus dan gizzard yaitu 2.5 - 3.5 lama transit pakan selama 70 menit Reddy et al., (2004), dan diuji selama 3 jam dan 6 jam, Isolat BAL yang diuji ketahanannya terhadap pH 2,5 diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm, dengan hasil yang disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Ketahanan BAL Ikan Budu terhadap pH lambung

No	Isolat BAL	Waktu (3 jam) (%)	Waktu (6 jam) (%)
1	MKS 1	87.63 ± 8.02	81.21 ± 0.36
2	MKS 2	87.74 ± 4.44	84.65 ± 1.41
3	MKS 3	86.25 ± 2.77	78.45 ± 8.34
4	MKS 4	88.01 ± 3.76	84.96 ± 2.09
5	MKS 5	86.92 ± 4.43	83.72 ± 6.39
6	MKS 6	85.16 ± 2.09	80.83 ± 2.71
7	MKS 7	76.57 ± 3.42	69.79 ± 1.75
8	MKS 8	86,70 ± 4.52	80,88 ± 0.99
9	MKS 9	88,87 ± 2.74	82,81 ± 1.43
10	MKS 10	81,18 ± 2.68	76,98 ± 2.59

Keterangan: Nilai ± Standar deviasi

Hasil uji ini memberikan gambaran penting mengenai potensi dan efektivitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam mendukung kinerja saluran pencernaan. Dengan mengetahui karakteristik dan kemampuan BAL, seperti toleransi terhadap pH, garam empedu, serta aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen, kita dapat mengevaluasi sejauh mana BAL tersebut mampu bertahan dan berfungsi di lingkungan pencernaan yang kompleks. Uji ini juga menjadi dasar seleksi BAL yang memiliki potensi probiotik tinggi, yang nantinya bisa digunakan dalam formulasi pakan fungsional. Hasil penelitian Tabel 1 menunjukkan semua isolat bakteri asam laktat dapat bertahan pada pH 2.5 dengan waktu inkubasi selama 3 jam dan 6 jam, dengan resistensi minimal $\geq 50\%$ yang berarti semua isolat bakteri asam laktat dapat dijadikan sebagai probiotik. Hasil ini didukung oleh pendapat Prima et al.,(2023) yang menyatakan bakteri asam laktat sebagai kriteria probiotik dapat bertahan pada pH rendah $\geq 50\%$.

Sepuluh isolat bakteri asam laktat yang diuji ketahanannya terhadap pH 2.5 dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm, isolat yang memiliki ketahanan yang paling tinggi adalah isolat MKS 2, MKS 4, MKS 6, MKS 8 dan MKS 10 merupakan isolat yang diisolasi dari ikan Budu asal Padang Pariaman, dengan besar resistensi pada waktu inkubasi selama 3 jam berturut-turut yaitu : 87.74%, 88,01%, 84.16%, 84.74%, dan 81.18% dan mengalami penurunan pada waktu inkubasi 6 jam secara berturut-turut yaitu: 84.65%, 84.96%, 80.83%, 80,88% dan 78,98%. Selisih penurunan pH pada waktu inkubasi selama 3 jam dan 6 jam isolat MKS 2, MKS 4, MKS

6, MKS 8 dan MKS 10 secara berturut-turut, yaitu : 3.13, 3.04, 3,33, 3.91 dan 2.2, angka ini menunjukkan penurunan yang kecil. Penurunan yang kecil berarti memiliki ketahanan hidup yang besar. Hal ini sesuai dengan pendapat Prima et al. (2024) yang menyatakan bahwa, ketahanan hidup yang besar pada isolat bakteri asam laktat sebagai probiotik adalah isolat yang memiliki selisih penurunan yang kecil. Hasil penelitian ini lebih tinggi dari penelitian Yansen et al.,(2024)isolat yang diisolasi dari okara memiliki kelangsungan hidup pada pH 2.5 selama 2 jam sebesar 74.02%. Sedangkan penelitian Sim et al. (2015) bakteri asam laktat strain *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, dan *Pediococcus ethanolidurans* yang diisolasi dari acar tradisional memiliki kelangsungan hidup pada pH 2.5 selama 4 jam adalah 35-85%, 33-64%, dan 40-76%.

Bakteri asam laktat kandidat probiotik harus mampu bertahan terhadap kondisi ekstrim saluran pencernaan mulai dari mulut hingga mencapai usus dan selanjutnya hidup berkoloni di permukaan usus (Harnentis et al. 2020). Kondisi keasaman lambung berfungsi sebagai pintu gerbang pertama untuk melakukan seleksi mikroba sebelum masuk ke usus. Namun, pH yang terlalu rendah (sangat asam) tetap dapat menghambat bahkan membunuh probiotik. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri dari 90% peptidoglikan dan lapisan tipis lainnya adalah asam teikoat (Sakpetch et al. 2022). peptidoglikan terdiri dari turunan gula yaitu N-asetilmuramat dan N-asetilglukosamin serta beberapa asam amino yaitu D-alanin, asam D-glutamat, L-alanin, dan asam diaminopimelat (ADP).

3.2.2 Ketahanan Isolat BAL Ikan Budu terhadap Garam Empedu

Pengujian ketahanan BAL Ikan Budu terhadap garam empedu dengan konsentrasi 0.3% dan 0.5% yang diinkubasi selama 5 jam yang diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm diperoleh hasil pada **Tabel 2**. Hasil penelitian **Tabel 2** menunjukkan semua isolat bakteri asam laktat dapat bertahan terhadap garam empedu dengan resistensi >20% sesuai dengan pernyataan Marlida et al. (2023) kriteria probiotik memiliki tingkat kelangsungan hidup diperkirakan minimal mencapai 20-40% untuk strain yang terpilih, hambatan utama adalah keasaman lambung dan garam empedu. Dengan demikian isolat bakteri asam laktat yang memiliki kriteria probiotik yang baik dari 10 isolat adalah 5 isolat yang memiliki resistensi $\geq 50\%$ pada konsentrasi 0.3% garam empedu, yaitu isolat MKS 2, MKS 4, MKS 6, MKS 8 dan MKS 10,

merupakan isolat yang diisolasi dari ikan Budu asal Padang Pariaman, dengan besar resistensi pada konsentrasi garam empedu 0.3% berturut-turut yaitu: 59.56%, 55.41%, 57.35%, 53.49% dan 51.36% , mengalami penurunan pada saat konsentras garam empedu (oxgall) dinaikkan menjadi 0.5%, secara berturut-turut yaitu: 55.78%, 50.73%, 54.36%, 51.35% dan 48,35 %. Selisih penurunan resistensi pada konsentrasi garam empedu 0.3% dan 0.5% pada isolat MKS 2, MKS 4, MKS 6, MKS 8 dan MKS 10, secara berturut-turut, yaitu : 3.80, 4.68, 2.99, 2.14 dan 3.01 angka ini menunjukkan penurunan yang kecil. Penurunan yang kecil berarti memiliki ketahanan hidup yang besar. Hal ini sesuai dengan pendapat Mulyani et al. (2023) yang menyatakan bahwa, ketahanan hidup yang besar pada isolat bakteri asam laktat sebagai probiotik adalah isolat yang memiliki selisih penurunan pH gram empedu yang kecil.

Tabel 2. Ketahanan BAL Ikan Budu terhadap garam empedu

No	Isolat BAL	Resistensi (%)	
		Garam Empedu 0.3%	Garam Empedu 0.5%
1	MKS 1	47,22 ± 1.11	42,75 ± 1.35
2	MKS 2	59,56 ± 1.21	55,7 8± 1.42
3	MKS 3	45,97 ± 4.01	38,75 ± 2.78
4	MKS 4	55,41 ± 1.19	50,73 ± 0.52
5	MKS 5	48,69 ± 2.00	42,25 ± 7.77
6	MKS 6	57,35 ± 1.24	54,36 ± 1.19
7	MKS 7	47,57 ± 2.25	43,51 ± 2.61
8	MKS 8	53,49 ± 2.10	51.35 ± 1.47
9	MKS 9	43,26 ± 1.36	39,49 ± 3.36
10	MKS 10	51,36 ± 0.61	48,35 ± 1.22

Keterangan: Nilai ± Standar deviasi

Karakteristik isolat yang diuji berpotensi sebagai probiotik karena tahan terhadap garam empedu usus halus, sehingga dapat bertahan dalam usus besar (Prima et al., 2023). Menurut Mulaw et al. (2019) bakteri asam laktat mampu bertahan hidup pada garam empedu karena memiliki enzim *bile salt hidrolase* (BSH) dengan mekanisme komponen utama garam empedu adalah asam empedu, membran bakteri merupakan target utama asam empedu tersebut, bakteri untuk dapat bertahan hidup dari garam empedu menghasilkan enzim *bile salt hidrolase* (BSH) dengan aktivitas mengkonjugasi asam empedu menjadi asam empedu bebas, asam empedu bebas dapat berpartisipasi dalam berbagai metabolisme yang meliputi pengaturan penyerapan lemak makanan,

metabolisme kolesterol, yang terpenting dapat menciptakan kondisi homeostatis di dalam membran bakteri, yang mempengaruhi terjadinya perubahan dalam lemak sehingga terjadi produksi eksopolisakarida (EPS). Eksopolisakarida berfungsi sebagai agen perlindungan terhadap garam empedu (0.15%-0.3%) dan pH rendah 2-3 (Prima et al., 2024).

3.2.3 Daya Hambat Isolat BAL Ikan Budu terhadap Bakteri Patogen

Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari ikan Budu memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen *Escherichia coli* O157 dan *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis* terhadap lima isolat yang memiliki ketahanan tertinggi terhadap pH asam lambung dan gram empedu dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Diamater Zona Bening Uji Aktivitas Antimikroba (mm)

No.	Isolat BAL	Diameter zona bening (mm)		
		<i>Escherichia coli</i> O157	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076
1	MKS2	14.06	12.03	15.63
2	MKS4	14.79	14.89	16.64
3	MKS6	12.43	14.25	16.04
4	MKS8	12.46	13.40	16.50
5	MKS10	14.28	13.85	15.68

Hasil yang didapat dari penelitian dapat dilihat pada **Tabel 3** menunjukkan luas zona bening/luas zona hambat masing-masing isolat sangat bervariasi hal ini dikarenakan perbedaan kemampuan masing-masing bakteri dari tiap isolat juga berbeda. Menurut Steglińska et al. (2022) luasan zona bening yang terbentuk disekitar sumur agar yang telah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dapat dikatakan dengan hasil positif. Terbentuknya zona bening dikarenakan hasil metabolisme dari BAL memproduksi asam laktat, hydrogen peroksida dan bakteriosin yang mempunyai sifat sebagai antimikroba. Isolat BAL yang memiliki zona hambat terbesar pada *E. coli* O157 dimiliki oleh isolat MKS4 dengan diameter 14,79 mm, sedangkan terendah adalah MKS6 yaitu 12,43 mm. Diameter zona hambat terbesar terhadap bakteri *S. aureus* pada isolat MKS4 yaitu 14,89 mm, sedangkan terendah adalah MKS1 yaitu 12,03 mm. Diameter zona hambat terbesar terhadap bakteri *Salmonella enteritidis* yang memiliki zona hambat terbesar adalah isolat

MKS4 dengan diameter 16,64 mm, sedangkan terendah adalah isolat MKS1 sebesar 15,63 mm.

Dari hasil penelitian pada tabel dapat dilihat bahwa masing-masing isolat mempunyai kemampuan penghambatan terhadap bakteri patogen walaupun dengan kemampuan yang berbeda-beda, dilihat dari luasan zona bening yang dihasilkan dari setiap isolatnya. Menurut Hossain et al. (2022) aktivitas zona hambat dikelompokkan menjadi empat kategori yaitu: aktivitas lemah (<2 mm), sedang (2–10 mm), kuat (11–20 mm), sangat kuat (21–30 mm). Efek antimikroba secara langsung diberikan oleh adanya asam-asam organik meliputi laktat, asetat, dan propionat. Sifat antimikroba dihasilkan karena adanya pengaruh asam terhadap membran sitoplasmik bakteri yang mempengaruhi transport aktif dan potensial membran. Menurut Prima et al. (2022) selama pertumbuhan sebagian besar gula dirubah oleh BAL menjadi asam laktat yang memberikan daya hambat terhadap mikroorganisme patogen. Asam yang tidak terdisosiasi ini yang menjadi sifat antimikroba yang utama dari BAL. Asam yang tidak terdisosiasi ini menargetkan dan menyerang membran bakterin patogen menyebabkan anion asam lemah berkumpul di sitoplasma yang selanjutnya mempengaruhi proses metabolisme. Terjadi penghambatan pertumbuhan dan secara perlahan-lahan akan mati.

Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian (Syukur et al. 2022) tentang aktivitas antimikroba BAL asal kulit ari kacang kedelai dengan bakteri uji *Escherichia coli* O157, dimana didapatkan zona hambat BAL terhadap *Escherichia coli* O157 yaitu 1,42 mm sampai 2,31 mm aktivitas anti- mikroba bakteri *Escherichia coli* O157 hasil isolat BAL asal Ikan Budu Padang Pariaman juga lebih tinggi. Aktifitas antimikroba ikan *Budu* yang dilakukan oleh Yusra et al. (2014) luasan zona bening oleh BAL ikan *Budu* pada bakteri uji *E.coli* dengan kisaran zona 1,57 – 2,01 mm dan pada bakteri *S. aureus* 1,3 – 2,4 mm. Hal ini sesuai dengan penelitian Rany (2020) dimana bakteri uji penisilin tidak dapat menghambat pertumbuhan dari *Escherichia coli* O157, sehingga dapat dikatakan antibiotik penisilin resisten terhadap bakteri *Escherichia coli* O157. Ardita et al. (2015) menyatakan produksi asam laktat akan menyebabkan terbentuknya zona bening di sekitar koloni BAL. Kemampuan daya hambat terhadap patogen yang ditetapkan oleh Jacobsen et al. (1999) adalah luas zona hambat minimal 1 mm, positif 1 (+) bila daerah bening antara 2-5 mm dan aktivitas penghambat kuat (++) bila lebih dari 5 mm

3.3 Persentase Potongan Paha

3.3.1 Hasil Amplifikasi Gen 16S rRNA Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR)

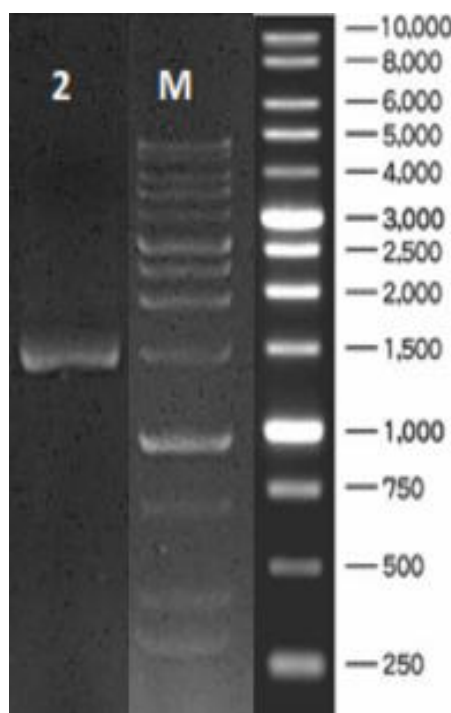
Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa kegiatan PCR yang dilakukan berhasil mengamplifikasikan daerah gen 16S rRNA lima isolat BAL asal ikan Budu. Hal ini dapat dilihat dengan munculnya fragmen produk PCR dengan ukuran 1500 bp yang merupakan ukuran yang diharapkan jika menggunakan kombinasi primer 27F AGAGTTTGATCCTGGCTGAG untuk arah forward dengan primer 1492 R GTTTACCTTACGACTT untuk arah reverse.

Amplifikasi gen 16S rDNA terhadap DNA genom bakteri asam laktat dilakukan untuk memastikan keberhasilan proses isolasi DNA genom. Kemudian, produk PCR gen 16S rRNA dipakai untuk identifikasi bakteri asam laktat yang telah berhasil diisolasi. Amplifikasi dengan gen 16S rRNA yang kemudian dilanjutkan dengan sekuensing untuk mengetahui urutan basa nukleotida ampikon. Dasar penggunaan gen 16S rRNA menurut Roesma et al. (2020) adalah (1) sekuen basa nukleotida bersifat konservatif, (2) bersifat universal karena sebagai tempat sintesis protein (protein synthesis machinery), (3) ketersediaan informasi (database di GenBank), (4) memenuhi ukuran untuk perhitungan secara statistika (tidak terlalu panjang dan tidak terlalu pendek) dan (5) jumlahnya melimpah dalam sel. Hasil elektroforesis produk PCR isolat BAL yang didapatkan adalah pada **Gambar 2**.

Pendekatan molekuler dengan tujuan analisis kekerabatan genetik BAL adalah dengan cara membandingkan sekuens ribosomal RNA. Penerapan teknologi ini dengan adanya nucleotide sequence database dari gen 16S rRNA yang dapat digunakan sebagai pembanding nukleotida hasil sequensing. Menurut Nuswantoro et al. (2021) amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan forward primer yang didesain berdasarkan pada wilayah lain dari gen 16S rRNA yang bersifat genus-spesifik untuk BAL. Proses PCR memungkinkan amplifikasi selektif fragmen DNA target secara spesifik dengan menggunakan primer oligonukleotida dalam reaksi yang terkontrol.

Hasil yang didapat pada penelitian (**Gambar 2**) menunjukkan hasil amplifikasi ke lima sampel DNA 1500 bp pada gel agarosa. Hal ini mengindikasikan bahwa primer spesifik yang digunakan pada penelitian mampu mengidentifikasi bakteri hingga ke tingkat strainnya. Keunggulan dari teknologi identifikasi BAL berbasis gen 16S rRNA

hanya dapat dilakukan jika informasi sekuen nukleotida dari bakteri target telah diketahui. Sekuen genom beberapa bakteri dapat digunakan untuk menilai evolusi dan divergensinya, membandingkan analisis sekuens gen 16S rRNA menjadi metode yang sangat penting dalam klasifikasi mikroorganisme dan organisme eukarotik sebagai refleksi hubungan evolusioner alami atau filogeni (Roesma et al. 2022)



Gambar 2. Hasil elektroforesis PCR Isolate BAL asal Ikan Budu (M =Marker, 2 Ikan Budu Kab. Padang Pariaman)

3.3.1 Analisis Sekuen Gen 16S rRNA Isolat dari Ikan Budu

Hasil sekuensing isolat MKS4 dibandingkan dengan data *Gene Bank* menggunakan program *Basic Local Allignment Search Tool* (BLAST) untuk mengetahui homologi sekuen yang dilakukan online pada website NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Sequence Assembly

>Sampel_MKS4

```
GGATGGACCCGGGCGTATTAGCTGTTGGTAGGTACGGCCTACCAAGGCAAT
GATCGTAGCCGACCTGAAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGC
CCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGATCTTCCACAATGGACGAAAGT
CTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGGTTTCGGCTCGTAAACTCT
GTTGTTGGAGAAGAACAGGTGTGAGAGTAAGTGTTCACATCTTGACGGTAT
CCAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTA
```

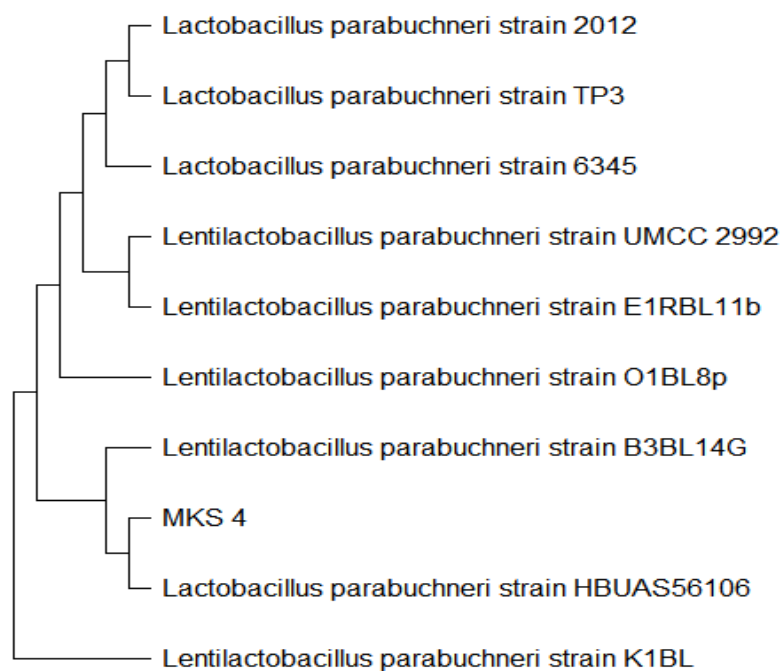
```
GGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTT
TCTTAGGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAA
ACCAGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAAGTCCATGTGTAGCGGT
GAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGT
CTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCG
CCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGAC
CGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGA
GCATGTGGTTTAATTCGATGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATC
TTCTGCCAACCTAAGAGATAGCGTTCCCTTCGGGGACGAATGACAGGTGGT
GCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTGGGTAAGTCCCGCAACAC
GCACCCTTATGTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTAGCAGATGCCGGT
GACAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAATCATCATGCCCTTATGACCT
GGG
```

Gambar 3. Hasil sekuensing MKS 4 isolat BAL dari Ikan Budu Kab. Padang Pariman

BLAST yang dilakukan pada (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) di dapatkan jenis bakteri dari isolat yakni MKS4 dari ikan Budu kab. Padang Pariaman ialah memiliki kemiripan 99,61% dengan *L. parabucneri* strain HBUAS56106. Hal ini menandakan bahwa MKS4 jenis bakteri isolat BAL pada Ikan Budu Kab. Padang Parimana yang ditemukan memiliki kedekatan dengan *Percent Identity* 97,61, sesuai dengan penelitian Prima et al. (2022) menyatakan bahwa isolat yang memiliki kemiripan sekuen 16S rRNA lebih dari 97% dapat mewakili spesies yang sama. Sedangkan persamaan sekuen antara 93%-97% dapat mewakili identitas bakteri pada tingkat genus namun berbeda spesies. Menurut Steglińska et al. (2022) satu spesies hanya terdapat 3% perbedaan urutan sekuen gen 16S rRNA atau dapat dikatakan memiliki homolog sekuen $\geq 97\%$, homolog sekuen dengan nilai $\geq 97\%$ setara dengan angka minimal 70% hibridasi yang digunakan untuk menyatakan dua bakteri termasuk dalam satu spesies.

Berdasarkan hasil PCR (Polymerase Chain Reaction) yang telah dilakukan dan setelah dianalisis menggunakan BLAST diperoleh jenis bakteri isolat sampel MKS4 Ikan Budu memiliki kemiripan 99,61% dengan *L. parabucneri* strain HBUAS56106, Sesuai dengan pernyataan Nuswantoro et al. (2021) bahwa suatu sekuen dapat dikatakan homolog bila memiliki similitas lebih dari 70%, Sedangkan persamaan sekuen antara 93-97% dapat mewakili identitas bakteri pada tingkat genus namun berbeda spesies. Pohon filogenetik yang diperoleh menunjukkan dekatnya kekerabatan antar bakteri *L. parabucneri*. Terlihat pola yang sangat jelas di mana sampel MKS 4 bakteri membentuk

grup monofiletik dengan *L. parabuchneri* strain HBUAS56106. Hal ini mengindikasikan reliabilitas kekerabatan yang sangat dekat antar bakteri tersebut yang berasal dari nenek moyang yang sama. Analisis yang dilakukan pada BLAST kemudian divisualisasi dengan menggunakan *tools* aplikasi MEGA v7.0 yang sebelumnya telah dilakukan alignment menggunakan aplikasi bioedit terlebih dahulu. Dapat dikatakan bahwa isolate MKS 4 merupakan spesies dari genus *Lactobacillus*.



Gambar 4. Pohon filogenetik isolat MKS4

Syukur dan Purwati (2019), menyatakan bahwa bakteri golongan *Lactobacillus* termasuk kelompok bakteri “bakteri asam laktat” dan paling banyak digunakan sebagai agen probiotik karena produk akhir metabolisme asam laktat berasal dari fermentasi gula dan merupakan bakteri anaerob yang banyak terdapat pada makanan fermentasi seperti yogurt, keju, asinan, kimchi, dan stock fish. Dapat disimpulkan bahwa *L. parabuchneri* bisa digunakan sebagai probiotik. Selain itu, BAL yang ditemukan dari ikan Budu Kabupaten Padang Pariaman merupakan bakteri yang halal untuk dikonsumsi karena berasal dari ikan, berbeda dengan beberapa jenis BAL yang digunakan dalam produk fermentasi ikan seperti *Pediococcus* yang diisolasi dari bekasam (Prima et al., 2021). Mount et al. (2017) menyatakan bahwa disamping ketahanan pangan yang harus aman

dan memiliki mutu yang baik, produk pangan ikan harus memenuhi kriteria ASUH (aman, sehat, utuh dan halal).

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Aljabar (2018) isolasi BAL dari Asinan Rebung Asal Musi Rawas Utara didapatkan spesies BAL hasil sekuensing *Pediococcus pentosaceus* dan *Enterococcus avium*. Spesies bakteri yang ditemukan berbeda-beda karena jenis dari ikan fermentasi juga berbeda baik itu dari ikan segar yang digunakan, bahan untuk fermentasi serta cara fermentasi yang juga berbeda sehingga bakteri yang ditemukan juga akan berasal dari jenis yang berbeda. Hasil penelitian ini sangat berbeda dengan yang dilakukan oleh Yusra (2020) isolasi genom isolat ikan *Budu* dengan gen 16S rRNA didapatkan bakteri *Bacillus cereus* strain HRV22 dan penelitian Wikandari et al. (2019) mendapatkan hasil identifikasi bakteri asam laktat asal bekasam adalah *L. brevis*, *L. pentosus* dan *Pediococcus pentosaceus*.

4. Kesimpulan

Sebanyak 10 isolat bakteri asam laktat telah berhasil diisolasi dari ikan *Budu* dan teridentifikasi memiliki sel berbentuk basil. Dari 10 isolat bakteri asam laktat ikan *Budu*, lima isolat (IB2c, IB4 dan IB5d) memiliki potensi antimikroba. Isolat MKS4 menghasilkan Anti mikroba tertinggi sebesar 14.79 terhadap *Escherichia coli*, 14.89 terhadap *S. aureus* dan 16,64 terhadap *Salmonella entttertidis*. Berdasarkan karakterisasi biokimia, isolat MKS4 penghasil Antimikroba tertinggi adalah Gram positif, katalase negatif dan homofermentatif serta dapat memanfaatkan berbagai sumber karbon untuk setiap isolatnya. Berdasarkan analisis sekuens gen 16S rRNA, isolat MKS4 dari ikan *Budu* teridentifikasi sebagai *L. parabucneri* strain HBUAS56106 (nomor akses OP962314.1), isolat MKS4 yang memiliki senyawa antimikroba terbaik tergolong bakteri probiotik.

Daftar Pustaka

- Ardita, N., Budiharjo, A., and Sari, S. L. A. 2015. Growth and feed conversion ratio of tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) with addition of probiotics. *Asian Journal of Tropical Biotechnology* 12(1): 16–21.
- Chizhayeva, A., Amangeldi, A., Oleinikova, Y., Alybaeva, A., and Sadanov, A. 2022. Lactic acid bacteria as probiotics in sustainable development of aquaculture. *Aquatic Living Resources EDP Sciences* 35: 10.

- Efendi, Y., Yusra, Y., and Efendi, V. O. 2017. Optimasi Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* sebagai Sumber Enzim Protease. *Jurnal Akuatika Indonesia* Padjadjaran University 2(1): 87–94.
- Harnentis, H., Marlida, Y., Nur, Y. S., Wizna, W., Santi, M. A., Septiani, N., Adzitey, F., and Huda, N. 2020. Novel probiotic lactic acid bacteria isolated from indigenous fermented foods from West Sumatera, Indonesia. *Veterinary World* Veterinary World 13(9): 1922.
- Hossain, T. J., Mozumder, H. A., Ali, F., and Akther, K. 2022. Inhibition of pathogenic microbes by the lactic acid bacteria *Limosilactobacillus fermentum* strain LAB-1 and *Levilactobacillus brevis* strain LAB-5 isolated from the dairy beverage borhani. *Current Research in Nutrition and Food Science* 10(3): 928–939.
- Ilyanie, H. Y., Huda-Faujan, N., Muryany, M. Y. I., and Zuraida, J. 2022. Isolation and characterisation of probiotic lactic acid bacteria from Malaysian fermented fish products Budu and bosou. *International Food Research Journal* Universiti Putra Malaysia, Faculty of Food Science & Technology 29(2): 338–348.
- Jacobsen, C. N., Rosenfeldt Nielsen, V., Hayford, A. E., Møller, P. L., Michaelsen, K. F., Paerregaard, A., Sandstrom, B., Tvede, M., and Jakobsen, M. 1999. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Applied and environmental microbiology* Am Soc Microbiol 65(11): 4949–4956.
- Malikil Kudus, S. 2023. ANALISIS METAGENOM BAKTERI ASAL IKAN BUDU SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK KONSORSIUM DAN APLIKASINYA TERHADAP KINERJA PERTUMBUHAN DAN KUALITAS DAGING BROILER. UNAND.
- Marlida, Y., Nurmiati, N., Husmaini, H., Huda, N., Anggraini, L., and Ardani, L. R. 2023a. The potential of lactic acid bacteria isolated from ikan Budu (fermented fish) to inhibit the growth of pathogenic fungi and detoxify aflatoxin B1. *Veterinary World* Veterinary World 16(7): 1373.
- Marlida, Y., Susalam, M. K., Harnentis, H., Jamsari, J., Huda, N., Noordin, W. N. M., Anggraini, L., and Ardani, L. R. 2023b. Metagenomic analysis and biodiversity of bacteria in traditional fermented fish or Budu from West Sumatera, Indonesia. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research Network for the Veterinarians of Bangladesh* 10(4): 801.
- Mulaw, G., Sisay Tessema, T., Muleta, D., and Tesfaye, A. 2019. In vitro evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from some traditionally fermented Ethiopian food products. *International journal of microbiology* Wiley Online Library 2019(1): 7179514.
- Mulyani, S., Pramono, Y. B., and Handayani, I. 2023. Animal-Based Fermented Foods in Tropical Countries: Functional Aspects and Benefits. in: *Food Sustainability, Environmental Awareness, and Adaptation and Mitigation Strategies for Developing Countries* IGI Global 80–101.
- Nuswantoro, N. F., Manjas, M., Suharti, N., Juliadmi, D., Fajri, H., Tjong, D. H., Affi, J., and Niinomi, M. 2021. Hydroxyapatite coating on titanium alloy TNTZ for increasing osseointegration and reducing inflammatory response in vivo on *Rattus norvegicus* Wistar rats. *Ceramics International* Elsevier 47(11): 16094–16100.
- Octarya, Z., Syukur, S., and Purwati, E. 2013. Purifikasi Parsial Enzim Ekstraseluler (*Anoxybacillus* sp.) yang Diisolasi dari Sumber Air Panas Bukit Kili Solok serta

- Aplikasinya untuk Menghidrolisis Limbah Berserat. *Jurnal Natur Indonesia* 15(2): 106–114.
- Otunba, A. A., Osuntoki, A. A., Olukoya, D. K., and Babalola, B. A. 2021. Genomic, biochemical and microbial evaluation of probiotic potentials of bacterial isolates from fermented sorghum products. *Heliyon Elsevier* 7(12).
- Prima, H. S. 2023. Karakterisasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat Diisolasi dari Ikan Bilih (*Mystacoleucus padangensis*) Danau Singkarak Berpotensi Sebagai Probiotik. *Majalah Kedokteran Andalas* 46(4): 535–547.
- Prima, H. S., Rusfidra, R., Yansen, F., and Satrianto, A. (n.d.). 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): 257–270.
- Prima, H. S., Satrianto, A., and Amar, S. (n.d.). Antimicrobial Potential of *Limosilactobacillus Fermentum* Isolated from Bilih Fish (*Mystacoleucus padangensis*) of Singkarak Lake, West Sumatera, Indonesia. *Applied Food Biotechnology* 9(4): 297–309.
- Prima, H. S., Susalam, M. K., Fajri, F., Maulana, F., and Yansen, F. 2024. The POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus fermentum* DIISOLASI DARI IKAN BILIH (*Mystacoleucus padangensis*) DANAUSINGKARAK TERHADAP PERFORMA PRODUKSI DAN PENURUNAN KOLESTROL PUYUH PETELUR. *Jurnal Peternakan Borneo* 3(2): 8–21.
- Prima, H. S., and Yansen, F. 2023. POTENSI BAL PROBIOTIK DARI IKAN BILIH (*Mystacoleucus padangensis*) DANAUSINGKARAK DALAM APLIKASI PEMBUATAN SABUN PADAT EKSTRAK LIDAH BUAYA (*Aloe vera*). *Jurnal Kesehatan Medika Saintika* 14(1): 254–265.
- Prima, H. S., and Yansen, F. 2024. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT JERUK JESIGO (*Citrus nobilis* Lour) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Listeria monocytogenes* ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE EXTRACT OF JESIGO ORANGE (*Citrus nobilis* Lour) PEEL AGAINST *Escherichia coli* AND *Listeria monocytogenes* BACTERIA. *Jurnal Zarah* 12(1): 17.
- RAMADHANTI, N., MELIA, S. R. I., HELLYWARD, J., and PURWATI, E. 2021. Characteristics of lactic acid bacteria isolated from palm sugar from West Sumatra, Indonesia and their potential as a probiotic. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 22(5).
- Rany, M. N. 2020. KARAKTERISTIK BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL IKAN FERMENTASI TRADISIONAL (TUKAI) DI KOTA PADANG SUMATERA BARAT. Universitas Andalas.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., and Vivekanandan, M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of plant physiology Elsevier* 161(11): 1189–1202.
- Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, A. S. M. R. U., and Jahid, I. K. 2020. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of dairy science Elsevier* 103(2): 1223–1237.
- ROESMA, D. I., TJONG, D. H. O. N., and AIDIL, D. R. 2020. Phylogenetic analysis of transparent gobies in three Sumatran lakes, inferred from mitochondrial

- Cytochrome Oxidase I (COI) gene. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 21(1).
- Roesma, D., TJONG, D. H. O. N., Janra, M., and Aidil, D. 2022. DNA barcoding of freshwater fish in Siberut Island, Mentawai Archipelago, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 23(4).
- Sakpetch, P., Benchama, O., Masniyom, P., Salaipeh, L., and Kanjan, P. 2022. Physicochemical characteristics and flavor profiles of fermented fish sauce (Budu) during fermentation in commercial manufacturing plant. *Journal of Food Science and Technology* Springer 1–10.
- Sim, K. Y., Chye, F. Y., and Anton, A. 2015. Chemical composition and microbial dynamics of Budu fermentation, a traditional Malaysian fish sauce. *Acta Alimentaria Akadémiai Kiadó* 44(2): 185–194.
- Steglińska, A., Kołtuniak, A., Motyl, I., Berłowska, J., Czyżowska, A., Cieciora-Włoch, W., Okrasa, M., Kręgiel, D., and Gutarowska, B. 2022. Lactic acid bacteria as biocontrol agents against potato (*Solanum tuberosum* L.) pathogens. *Applied Sciences* MDPI 12(15): 7763.
- Susalam, M. K., Marlida, Y., Harnentis, H., and Jamsari, J. 2022. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Ikan Fermentasi Budu Sumatra Barat Terhadap Sifat-Sifat Probiotik. in: *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Agribisnis Peternakan (STAP)* 592–600.
- SYUKUR, S., SAFRIZAYANTI, S., ZULAIHA, S., SUPRIWARDI, E. P. I., FAHMI, A., NURFADILAH, K. K. H., and PURWATI, E. 2022. Potential antioxidant activity of *Lactobacillus fermentum* KF7 from virgin coconut oil products in Padang, West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 23(3).
- Wikandari, R., Sanjaya, A. P., Millati, R., Karimi, K., and Taherzadeh, M. J. 2019. Fermentation inhibitors in ethanol and biogas processes and strategies to counteract their effects. in: *Biofuels: alternative feedstocks and conversion processes for the production of liquid and gaseous biofuels* Elsevier 461–499.
- Yansen, F., and Prima, H. S. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Jesigo (*Citrus nobilis* Lour) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* DAN *Listeria monocytogenes*. *Jurnal Zarah* 12(1): 16–24.
- YUSRA, Y., AZIMA, F., NOVELINA, N., and PERIADNADI, P. 2014. Characterization of antimicrobial bacteriocin produced by *Bacillus cereus* SS28 isolates from Budu, a traditionally fermented fish product of west Sumatera. *Microbiology Indonesia* 8(1): 4.
- Yusra, Y., Syandri, H., Efendi, Y., and Huda, N. 2022. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Budu, a West Sumatra fish fermentation product, and their ability to produce exopolysaccharides. *F1000Research* F1000 Research Limited London, UK 11: 1139.