



## Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat pada Dadih dengan Menggunakan Gen 16S rRNA

**Alfina Yuliana**

Universitas Negeri Padang, Indonesia

E-mail: [alfinayuliana07@gmail.com](mailto:alfinayuliana07@gmail.com)

**Minda Azhar\*)**

Universitas Negeri Padang, Indonesia

E-mail: [minda@fmipa.unp.ac.id](mailto:minda@fmipa.unp.ac.id)

\*) Corresponding Author

### Articel History

Received : 11 Oktober 2021

Revised : 21 Februari 2022

Accepted : 25 Maret 2022

**Abstract:** Dadih is a food product that is naturally fermented from buffalo milk which contains lactic acid bacteria. Determination of the genus or species of bacteria can be identified molecularly. Bacteria can be identified by phenotype and genotype. This study aims to determine the genus or species of lactic acid bacteria in dadih. Identification of lactic acid bacteria was carried out by isolating lactic acid bacteria from the dadih, then isolating the chromosomal DNA of bacterial isolate that had been obtained. Gene of 16S rRNA was amplified using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method with forward BactF1 and reverse UniB1 primers. The PCR amplicon was sequenced using the Dideoxy-Sanger method with a forward BactF1 primer. Sequencing data was read with the BioEdit program. The size of the 16S rRNA gene fragment obtained was 1040 bp. Analysis of the nucleotide base sequence of the 16S rRNA gene fragment showed that the isolate UBC-DTK-02 belonged to the Enterococcus genus and Enterococcus faecalis species.

**Intisari:** Dadih merupakan produk pangan fermentasi secara alami dari susu kerbau yang mengandung bakteri asam laktat. Penentuan kelompok genus atau spesies bakteri tersebut dapat dilakukan identifikasi secara molekuler. Penelitian ini bertujuan menentukan kelompok genus atau spesies bakteri asam laktat pada dadih. Identifikasi bakteri asam laktat dilakukan dengan cara isolasi bakteri asam laktat dari dadih, kemudian mengisolasi DNA kromosom isolat bakteri yang telah diperoleh (UBC-DTK-02). Gen 16S rRNA diamplifikasi menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) dengan primer forward BactF1 dan primer reverse UniB1. Amplikon PCR sekuensing dengan metode Dideoxy-Sanger menggunakan primer forward BactF1. Data sekuensing dibaca dengan program BioEdit. Ukuran fragmen gen 16S rRNA yang diperoleh 1040 bp. Analisis pada urutan basa nukleotida fragmen gen 16S rRNA ini menunjukkan bahwa isolat UBC-DTK-02 termasuk kelompok genus Enterococcus dan spesies Enterococcus faecalis.

**Keywords:** dadih, bakteri asam laktat, gen 16S rRNA, PCR

### PENDAHULUAN

Kebanyakan kita mengenal produk olahan susu fermentasi dengan bahan dasar susu sapi, seperti yoghurt dan yakult. Padahal, sebenarnya ada produk olahan susu fermentasi lain menggunakan susu kerbau yang tidak kalah bermanfaat untuk kesehatan, yaitu dadih. Dadih merupakan produk susu fermentasi alami yang berasal

dari Sumatera Barat, diolah secara tradisional dengan menuangkan susu kerbau ke dalam tabung bambu yang ditutup dengan daun pisang selama 48 jam (Yurliasni, 2010).

Dadih merupakan produk susu fermentasi alami, berwarna putih, teksturnya seperti tahu, rasanya seperti yoghurt, dan umumnya disajikan sebagai

makanan pelengkap yang lezat dalam beberapa acara adat di Sumatera Barat. Dadih adalah produk bergizi tinggi, dimana kandungan protein dan lemaknya lebih tinggi dari pada yoghurt, kaya akan asam amino dan bakteri probiotik seperti *Lactobacillus* sp. serta rendah kolesterol (Surono, 2015).

Dadih mengandung bakteri asam laktat (BAL). BAL merupakan bakteri yang menguntungkan, aman dan tidak bersifat patogen, sehingga dapat memperpanjang masa simpan produk pangan. Bakteri ini dapat menghambat bakteri pembusuk dan dapat menghambat bakteri patogen. Bakteri asam laktat yang terkandung pada dadih mampu memberi manfaat yang sangat baik untuk kesehatan manusia, karena BAL dapat memproduksi berbagai komponen bioaktif dan juga bersifat sebagai probiotik (Surono, 2003).

Adanya bakteri asam laktat yang terkandung pada dadih terjadi tanpa penambahan kultur starter, sehingga fermentasi terjadi secara spontan. Pertumbuhan bakteri asam laktat dalam fermentasi secara spontan tanpa penambahan kultur starter pada bahan baku ini tidak bisa dikontrol maupun diprediksi secara tepat (Y. Widyastuti et al., 2014).

Sumber bakteri pada dadih beragam, sehingga perlu diketahui dan diidentifikasi berapa macam bakteri asam laktat yang terdapat di dalamnya. Isolat bakteri asam laktat dapat diidentifikasi secara fenotip dan genotip. Identifikasi secara fenotip membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan identifikasi secara genotip. Identifikasi secara genotip dilakukan dengan analisis secara molekuler menggunakan gen 16S rRNA, untuk mengetahui jenis dan hubungan kekerabatannya dengan bakteri asam laktat lainnya (Kasi et al., 2017). Gen 16S rRNA adalah yang paling umum digunakan sebagai penanda molekuler dan digunakan kemiripan urutan basa nukleotidanya untuk mengidentifikasi

kelompok bakteri hingga tingkat spesies. Gen 16S rRNA berukuran sekitar 1500 basa, sehingga cukup memadai dan mempermudah dalam proses amplifikasi gen tersebut dengan metode PCR dan proses sekuensing (Syukur et al., 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk skrining dan isolasi bakteri asam laktat pada dadih. Bakteri asam laktat ditumbuhkan pada media selektif de Man Rogosa Sharpe (MRS). DNA kromosom bakteri asam laktat diisolasi dengan kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega). Isolat bakteri asam laktat yang diperoleh diidentifikasi secara molekuler menggunakan gen 16S rRNA untuk menentukan kelompok genus atau spesies dari isolat bakteri asam laktat pada dadih.

## **METODE**

### **Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih**

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan secara aseptis. Sampel dadih sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berisi 9 mL MRS broth steril dan inkubasi shaker selama 48 jam pada temperatur 37°C. Pengenceran dilakukan dengan cara memasukkan 1 mL kultur media ke erlenmeyer berisi 9 mL MRS broth steril. Kultur media cair hasil pengenceran diinokulasikan ke media MRS agar dengan metode spread dan diinkubasi selama 48 jam pada temperatur 37°C. Koloni bakteri asam laktat pada media MRS agar diinokulasi kembali ke media MRS agar dengan metode streak dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C untuk memperoleh koloni bakteri asam laktat murni (Purwati et al., 2014)

### **Isolasi dan Elektroforesis DNA Kromosom Bakteri Asam Laktat**

Kultur bakteri sebanyak 1,50 mL disentrifugasi pada temperatur 40°C selama 3 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Endapan yang terbentuk ditambahkan 480 µL EDTA 50 mL dan 120 µL lisozim dan diinkubasi selama 45 menit pada temperatur 37°C, kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 12000 rpm. Endapan yang terbentuk dilarutkan

dengan Nucleic Lysis Solution, inkubasi 5 menit pada temperatur 80°C dan ditambahkan 3 µL RNase, sampel dihomogenkan dan diinkubasi 45 menit pada temperatur 37°C. Sampel ditambahkan 200 µL Protein Precipitation Solution dan divortex 20 detik serta diinkubasi 5 menit dalam batu es. Sampel disentrifugasi 5 menit dengan kecepatan 12000 rpm. Supernatan dipisahkan, dimasukkan ke tabung mikro berisi larutan isopropanol dan disentrifugasi 5 menit dengan kecepatan 12000 rpm. Endapan yang terbentuk ditambahkan etanol 70% dingin, lalu disentrifugasi 3 menit dengan kecepatan 12000 rpm. Endapan dikeringkan 10-15 menit, kemudian ditambahkan 100 µL DNA Rehydration Solution. Sampel didiamkan semalaman pada temperatur 40°C. Untuk melihat fragmen pita DNA kromosom hasil isolasi dilakukan visualisasi dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa.

Elektroforesis gel agarosa dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,50 gram bubuk agarosa dan dilarutkan dengan 50,00 mL buffer TAE 1x kemudian dipanaskan sampai mendidih dalam microwave dan ditambahkan 1,00 µL etidium bromida (EtBr), diaduk hingga homogen. Larutan agarosa dituangkan pada cetakan yang telah dipasang sisir pembuat sumuran sampel. Setelah gel mengeras dicabut sisir dan cetakannya. Buffer TAE 1x dituangkan sampai gel terbenam. Kemudian dimasukkan ke sumuran sampel DNA kromosom 1,00 µL yang dicampur dengan larutan loading dye 1,00 µL, dan digunakan marker DNA ladder 1 kb yang dicampur dengan 1,00 µL loading dye. Elektroda dihubungkan dengan power supply dan dinyalakan hingga 45 menit dengan tegangan 80 volt dan kuat arus 400 mA (volt konstan). Setelah selesai alat elektroforesis dimatikan dan gel dipindahkan ke UV-transiluminator untuk diamati hasilnya (Nuroniyah & Putra, 2012).

#### **Amplifikasi Gen 16S rRNA dengan Metode Polymerase Chain Reaction**

#### **(PCR) dan Sekuensing Gen 16S rRNA Bakteri dengan Metode Dideoxy-Sanger**

Reagen master mix PCR 15,5 µL (kit KAPA Taq Extra PCR), primer BactF1 (forward) (5'AGAGTTTGATC(A/C)TGGCTCAG3') 2,5 µL, primer UniB1 (reverse) (5'GGTTAC(G/C)TTGTTACGACTT3') 2,5 µL, larutan sampel (DNA template) 2 µL dan ddH<sub>2</sub>O 27,5 µL dimasukkan ke dalam tabung PCR. Campuran tersebut dihomogenkan dan dispin 15 detik, kemudian dimasukkan ke dalam alat PCR dengan pengaturan, pada proses denaturasi dilakukan 2 kali, yaitu denaturasi awal pada temperatur 94°C selama 3 menit dan denaturasi akhir pada temperatur 94°C selama 30 detik. Proses annealing pada temperatur 48°C selama 30 detik dan proses extension pada temperatur 72°C selama 1 menit 30 detik. Post extension selama 5 menit pada temperatur 72°C. Siklus PCR dilakukan 29 kali.

Reagen master mix PCR adalah campuran reagen yang terdiri dari 5x KAPA taq extra buffer, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM dNTP mix, dan 5 U/µL KAPA taq extra DNA Polymerase. Setelah amplifikasi PCR, dilakukan analisis menggunakan elektroforesis gel agarosa kembali. Amplikon PCR sekuensing menggunakan metode Dideoxy-Sanger. Amplikon PCR dikirim ke ke 1st BASE Malaysia untuk dilakukan sekuensing.

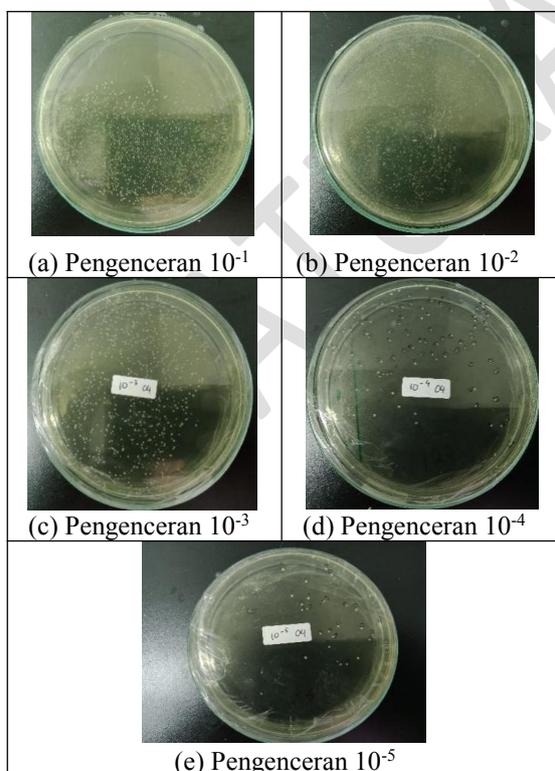
#### **Analisa Urutan Basa Nukleotida Gen 16S rRNA**

Data hasil sekuensing diperoleh berupa electroforegram. Analisis urutan basa nukleotida fragmen gen 16S rRNA dilakukan dalam satu reaksi dengan menggunakan primer BactF1 (forward). Urutan basa nukleotida gen 16S rRNA yang diperoleh dibaca menggunakan program BioEdit. Analisis selanjutnya dilakukan melalui web GenBank pada program Basic Local Alignment Search Tool n (BLASTn) dan software MEGA-X untuk mengidentifikasi kelompok genus dan spesies dari isolat bakteri.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Bakteri Asam Laktat pada Dadih

Bakteri asam laktat yang diisolasi dari dadih di skrining pada media selektif *de Man Rogosa Sharpe* (MRS). Hasil isolasi dan inkubasi bakteri asam laktat selama 48 jam yang dihasilkan pada pengenceran  $10^{-1}$  –  $10^{-5}$  dapat dilihat pada Gambar 1. Pertumbuhan koloni pada pengenceran  $10^{-1}$  sampai pengenceran  $10^{-3}$  sulit untuk dihitung, karena koloni bakteri asam laktat pada ketiga pengenceran tersebut terlalu rapat dan banyak. Data jumlah total koloni bakteri asam laktat sampel dadih yang dihasilkan pada pengenceran  $10^{-4}$  dan  $10^{-5}$  adalah  $1,57 \times 10^6$  CFU/mL. Hasil total koloni bakteri asam laktat ini sesuai dengan ketentuan pangan probiotik menurut FAO/WHO bahwa konsentrasi total koloni bakteri asam laktat berkisar antara  $10^6$  –  $10^8$  CFU/mL. Bakteri probiotik harus tersedia dalam konsentrasi tinggi, minimal  $10^6$  CFU/mL, sehingga mampu memberi manfaat untuk kesehatan manusia (Shah, 2007).



**Gambar 1.** Koloni bakteri asam laktat pada pengenceran  $10^{-1}$  -  $10^{-5}$

Bakteri asam laktat yang diisolasi dari sampel dadih merupakan isolat koloni tunggal murni. Isolat bakteri asam laktat yang diperoleh diberi kode nama yaitu isolat bakteri UBC-DTK-02. Morfologi koloni Isolat bakteri UBC-DTK-02 yang tumbuh pada media MRS memiliki ciri – ciri berwarna putih yang berasal dari pigmen warna dari bakteri tersebut, berukuran kecil, berbentuk sirkular (bulat), elevasi (permukaan bakteri) cembung, tepi rata dan tidak tembus cahaya.

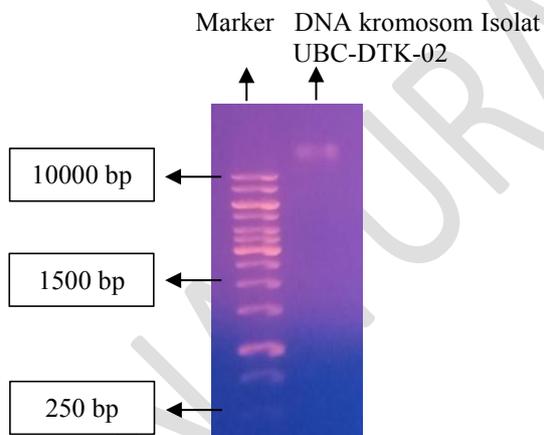
### Isolasi dan Elektroforesis DNA Kromosom Bakteri Asam Laktat

Isolasi DNA kromosom isolat UBC-DTK-02 dilakukan menggunakan kit *Wizard Genomic DNA Purification* (Promega). Isolasi DNA kromosom terdiri dari 3 tahap utama yaitu lisis sel, ekstraksi DNA dan pemurnian DNA. Proses lisis dinding sel bakteri dilakukan secara kimiawi dengan menggunakan senyawa kimia EDTA (etilen diamin tetra asetat). EDTA berfungsi mengikat ion  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ , yang merupakan ion yang berfungsi sebagai kofaktor bagi kerja enzim DNase sehingga tidak menghidrolisis molekul DNA. Selanjutnya proses perusakan dinding sel bakteri juga dilakukan dengan penambahan lisozim. Lisozim merupakan enzim yang mengkatalis reaksi hidrolisis ikatan glikosida pada peptidoglikan yang merupakan komponen utama dinding sel bakteri, sehingga dapat merusak struktur dinding sel bakteri dan DNA dapat dikeluarkan yang akan berkorespondensi (Rachmawati & Susilowati, 2013).

Proses ekstraksi DNA kromosom bertujuan untuk membebaskan DNA dari senyawa lain dalam sel berupa protein, RNA, maupun karbohidrat. RNase digunakan untuk menghilangkan RNA sehingga dapat diperoleh hasil ekstraksi DNA. Protein yang terdapat pada campuran harus dihilangkan dengan penambahan *protein precipitation solution*, yang dapat menurunkan kelarutan protein sehingga protein dapat mengendap (D. A. Widyastuti, 2017).

Tahap terakhir yaitu pemurnian DNA kromosom. Isopropanol merupakan senyawa non polar yang mampu mengurangi kelarutan DNA, sehingga digunakan untuk mengendapkan DNA kromosom. DNA bersifat polar sehingga tidak larut dalam isopropanol, menyebabkan DNA kromosom mengendap (Hassan, 2012).

Visualisasi hasil isolasi DNA kromosom dapat dilihat dengan metode elektroforesis gel agarosa. Elektroforesis dilakukan untuk menentukan ukuran dari DNA yang diisolasi. Marker DNA yang digunakan pada elektroforesis ini berukuran 250-10000 bp. Hasil elektroforesis dimuat pada Gambar 2. Hasil elektroforesis DNA kromosom bakteri diketahui terdapat satu pita murni fragmen DNA isolat UBC-DTK-02 diatas pita marker 10.000 bp (*base pair*). Pita tersebut menunjukkan bahwa DNA kromosom bakteri telah berhasil diisolasi, karena DNA kromosom bakteri memiliki ukuran lebih dari 10.000 bp yaitu 21.000 sampai 23.000 bp (Hassan, 2012).



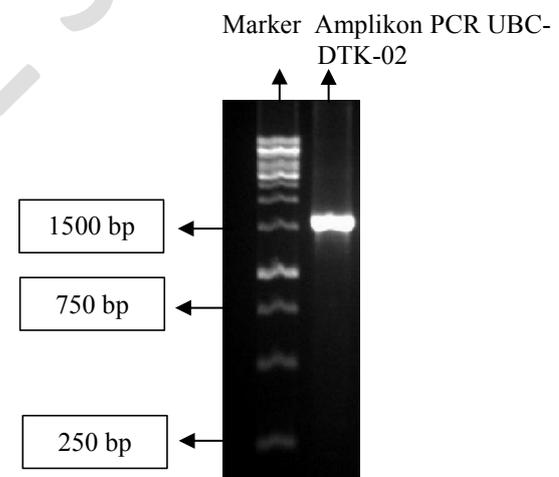
**Gambar 2.** Pita elektroforesis DNA kromosom isolat bakteri UBC-TK-02

### Amplifikasi Gen 16S rRNA dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

Amplifikasi gen 16S rRNA yang dilakukan dengan metode PCR terdiri dari beberapa zat, yaitu *Taq DNA polymerase*, primer, buffer, dNTP's dan DNA *template*. Prinsip dari amplifikasi gen 16S rRNA metode PCR terdiri dari 3 tahap

reaksi penting yaitu denaturasi, annealing dan elongasi.

Pada tahap denaturasi terjadi pemutusan ikatan hidrogen pada untai ganda DNA menjadi untai tunggal DNA. Pada tahap annealing terjadi penempelan primer pada daerah spesifik DNA target. Tahap terakhir yaitu elongasi atau perpanjangan primer. Ketiga tahapan tersebut berlangsung sebanyak 29 siklus secara berulang. Untuk mengetahui keberhasilan amplifikasi gen 16S rRNA dibuktikan melalui elektroforesis amplicon PCR dengan gel agarosa. Pada Gambar 3, hasil elektroforesis amplicon PCR sampel UBC-DTK-02 yang divisualisasikan menggunakan *GelDoc BioRad*, diketahui bahwa terdapat pita fragmen DNA berukuran 1500 bp. Ukuran tersebut merupakan ukuran gen 16S rRNA (Purwati et al., 2014). Amplicon PCR ini dilanjutkan untuk sekuensing menggunakan metode *Dideoxy-Sanger*.



**Gambar 3.** Pita elektroforesis fragmen 16S rRNA isolat UBC-DTK-02

### Analisa Urutan Basa Nukleotida Fragmen Gen 16S rRNA

Urutan basa nukleotida gen 16S rRNA dianalisis menggunakan *software BioEdit*. Urutan basa nukleotida fragmen gen 16S rRNA yang diperoleh menggunakan primer BactF1 (*forward*) adalah 1040 bp. Ukuran sekuen tiap fragmen gen 16S rRNA dipengaruhi oleh

lamanya reaksi pada proses sekuensing atau konsentrasi dan stabilitas enzim polimerase yang digunakan.

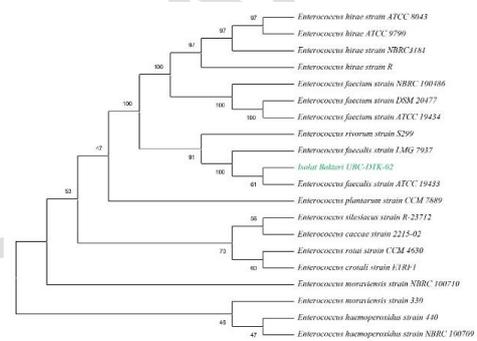
TGCAAGTGA	ACGTTCTTT	CCTCCGAGT	GCTTGCATC	AMTGGAAAG	50
AGGAGTGGG	GACGGSTGAG	TAACACGTGG	GTAACCTAOC	CATCAGAGGG	100
GGATAACACT	TGGAACAGG	TGCTAATACC	GCATAACAGT	TTATGCCGCA	150
TGGCATAAGA	GTGAAGAGCG	CTTTGGGGTG	TGCGTATGG	ATGGACCCG	200
GCTGATTAG	CTAGTTGGTG	AGGTAAGCG	TCACCAAGGC	CACGATGCAT	250
AGCGACCTG	AGAGGTTGAT	CGGOCACACT	GGACTGAGA	CACGGCCAG	300
ACTCTACCG	GAGCGAGAG	TAGGGAATCT	TGCGCAATGG	ACCAGATCT	350
GACCGAGCA	CGCGGGTGA	GTGAAGAAGG	TTTTGGATC	GTAAGAATCT	400
GTTCATTAG	AAGAACAAGG	AGTTAGTAA	CTGAAGTCC	CCTGACGGTA	450
TCTAACAGA	AAGCCACGGC	TAACCTAGTG	CCAGCAGCG	CGGTAATAG	500
TAGCTGGCA	CGTTTCCG	GATTTATTGG	GGTAAAGCG	ACCCGAGGG	550
GTTCCTAAG	TCTGATGTA	AAGCCCCGG	CTAACCGGG	GAGGTCATT	600
GGAACTGGG	AGACTGAGT	GCAGAAGAG	AGAGTGAAT	TCCATGTGA	650
CGGTGAAAT	GCSTAGATAT	ATGGAGAAC	ACCAGTGGC	AAGCGGGCT	700
TCTGGTCTG	AACTGACGCT	GAGCTCGAA	AGCGTGGGA	GCAACAGGA	750
TTAGATACC	TGGTATGCA	CGCCCTAAC	GATGATGCT	AAGTGTGGA	800
GGTTTCCGG	CTTCAGTGG	TGCAGCAAC	GCATTAAGCA	CTCCGCTGG	850
GGAGTACGAC	CGCAAGTTG	AAACTCAAG	GAATTGACG	GGCCCGCAC	900
AAGCGGTGA	GCAATGGGT	TAATTCGAG	CAACCGAAG	AACCTACCA	950
GCTTGTGCA	TCTTTGACC	ACTCTAGAGA	TAGAGCTTTC	CCTTCGGGA	1000
CAAGTGACA	GGTGTGCAAT	GTTTGTGTC	AGTGTGTC		1040

**Gambar 4.** Urutan basa nukleotida fragmen gen 16S rRNA menggunakan primer BactF1

Urutan basa nukleotida gen 16S rRNA ini kemudian digunakan untuk menentukan kelompok genus atau spesies dari bakteri UBC-DTK-02. Identifikasi dilakukan menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool n* (BLASTn). Urutan basa nukleotida gen 16S rRNA isolat bakteri UBC-DTK-02 dilihat kesamaannya dengan data urutan basa nukleotida gen 16S rRNA yang ada pada *GenBank*.

Berdasarkan hasil identifikasi urutan basa nukleotida fragmen gen 16S rRNA yang telah dicocokkan pada program BLASTn, diketahui bahwa gen 16S rRNA bakteri UBC-DTK-02 memiliki kesamaan lebih dari 97% dengan bakteri *Enterococcus faecalis*. Kesamaan yang lebih besar dari 97% menunjukkan bahwa spesies tersebut sama, jika kesamaan kurang dari 97% menunjukkan bahwa spesies yang diidentifikasi tersebut berbeda dan merupakan bakteri baru (Rosahdi et al., 2019). Berdasarkan hasil identifikasi kesamaan yang diperoleh mencapai lebih dari 97%, yaitu 99,57 % sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri UBC-DTK-02 merupakan kelompok spesies *Enterococcus faecalis* yang termasuk salah satu jenis spesies bakteri asam laktat dan bersifat sebagai probiotik (Alang, 2020).

Pohon filogenetik gen 16S rRNA bakteri UBC-DTK-02 dengan bakteri hasil BLASTn dibuat menggunakan *software* MEGA-X. Sekuen gen 16S rRNA pada BLASTn diambil secara acak sebanyak 19 spesies. Pohon filogenetika digunakan untuk melihat hubungan kekerabatan spesies bakteri UBC-DTK-02 dengan 19 spesies lain yang ada di *GenBank* yang diambil secara acak. Berdasarkan hasil identifikasi dengan pohon filogenetika yang terdapat pada Gambar 5, diketahui bahwa bakteri asam laktat UBC-DTK-02 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *Enterococcus faecalis* strain ATCC 19433.



**Gambar 5.** Pohon Filogenetika Isolat Bakteri UBC-DTK-02

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, urutan basa nukleotida fragmen gen 16S rRNA isolat bakteri asam laktat UBC-DTK-02 memiliki kesamaan 99,57 % dengan spesies *Enterococcus faecalis*. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri UBC-DTK-02 merupakan kelompok genus *Enterococcus* dan spesies *Enterococcus faecalis*.

Peneliti selanjutnya disarankan untuk mengembangkan pemanfaatan bakteri asam laktat spesies *Enterococcus faecalis* pada dadiah sebagai bakteri probiotik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Tim Riset Biokimia UNP 2021 dan kepada seluruh analis Laboratorium Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

## REFERENSI

- Alang, H. 2020. Review : Enterocyn from Enterococcus Genus as a Probiotic, Antimicrobial and Biopreservative. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 6(2), 95. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v6i2.12276>
- Hassan, H. A. M. 2012. A simple and inexpensive procedure for chromosomal DNA extraction from *Streptococcus thermophilus* strains. *Middle East Journal of Scientific Research*, 11(1), 13–18.
- Kasi, P. D., Ariandi, & Mutmainnah, H. 2017. Uji Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Limbah Cair Sagu terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biotropika*, 5(3), 97–101. <https://doi.org/10.1109/UMEDIA.2008.4570869>
- Nuroniyah, T., & Putra, S. R. 2012. Identifikasi Spesies Isolat Bakteri S1 dengan Metode Analisa Sekuen Fragmen Gen 16S rDNA. *Jurnal Teknik POMITS*, 1(1), 1–6.
- Purwati, E., Syukur, S., Husmaini, Purwanto, H., & Pasaribu, R. P. 2014. Molekuler Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Isolat Dadih Air Dingin Kabupaten Solok Sumatera Barat. *Jurnal Penelitian Inovasi*, 40.
- Rachmawati, R., & Susilowati, S. 2013. Analisis Gen Merkuri Reduktase (merA) pada Isolat Bakteri dari Tambang Emas Kabupaten Bombana Sulawesi Tenggara. *J.Prog. Kim. Si.*, 3(2), 108–123.
- Rosahdi, T. D., Tafiani, N., & Hafsari, A. R. (2019). Identifikasi Spesies Isolat Bakteri K2Br5 dari Tanah Karst dengan Sistem Kekerabatan Melalui Analisis Urutan Nukleotida Gen 16S rRna. 5(2), 84–88.
- Shah, N. P. 2007. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*, 17(11), 1262–1277. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.014>
- Surono, I. S. 2003. In vitro probiotic properties of indigenous dadih lactic acid bacteria. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16(5), 726–731. <https://doi.org/10.5713/ajas.2003.726>
- Surono, I. S. 2015. Traditional Indonesian dairy foods. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 24(12), S26–S30. <https://doi.org/10.6133/apjcn.2015.24.s1.05>
- Syukur, S., Fachrial, E., & Jamsari. 2014. Isolation, antimicrobial activity and protein bacteriocin characterization of lactic acid bacteria isolated from Dadih in Solok, West Sumatera, Indonesia. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(6), 1096–1104.
- Widyastuti, D. A. 2017. Isolasi DNA Kromosom Salmonella sp . dan Visualisasinya pada Elektroforesis Gel Agarosa. *Jurnal Biologi Univ. PGRI*, 311–317.
- Widyastuti, Y., Rohmatussolihat, & Febrisiantosa, A. 2014. The Role of Lactic Acid Bacteria in Milk Fermentation. *Food and Nutrition Sciences*, 05(04), 435–442. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.54051>
- Yurliasni, Y. 2010. Aktivitas Antimikroba Khamir Asal Dadih (susu kerbau fermentasi) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *Jurnal Agripet*, 10(1), 19–24. <https://doi.org/10.17969/agripet.v10i1.633>