

**SKRINING DAN IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI ASAM
LAKTAT PADA DADIH MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA**

SKRIPSI

*Diajukan sebagai Salah Satu Persyarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Sains*



**Oleh:
IKE RAMADHANTY DANIEL
NIM/BP: 17036158/2017**

**PROGRAM STUDI KIMIA
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2019**

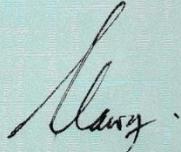
PERSETUJUAN SKRIPSI

**SKRINING DAN IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT
PADA DADIH MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA**

Nama : Ike Ramadhanty Daniel
NIM/TM : 17036158/2017
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

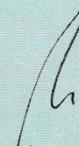
Padang, Juli 2019

Mengetahui :
Ketua Jurusan Kimia



Dr. Mawardi, M.Si.
NIP : 19611123 198903 1 002

Disetujui Oleh:
Dosen Pembimbing



Prof. Dr. Minda Azhar, M.Si.
NIP : 19641124 199112 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

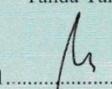
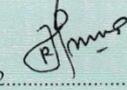
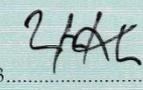
Nama : Ike Ramadhanty Daniel
NIM : 17036158
Prodi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**SKRINING DAN IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT
PADA DADIH MENGGUNAKAN GEN 16S rRNA**

*Dinyatakan Lulus Setelah Dipertahankan di Depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang*

Padang, Juli 2019

Tim Penguji

No.	Jabatan	Nama	Tanda Tangan
1	Ketua	: Prof. Dr. Minda Azhar, M.Si.	1..... 
2	Anggota	: Dra. Iryani, M.S.	2..... 
3	Anggota	: Umar Kalmar Nizar, S.Si.,M.Si.,Ph.D.	3..... 

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ike Ramadhanty Daniel
NIM/BP : 17036158/2017
Tempat/Tanggal Lahir : Jambi/10 Juni 1985
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Alamat : Jl. Garuda 3 Air Tawar Padang Utara Kota Padang

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**Skrining dan Identifikasi Isolat Bakteri Pada Dadih Menggunakan Gen 16S rRNA**" adalah benar merupakan hasil karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya, tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau dipublikasikan orang lain kecuali acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim. Apabila suatu saat nanti saya terbukti melakukan plagiat maka saya bersedia diproses dan menerima sanksi akademis maupun hukum sesuai dengan hukum negara yang berlaku, baik di Universitas Negeri Padang maupun masyarakat dan negara. Demikianlah Pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, Juli 2019

Yang membuat pernyataan



Ike Ramadhanty Daniel
NIM. 17036158

ABSTRAK

Ike Ramadhanty Daniel (2019) : Skrining dan Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat pada Dadih menggunakan Gen 16S rRNA

Identifikasi bakteri dapat dilakukan secara fenotif dan genotip menggunakan gen 16S rRNA. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan spesies dari isolat bakteri asam laktat pada dadih. Tahap awal identifikasi bakteri dengan cara mengskringing dan mengisolasi bakteri asam laktat yang ada pada dadih, kemudian mengisolasi DNA kromosom isolat bakteri hasil skrining (UBC-DA-08). DNA kromosom bakteri digunakan sebagai *template* untuk amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan metode PCR. Amplikon yang dihasilkan dielektroforesis menggunakan gel agarosa dan dimurnikan untuk disekuensing. Sekuensing gen 16S rRNA dilakukan menggunakan metode *Dideoxy-Sanger*. Urutan basa nukleotida hasil sekuensing dianalisa menggunakan program DNASTar. Ukuran gen 16S rRNA isolat bakteri UBC-DA-08 terdiri dari 1378 bp (*base pair*). Urutan basa nukleotida gen 16S rRNA dapat dibaca menggunakan program BLASTn dan MEGA. Hasil identifikasi isolat bakteri UBC-DA-08 merupakan bakteri asam laktat termasuk kelompok spesies *Lactococcus lactis*

Kata kunci : *Dadiah, Bakteri Asam Laktat, Gen 16S rRNA, dan Polymerase Chain Reaction(PCR)*

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **”Skrining dan Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat pada Dadih menggunakan Gen 16S rRNA”**. Serta shalawat dan salam semoga selalu tersampaikan pada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umatnya ke alam yang penuh dengan ilmu pengetahuan.

Skripsi ini diajukan untuk melengkapi dan memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, arahan dan masukan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Prof. Dr. Minda Azhar, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan dan motivasi sehingga selesainya skripsi ini
2. Bapak Umar Kalmar Nizar, S.Si.,M.Si.,Ph.D selaku dosen penasehat akademik dan dosen pembahas, yang telah memberikan saran dan arahan sehingga selesainya skripsi ini
3. Ibu Dra. Iryani, M.S selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran dan arahan sehingga selesainya skripsi ini
4. Bapak Dr. Mawardi, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNP
5. Bapak Harry Sanjaya, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Jurusan Kimia FMIPA UNP
6. Seluruh Staf Pengajar dan Teknisi Jurusan Kimia FMIPA UNP

7. Orang tua beserta keluarga, sanak saudara, teman-teman yang telah memberikan motivasi, bantuan dan saran

Semoga skripsi ini bermanfaat untuk masa yang akan datang bagi penulis pada khususnya dan pembaca pada umumnya. Untuk kesempurnaan skripsi ini, dengan kerendahan hati penulis mengharapkan masukan dan saran yang membangun dari semua pihak. Atas masukan dan saran yang diberikan penulis ucapkan terima kasih.

Padang, 18 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Identifikasi Masalah	3
C. Batasan Masalah	4
D. Rumusan Masalah	4
E. Tujuan Penelitian	4
F. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Dadih	6
B. Bakteri Asam Laktat (BAL).	11
C. Gen Pengkode 16S rRNA.....	16
D. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	19
E. Elektroforesis dan Visualisasi Gel.....	22
F. Sekuensing Gen 16S rRNA Bakteri Metode <i>Dideoxy-Sanger</i>	23
G. Analisa Data atau Bioinformatika	23
BAB III METODE PENELITIAN	26
A. Waktu dan Tempat Penelitian	26
B. Objek Penelitian	26
C. Alat dan Bahan Penelitian	26
1. Alat	26
2. Bahan	26
D. Prosedur Kerja Penelitian	27
1. Sterilisasi Alat Gelas	27
2. Pembuatan Media Cair	27
3. Pembuatan Media Padat	28

4. Skrining dan Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih	29
5. Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat secara Fenotif	30
a. Identifikasi Makroskopis.....	30
b. Identifikasi Mikroskopis	30
6. Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat	31
a. Isolasi DNA Kromosom Bakteri.....	31
b. Elektroforesis DNA Kromosom Bakteri.....	32
c. Amplifikasi Gen 16S rRNA dengan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	33
d. Sekuensing Gen 16S rRNA Metode <i>Dideoxy-Sanger</i>	34
e. Analisa Urutan Basa Nukleotida Gen 16S rRNA	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
A. Skrining dan Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih.....	35
B. Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat secara Fenotif	37
1. Identifikasi Makroskopis	37
2. Identifikasi Mikroskopis.....	37
C. Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat	39
1. Isolasi dan Elektroforesisi DNA Kromosom Bakteri	39
2. Amplifikasi Gen 16S rRNA dengan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	42
3. Analisa Urutan Basa Nukleotida Gen 16S rRNA.....	43
BAB V PENUTUP	48
A. Kesimpulan	48
B. Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Fermentasi Laktosa menjadi Asam Laktat.....	8
2. Diagram Alir Pembuatan Dadih Tradisional.....	10
3. Kurva pertumbuhan Bakteri Asam Laktat <i>Lactobacillus plantarum</i>	15
4. Urutan Basa Nukleotida Gen 16S rRNA E.coli.....	18
5. Tahapan proses Polymerase Chain Reaction (PCR).....	21
6. Elektroforesis gel agarosa.....	22
7. Contoh pohon filogenetika Program MEGA.....	25
8. Dadih.....	35
9. Koloni Bakteri pada media MRS Agar.....	37
10. Pewarnaan Gram lensa pembesaran 10x100.....	38
11. Elektroforesis Isolasi DNA Kromosom Bakteri.....	41
12. Hasil Elektroforesis Amplifikasi Gen 16S rRNA PCR.....	43
13. Potongan Elektropherogram Urutan Basa Nukleotida Gen 16S rRNA Hasil Pembacaan DNA Star.....	43
14. Urutan Basa Nukleotida Hasil Pembacaan di Program DNASTar menggunakan Primer BactF1.....	44
15. Urutan Basa Nukleotida Hasil Pembacaan di Program DNASTar menggunakan Primer UniB1.....	44
16. Sekuen Gen 16S rRNA Hasil Penjajaran di DNASTar Isolat bakteri UBC-DA-08.....	45
17. Hasil Identifikasi Sekuen Gen 16S rRNA Isolat Bakteri UBC-DA-08 pada program BLASTn.....	46
18. Pohon Filogenenika Bakteri Asam Laktat UBC-DA-08.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Susu Sapi, Kerbau, Kambing dan Kuda	7
2. Bakteri Asam Laktat (BAL) yang umumnya digunakan sebagai probiotik.....	12
3. Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diisolasi dari dadih.....	12
4. Hasil Pengamatan Pertumbuhan Jumlah Koloni Bakteri Asam Laktat	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Media Cair.....	54
2. Pembuatan Media Padat.....	55
3. Skrining dan Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih	56
4. Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat Secara Fenotif	57
5. Isolasi DNA Kromosom Bakteri.....	58
6. Elektroforesis DNA Kromosom Bakteri.....	60
7. Amplifikasi Gen 16S rRNA dengan Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	61

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Produk olahan susu fermentasi telah dikenal di beberapa daerah di Indonesia yang dapat dikonsumsi baik secara langsung maupun sebagai lauk-pauk pendamping nasi, sebagai contoh susu kerbau di Aceh dibuat menjadi mentega dan minyak samin, di Sumatera Utara susu kerbau fermentasi disebut dali, di Sulawesi Selatan khususnya Kabupaten Enrekang susu kerbau fermentasi disebut dangke, dan di Sumatera Barat susu kerbau fermentasi ini disebut dengan dadih. Produk olahan susu fermentasi saat ini populer sebagai pangan fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh manusia (Putra *et al.*, 2011).

Fermentasi susu membentuk dadih terjadi karena adanya aktivitas bakteri atau mikroorganisme. Pembuatan dadih secara fermentasi yang dilakukan dengan cara tradisional melibatkan berbagai jenis mikroorganisme, sehingga hasil yang diperoleh tidak seragam dengan mutu yang tidak stabil. Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi pembentuk dadih kemungkinan berasal dari permukaan tabung bambu bagian dalam, permukaan daun penutup, dan dari susu kerbau yang digunakan (Afriani, 2010).

Bakteri asam laktat mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat (Purwati *et al.*, 2014). Banyaknya bakteri asam laktat yang terdapat dalam dadih, menjadikan dadih sebagai medium yang baik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Dadih dapat dijadikan sebagai salah satu pangan probiotik yang mempunyai manfaat untuk kesehatan, jika bakteri probiotik yang terdapat didalamnya berada dalam kondisi hidup dan tersedia pada konsentrasi tinggi

minimal berjumlah 10^6 CFU/g produk (Ambri *et al.*, 2009). Dengan demikian menjadi hal yang menarik untuk diteliti lebih lanjut potensi bakteri asam laktat yang terkandung dalam dadih olahan susu fermentai untuk dijadikan kandidat probiotik.

Bakteri asam laktat (BAL) adalah istilah yang mulanya ditujukan hanya untuk sekelompok bakteri yang menyebabkan keasaman pada susu (Pato, 2003). Bakteri asam laktat yang sebagai probiotik berperan mengatur ekosistem saluran pencernaan yang berpotensi meningkatkan imunitas, meningkatkan proses absorpsi, pergerakan usus, mencegah intoleransi, antimutagenik dan menurunkan kolesterol (Kusumo, 2010). Adapun definisi probiotik adalah sediaan sel mikroba hidup dalam jumlah yang cukup, yang memiliki pengaruh menguntungkan terhadap kesehatan dan kehidupan inangnya (Haryati, 2011)

Bakteri asam laktat yang ada pada dadih, dapat diidentifikasi kelompok genus atau spesiesnya yang dilakukan secara fenotip dan genotip. Identifikasi berdasarkan karakter morfologi (fenotif) dikenal sebagai teknik identifikasi konvensional, sedangkan berdasarkan karakter molekuler (genotif) merupakan teknik identifikasi modern. Identifikasi secara fenotif dilakukan secara makroskopis (bentuk, warna, dan ukuran koloni), mikroskopis (bentuk dan warna sel bakteri), motilitas dan uji biokimia dari bakteri. Identifikasi ini membutuhkan waktu yang lama dibandingkan identifikasi secara genotip. Identifikasi secara genotip ditujukan pada urutan basa nukleotida dengan teknik molekuler. Adapun kelebihan dari identifikasi secara genotif ini adalah pengerjaannya cepat dan akurat (Azhar, 2016).

Identifikasi secara genotip dilakukan dengan cara mengisolasi DNA kromosom bakteri, kemudian diidentifikasi molekuler gen pengkode rRNA yaitu gen 16S rRNA. Gen 16S rRNA sesuai untuk identifikasi bakteri karena gen ini terdapat pada prokaryot. Sekuen gen penyandi 16S rRNA telah dibuat dalam bentuk database dari berbagai organisme baik yang sudah dapat dikulturkan maupun yang tidak dapat dikulturkan (Suryani, 2009). Terdapat lebih dari 19.240 sekuen yang ada pada database 16S rRNA dan jumlahnya terus bertambah (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=16s+rna>, diakses 19 Juli 2018).

Produk PCR (Amplikon) disekuensing menggunakan metode *Dideoxy-Sanger* dan pembacaan sekuen yang diperoleh dibaca menggunakan program DNASTar. Penjajaran dilakukan dalam analisis DNA data sekuen dari hasil *sequencing* DNA dengan membandingkan urutan nukleotida gen 16S rRNA yang terdapat pada *GenBank* menggunakan BLASTn. Untuk melihat hubungan kekerabatannya dengan spesies lainnya, filogenik dari spesies bakteri dapat ditentukan menggunakan program MEGA (Nurhayati *et al.*, 2011).

B. Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat diidentifikasi masalah sebagai berikut:

1. Identifikasi isolat bakteri asam laktat dapat dilakukan secara fenotip yang meliputi uji makroskopis (bentuk, warna, dan ukuran koloni), mikroskopis (bentuk dan warna sel bakteri), motilitas (pergerakan bakteri), uji biokimia (uji fermentasi karbohidrat: glukosa, maltosa, laktosa, manitol, sukrosa, uji katalase, uji indol, uji MR-VP).

2. Identifikasi isolat bakteri asam laktat dapat dilakukan secara genotip yaitu identifikasi isolat secara molekuler melalui sekuen pengkode gen 16S rRNA.
3. Sekuensing gen 16S rRNA bakteri asam laktat dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Maxam-Gilbert* dan metode *dideoxy-Sanger*.

C. Batasan Masalah

Identifikasi bakteri dapat dilakukan secara fenotip dan genotip, maka peneliti membatasi masalah sebagai berikut:

1. Identifikasi bakteri yang dilakukan secara fenotip yaitu uji makroskopis dan mikroskopis saja.
2. Identifikasi secara genotip dengan cara molekuler menggunakan gen 16S rRNA.
3. Proses sekuensing dilakukan dengan metoda *Dideoxy-Sanger*.

D. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian yang akan dilakukan, yaitu mendapatkan bakteri asam laktat dari dadih dan menentukan genus atau spesies dari isolat bakteri.

E. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri asam laktat dari dadih dan mengidentifikasi isolat bakteri asam laktat yang didapat dengan menentukan kekerabatan genus atau spesies bakteri asam laktat menggunakan gen pengkode 16S rRNA.

F. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Dapat memberikan informasi kepada pembaca tentang gen 16S rRNA sebagai penentu spesies bakteri
2. Memberikan kontribusi dalam pengembangan ilmu dan teknologi tentang gen 16S rRNA sebagai penentu spesies bakteri.
3. Dapat dijadikan sebagai bahan, sumber ide dan referensi untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Dadih

.Dadiah merupakan produk olahan susu tradisional Minangkabau yang diproduksi melalui proses fermentasi alami susu kerbau di dalam tabung bambu yang ditutup daun pisang dengan kondisi yang cenderung fakultatif anaerob. Proses fermentasi dilakukan pada suhu ruang hingga terbentuk gumpalan susu kerbau yang menyerupai pasta atau semi padat, rasa asam ditimbulkan akibat produksi asam-asam organik hasil fermentasi laktosa yang menyebabkan penurunan pH, dan mempunyai aroma yang spesifik perpaduan antara serbuk bambu dan susu kerbau terfermentasi (Putra *et al.*, 2011).

Susu merupakan hasil perahan dari sekresi kelenjar ambing ternak yang menyusui. Susu mengandung protein, lemak, laktosa, mineral dan vitamin (Sunarlim, 2009). Susu segar merupakan sumber pangan protein hewani yang memiliki peranan strategis dalam kehidupan manusia karena mengandung berbagai komponen gizi yang lengkap, sehingga bermanfaat juga bagi jasad renik pembusuk. Kontaminasi bakteri mampu berkembang dengan sangat cepat sehingga susu menjadi rusak dan tidak layak untuk konsumsi. Salah satu upaya pengolahan susu yang sangat menunjang adalah fermentasi susu (Widodo, 2002).

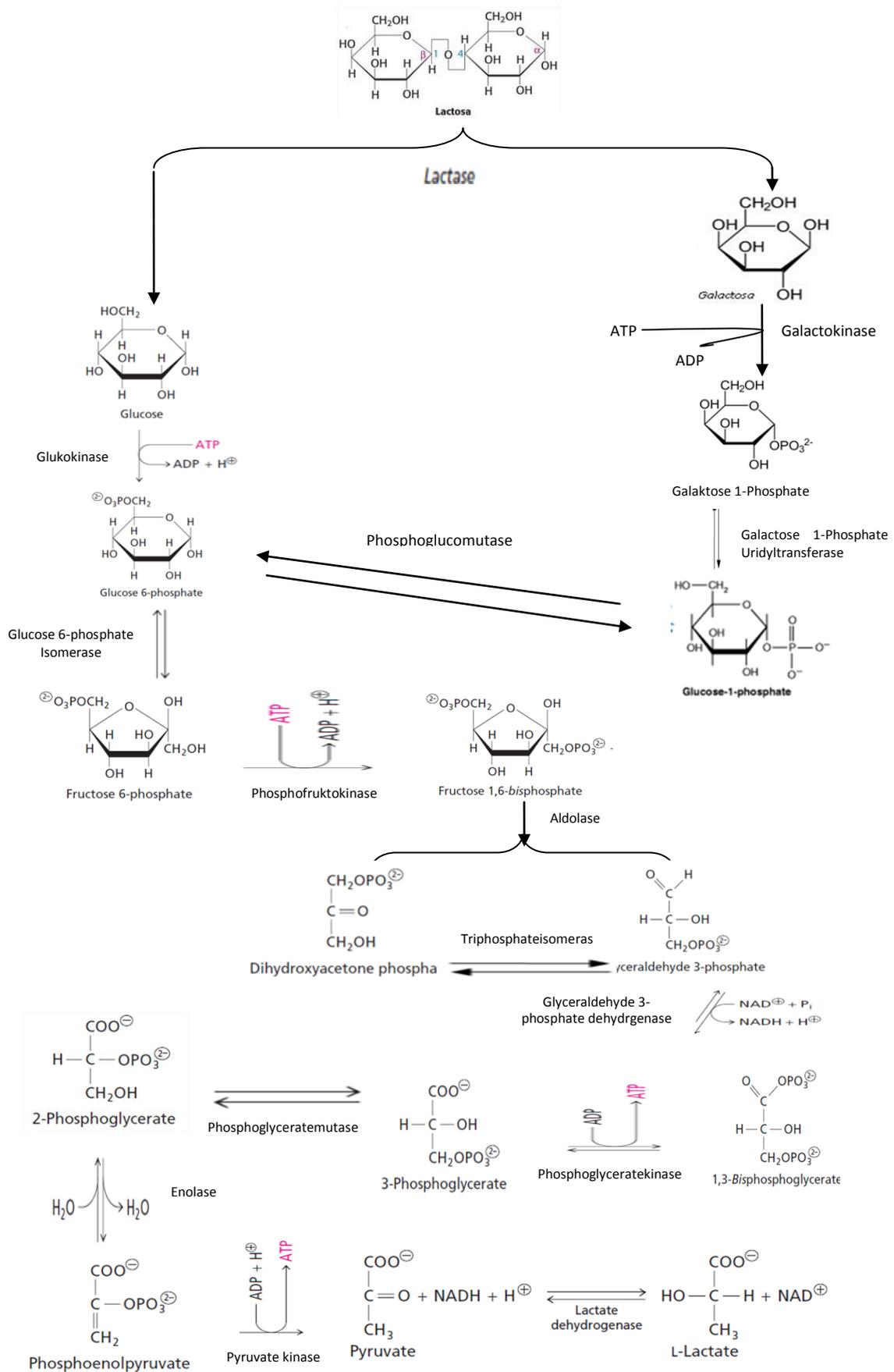
Tabel 1. Komposisi Susu Sapi, Kerbau, Kambing dan Kuda

Komponen (%)	Susu sapi	Susu kerbau	Susu kambing	Susu kuda
Protein	3,5	4,0	3,6	2,2
Kasein	2,8	3,5	2,7	1,3
Whey protein	0,7	0,5	0,9	0,9
Lemak	3,7	7,5	4,1	1,7
Karbohidrat	4,8	4,8	4,7	6,2
Abu	0,7	0,7	0,8	0,5

(Sumber :Bylund, 1995)

Protein susu yang jumlahnya banyak adalah kasein. Kasein umumnya menyusun 70-80 bagian dari protein susu, dikenal sebagai zat pewarna putih pada susu. Lemak merupakan komponen susu yang penting seperti halnya protein, lemak dapat memberikan energi lebih besar dari pada protein dan karbohidrat karena lemak mempunyai nilai gizi yang tinggi(Wijayanti, 2009)

Fermentasi susu terjadi karena adanya aktivitas bakteri atau mikroorganisme lainnya. Fermentasi merupakan proses perubahan biokimia substrat organik dengan bantuan enzim yang dikeluarkan oleh mikroorganisme tertentu. Enzim merupakan katalisator biologik yang dapat mempercepat reaksi kimiawi. Dalam susu terdapat 20 jenis enzim yang secara alami merupakan komponen susu diantaranya adalah lipase, protease, katalase, peroksidase, reduktase, fosfatase, diastase, dan laktase. Proses fermentasi akan mengubah laktosa dalam susu menjadi glukosa dan galaktosa oleh aktivitas kultur mikroorganisme sehingga akan mengurangi gangguan pencernaan bila mengkonsumsinya (Afriani, 2010). Fermentasi laktosa menjadi asam laktat dapat dilihat pada Gambar 1.



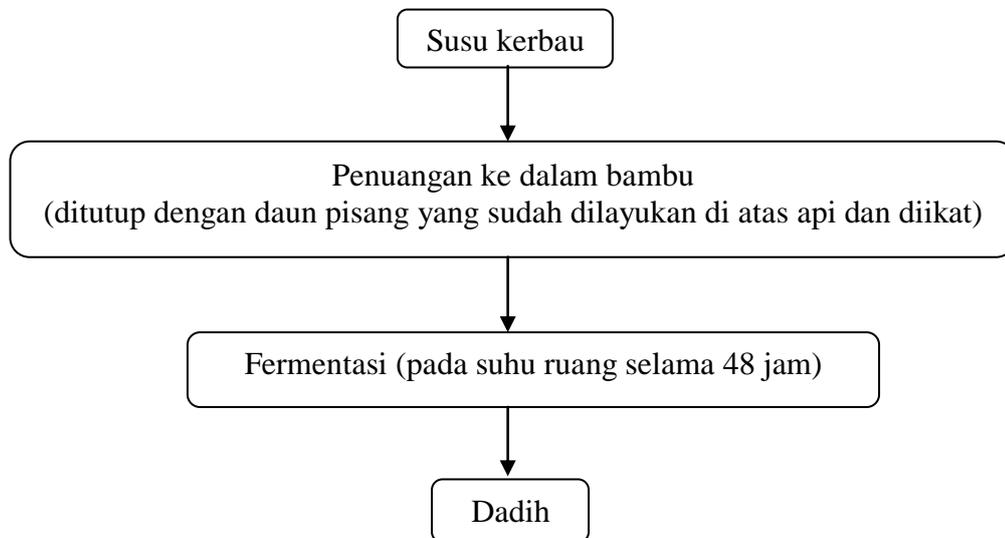
Gambar 1. Fermentasi Lactosa menjadi Asam Laktat (Laurence, A.M et al, 2012)

Laktosa adalah bentuk disakarida dari karbohidrat yang dapat dipecah menjadi bentuk lebih sederhana yaitu galaktosa dan glukosa. Laktosa dalam saluran pencernaan akan dihidrolisis enzim laktase yang dihasilkan oleh sel-sel mukosa usus yang aktif. Enzim ini membelah molekul laktosa menjadi dua bagian: glukosa dan galaktosa, yang kemudian dapat diserap usus. Asam laktat (nama IUPAC: asam 2-hidroksipropanoat ($\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$, dikenal juga sebagai asam susu) adalah senyawa kimia penting dalam beberapa proses biokimia. Perubahan laktosa menjadi asam laktat ini karena adanya aktifitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat serta senyawa-senyawa yang terkandung dalam susu seperti aluminium, kasein sitrat dan fosfat ketika memfermentasi gula dalam susu. Bakteri asam laktat akan menghidrolisis laktosa yang ada di dalam susu menjadi asam laktat (Laurence, A.M *et al.*, 2012).

Salah satu produk susu fermentasi adalah dadih, pada fermentasi dadih yang dilakukan secara tradisional, melibatkan berbagai jenis mikroorganisme sehingga hasil yang didapat tidak seragam dan dengan mutu yang tidak stabil. Fermentasi dadih terjadi tanpa kontrol karena melibatkan berbagai mikroorganisme yang dimungkinkan berasal dari susu, tutup dan dinding bambu. Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam (Afriani, 2010)

Pembuatan dadih dilakukan melalui proses fermentasi secara alami dan umumnya masih dilakukan secara tradisional sehingga kualitas dadih yang dihasilkan berbeda-beda. Dadih dibuat dari susu kerbau segar yang sebelumnya telah disaring dimasukkan kedalam wadah bambu, kemudian ditutup dengan daun pisang dan dibiarkan pada suhu ruang selama 24-48 jam sampai terbentuk

gumpalan menyerupai pasta (mengental). Dipasaran dadih dijual dalam kemasan bambu (Usmiati,2012). Proses pembuatan dadih tradisional dapat dilihat pada Gambar 2 berikut :



Gambar 2. Diagram Alir Pembuatan Dadih Tradisional

Dadih yang baik adalah yang mempunyai warna putih dengan konsistensi menyerupai susu asam (yoghurt) dan mempunyai aroma khas susu asam. Dadih merupakan gumpalan susu kerbau yang tidak berubah atau pecah kembali setelah menggumpal dan dihasilkan dengan menginkubasi susu pada suhu ruang (Usmiati *et al.*,2011). Hasil analisa kandungan nutrisi dadih sangat bervariasi yaitu kadar air 82,10%, protein 6,99%, lemak 8,08%, dan pH 4,99. Dadih mengandung protein tinggi dengan kandungan asam amino esensial yang cukup lengkap, kalsium, serta vitamin B dan K yang terbentuk selama proses fermentasi. Asam akan mendenaturasi protein dalam susu menyebabkan mengental. Kandungan nutrisi dadih bervariasi, bergantung pada daerah produksinya. Secara umum dadih mengandung protein dan lemak yang tinggi, dengan kandungan protein rata-rata 6,75% (Pato, 2003).

Masyarakat Sumatera Barat sebagian besar mengkonsumsi dadih sebagai lauk-pauk, ada yang mencampurkan saat memakan dengan nasi atau dicampur dengan beras emping (terbuat dari beras ketan), karena dadih diyakini dapat meningkatkan selera makan dan cita rasa, sehingga sering disugahi untuk orang yang baru pulih dari sakit. Susu fermentasi seperti dadih, yakult, yougurt dan kefir mempunyai empat manfaat yang diperoleh dari fermentasi susu yaitu sebagai pengawet alami, meningkatkan nilai gizi, mendapatkan rasa dan tekstur yang disukai serta meningkatkan variasi makanan, dapat juga digunakan sebagai minuman untuk tujuan diet dan pengobatan (Chalid,2013).

B. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang memiliki kontribusi yang besar dalam dunia pangan. Bakteri asam laktat selain biasanya digunakan sebagai pangan fungsional juga sering digunakan sebagai pengawet alami dari suatu produk pangan fermentasi (Arsyik *et al.*, 2015).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan istilah yang awalnya ditujukan hanya untuk sekelompok bakteri yang menyebabkan keasaman pada susu. Secara umum bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri gram positif yang tidak membentuk spora, berbentuk batang atau bulat, fakultatif anaerob, aerotoleran dan memproduksi asam laktat sebagai hasil utamanya selama fermentasi karbohidrat. Adapun genus dan spesies bakteri asam laktat yang digunakan sebagai probiotik dapat dilihat pada Tabel 2, dan bakteri asam laktat yang di isolasi dari dadih ditunjukkan pada Tabel 3 (Pato, 2003)

Tabel 2. Bakteri Asam Laktat (BAL) yang umumnya digunakan sebagai probiotik

Genus	Spesies
<i>Lactobacillus</i>	<i>L.acidophilus</i> , <i>L.plantarum</i> , <i>L. amylovorus</i> <i>L.casei</i> , <i>L.rhamnosus</i> , <i>L. Gallinarum</i> , <i>L. Gasseri</i> <i>L.delbrueckii subsp.bulgaricus</i> , <i>L.reuteri</i> , <i>L.</i> <i>Crispatus</i> , <i>L.fermentum</i> , <i>L.brevis</i> , <i>L.bactis</i> , <i>L.cellobiosu</i> , <i>L. Johnsonii</i> , <i>L. Paracasei</i>
<i>Streptococcus</i> (<i>Lactococcus</i>)	<i>Lc.lactis</i> , <i>Lc.cremoris</i> , <i>S.alivarious subsp.</i> <i>thermophilus</i> , <i>S.intermedius</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconstoc mesenteroides</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. adolescentis</i> , <i>B. Animalis</i> , <i>B. Bifidum</i> , <i>B. Breve</i> , <i>B.</i> <i>Infantis</i> , <i>B. Lactis</i> , <i>B. Longum</i>

Sumber : Holzapfel *et al.*, 1998 ; Pato, 2003

Tabel 3. Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diisolasi dari dadih

Genus	Spesies
<i>Lactobacillus</i>	<i>L.brevis</i> , <i>L.plantarum</i> , <i>L.casei</i> , <i>L.casei subsp.</i> <i>rhamnosus</i> .
<i>Streptococcus</i>	<i>S.faecalis subsp. liquefaciens</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Leu.mesentroides</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lc.lactis</i> , <i>Lc.lactis subsp. lactis</i> , <i>Lc.lactis</i> <i>subsp.cremoris</i> , <i>Lc.casei subsp. diacetyllactis</i>

Sumber : Hosono *et al.*, 1989 ; Surono dan Nuraini 2001

Berdasarkan jenis asam yang dihasilkan, bakteri asam laktat (BAL) terbagi menjadi dua jenis yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat homofermentatif sebagian besar menghasilkan asam laktat sebagai produk utamanya dan sedikit produk samping yaitu gliserol, etanol, asetat, format, dan CO₂. Bakteri asam laktat heterofermentatif hasil akhir berupa asam laktat dan

produk fermentasi lainnya (kebanyakan etanol) dengan perbandingan yang seimbang (Purwoko,2007)

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang mampu memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam laktat sebagai produk utamanya. Bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain dengan memproduksi bakteriosin dan bersifat probiotik. Penggunaan bakteri asam laktat disebut sebagai mikroorganisme bahan pangan yang merupakan mikroba yang tidak beresiko terhadap kesehatan karena tidak menghasilkan racun berbahaya pada bahan pangan melainkan memberikan manfaat yang baik bagi kesehatan, karena sifatnya yang dapat menghambat mikroba patogen secara alami (Widyadnyana *et al.*, 2015).

Bakteri asam laktat sebagai probiotik yang dapat memberikan efek menyehatkan harus memenuhi persyaratan yaitu sifatnya yang mampu untuk tumbuh dan berkembang dalam saluran pencernaan dengan jumlah mikroba hidup mencapai 10^6 - 10^8 CFU/g, jumlahnya harus cukup untuk memberikan efek positif bagi kesehatan sehingga dapat menjalankan peranannya menjaga dan meningkatkan kesehatan tubuh (Kusumo, 2010).

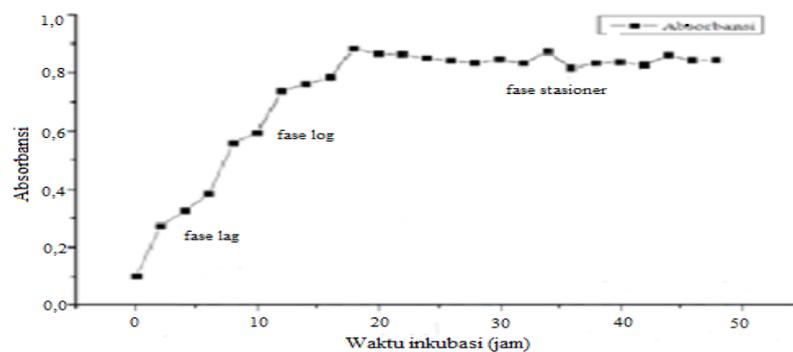
Efek menguntungkan dari bakteri asam laktat terhadap kesehatan manusia adalah non-patogenik, tidak membentuk atau memproduksi toksin, mikroaerofilik dan aerotoleran sehingga membutuhkan proses fermentasi sederhana, umumnya dapat tumbuh cepat, pertumbuhan bakteri asam laktat dapat mencegah pembusukan dan kontaminasi oleh mikroba lain (memperpanjang umur simpan), serta memproduksi bakteriosin (Haryati, 2011).

Media *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) digunakan sebagai nutrient tempat pertumbuhan bakteri asam laktat yang bertujuan mengskrinings bakteri asam laktat. Kandungan media *de Man Rogosa Sharpe* Agar (MRS Agar) dan media *de Man Rogosa Sharpe* Broth (MRS Broth) yaitu pepton, Lab-Lemco'Powder (beef ekstrak), ekstrak *yeast*, glukosa, di-Potassium hydrogenphosphat (K_2HPO_4), polyoxyethylen sorbiton mono-oleate (*tween 80*), tri-ammonium citrat ($Na_3C_6H_5O_7$), sodium asetat trihidrat ($CH_3COONa.3H_2O$), mangan sulfat tetrahidrat ($MnSO_4, 4H_2O$), magnesium sulfat heptahidrat ($MgSO_4.7H_2O$) dan bakto agar. Komposisi media MRS memiliki fungsi masing-masing yang berperan dalam pertumbuhan bakteri tersebut (de Man *et al.*, 1960).

Glukosa digunakan sebagai sumber karbon. Pepton digunakan sebagai sumber nitrogen. Lab-Lemco'Powder (beef ekstrak) dan ekstrak *yeast* digunakan sebagai sumber protein. di-Potassium hydrogenphosphat (K_2HPO_4) digunakan sebagai sumber posfat. Polyoxyethylen sorbiton mono-oleate (*tween 80*) digunakan sebagai pengemulsi. Tri-ammonium citrat ($Na_3C_6H_5O_7$) digunakan sebagai sumber logam natrium. Sodium asetat trihidrat ($CH_3COONa.3H_2O$), mangan sulfat tetrahidrat ($MnSO_4, 4H_2O$) dan magnesium sulfat heptahidrat ($MgSO_4.7H_2O$) digunakan sebagai unsur mineral. Bacto agar digunakan sebagai bahan pematat (Subagiyo *et., al.* 2015).

Pertumbuhan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* pada media MRS mengalami tiga fase dalam pertumbuhan yaitu fase lag (adaptasi), fase log (eksponensial), dan fase stasioner. Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* menunjukkan fase lag yaitu pada jam ke-0 hingga jam ke-6. Setelah beradaptasi dengan lingkungan pertumbuhannya, bakteri mengalami peningkatan jumlah sel

yang berlangsung cepat dalam fase log (eksponensial). Pada fase log semua sel membelah diri secara teratur dan pertumbuhan bakteri menjadi dua kali lipat lebih banyak. Fase log pada waktu inkubasi ke 6 dan mencapai pertumbuhan tertinggi pada jam ke-18. Bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* mengalami fase stasioner pada jam ke-18 hingga jam ke-48 pada media MRS. Pada fase ini terjadi pertumbuhan bakteri yang konstan. Nutrisi dalam medium yang ada digunakan untuk pemeliharaan jumlah sel yang ada (Alfiyana.H., Prima.R.W, 2018). Kurva pertumbuhan bakteri asam laktat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* (Alfiyana.H., Prima.R.W, 2018)

Total koloni bakteri hasil skrining menggunakan media *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) dapat dihitung koloni yang tumbuh tiap cawan petri antara rentang pertumbuhan 10-300 koloni per cawan. Total koloni bakteri dihitung dengan rumus sebagai berikut: (BPOM. 2012)

$$\text{Total Koloni} = \frac{\Sigma C}{\{V (n1 + 0,1 \times n2) \times d\}}$$

Dimana : ΣC = Jumlah koloni dari tiap-tiap petri
 V = Volume yang dimasukkan kedalam petri
 $n1$ = Jumlah petri dari pengenceran 1
 $n2$ = Jumlah petri dari pengenceran 2
 d = Pengenceran pertama yang dihitung

C. Gen Pengkode 16S rRNA

Identifikasi spesies bakteri dapat dilakukan berdasarkan sifat fenotip dan genotip. Identifikasi fenotip melalui pengamatan makroskopis morfologi koloni seperti bentuk dan warna koloni, mikroskopis (perwarnaan gram), motilitas dan uji biokimia. Proses identifikasi menggunakan metode ini membutuhkan waktu yang lama. Dengan berkembangnya metode penelitian, bakteri dapat diidentifikasi secara genotip. Identifikasi bakteri secara genotip dapat dilakukan dengan metode molekuler yang ditujukan pada DNA total atau urutan basa nukleotida suatu gen (Azhar, 2016).

Pemanfaatan gen 16S rRNA telah digunakan sebagai parameter sistematik molekuler yang universal, representatif, dan praktis untuk mengkonstruksi kekerabatan filogenetik pada tingkat jenis atau spesies. Hal ini disebabkan karena keberadaan gen tersebut tidak tergantung pada kondisi pertumbuhan dan media yang digunakan (Clarridge, 2004).

Pendekatan genomik lebih sering digunakan untuk penentuan spesies prokaryota. Sebagai penanda molekuler yang paling banyak digunakan adalah RNA ribosomal (rRNA). Ada tiga jenis gen pengkode rRNA pada prokaryot yaitu 5S rRNA, 16S rRNA, dan 23S rRNA. Molekul 5S rRNA memiliki urutan basa terlalu pendek, sehingga tidak ideal dari segi analisis statistika, sementara molekul 23S rRNA memiliki struktur sekunder dan tersier yang cukup panjang sehingga menyulitkan untuk analisis. Dari ketiga jenis gen ini 16S rRNA adalah gen yang paling sering digunakan karena ukuran gen 16S rRNA cukup memadai dan memudahkan dalam proses amplifikasi gen tersebut secara PCR dan dalam proses sekuensing (Pangastuti, 2006). Ukuran gen 5S rRNA adalah sekitar 120 basa, 23S

rRNA sekitar 2900 basa, 16S rRNA sekitar 1500 basa. Kemiripan urutan basa nukleotida gen 16S rRNA digunakan untuk mengidentifikasi bakteri sampai pada tingkat spesies (Azhar, 2016).

Karakteristik genotipik isolat bakteri asam laktat dilakukan berdasarkan DNA pengkode gen 16S rRNA untuk menentukan genus dan spesiesnya. DNA pengkode gen 16S rRNA dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk penentu spesies bakteri karena molekul ini ada pada setiap organisme dengan fungsi yang identik pada seluruh organisme (Pangastuti, 2006).

Gen 16S rRNA memiliki daerah yang *conserved* (lestari). Daerah lestari adalah daerah urutan basa yang dimiliki oleh semua makhluk hidup (Mignard,2006) sehingga tepat digunakan dalam *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan analisis sekuensing untuk menentukan taksonomi, filogeni, dan keanekaragaman antar spesies. Analisis sekuensing gen 16S rRNA berbasis molekuler ini dinilai cepat dan akurat untuk mengidentifikasi bakteri patogen dan mempunyai sejumlah keunggulan dibandingkan metode mikrobiologi konvensional (Rinada,2011).

Bagian lain pada Gen 16S rRNA terdapat daerah yang bersifat semi-lestari dan variabel. Pada gen 16S rRNA terdapat 9 daerah variabel yang ditandai dengan V1 sampai V9. Daerah-daerah variabel tersebut memungkinkan untuk membedakan organisme dalam genus, bahkan spesies tetapi tidak antar strain dalam spesies yang sama. Pada daerah yang sangat lestari dapat dijadikan primer universal untuk amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan teknik PCR. Daerah tersebut dapat dilihat pada urutan basa nukleotida 16S rRNA *E. Coli* pada Gambar 4 (Azhar, 2016).

Gambar 4. Urutan Basa Nukleotida Gen 16S rRNA E.coli (Baker G.C *et al.* 2003)

D. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik memperbanyak atau amplifikasi fragmen DNA selektif secara *in vitro*. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam waktu singkat (Pranawaty *et al.*, 2012).

Pada tahun 1985 teknik ini pertama kali dikembangkan oleh Karry Mullis. Prinsip dasar PCR adalah sekuen DNA spesifik diamplifikasi menjadi dua copi selanjutnya menjadi empat copi yang dilakukan berulang-ulang melalui proses pemisahan untai ganda DNA (*double helix*) menjadi untai tunggal. Pelipat gandaan ini membutuhkan enzim spesifik yang dikenal dengan polimerase. Polimerase adalah enzim yang mampu menggabungkan DNA cetakan tunggal, membentuk untai molekul DNA yang panjang dengan adanya dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP) dan buffer yang sesuai (Handoyo, 2001).

Proses PCR merupakan proses siklus berulang dalam 20-40 siklus dan berlangsung dengan cepat yang melibatkan tiga tahapan penting meliputi Denaturasi, *Annealing*, dan *Extention* oleh enzim DNA Polimerase. Dengan satu siklus perubahan suhu (94°C, 48°C dan 72°C) segmen DNA tunggal (*single-stranded*) diamplifikasi menjadi dua segmen DNA *double-stranded*. Kedua segmen ini kemudian untuk siklus amplifikasi berikutnya (25- 30 siklus) untuk mencapai tingkat urutan target yang diperlukan dalam template DNA (Garibyan dan Avashia, 2013).

Dalam proses PCR terdapat tiga tahapan penting yang selalu terjadi berulang yaitu:

1. Denaturasi

Denaturasi adalah proses terputusnya ikatan hidrogen antar basa nukleotida DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Temperatur yang tinggi pada tahap awal proses menyebabkan pemisahan untai ganda DNA. Temperatur denaturasi 92 – 95°C dan suhu standarnya adalah 94°C. Akibat dari denaturasi yang tidak lengkap DNA akan mengalami renaturasi (membentuk DNA untai ganda lagi) secara cepat, sehingga mengakibatkan gagalnya proses PCR. Proses denaturasi molekul DNA menjadi untai tunggal biasanya berlangsung sekitar 3 menit, apabila waktu denaturasi terlalu lama dapat mengurangi aktifitas enzim *Taq polymerase*. (Yusuf, 2010; Fatchiyah, 2005)

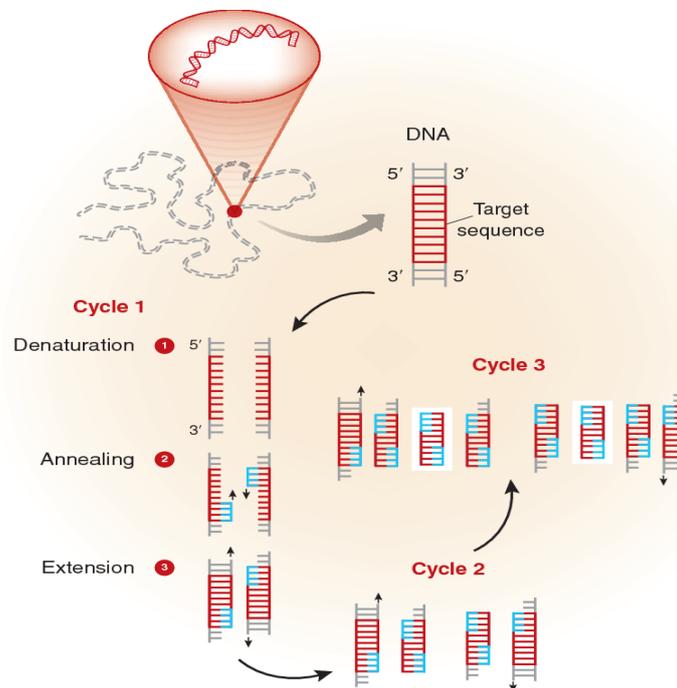
2. *Annealing* (penempelan primer)

Tahap ini merupakan tahap lanjutan dari terputusnya ikatan ganda DNA templet menjadi untai tunggal. Waktu *annealing* yang biasa digunakan dalam PCR adalah 30–45 detik. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Kisaran temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 36°C sampai dengan 72°C. Untuk merancang primer yang baik umumnya kriteria primer yang sebaiknya digunakan adalah berukuran 18–25 basa (Yusuf, 2010).

3. Perpanjangan Primer (*Extantion*)

Pada tahap *extantion* taq polymerase memulai proses perpanjangan untai baru DNA primer dari arah 5' ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim membutuhkan suhu 72°C, waktu di akhir siklus PCR untuk tahap ini diperpanjang sampai 5 menit sehingga seluruh produk PCR diharapkan terbentuk DNA untai ganda (Nuraeni, 2008).

Semua langkah ini sangat tergantung pada suhu. Adapun suhu sensitif yang pada umumnya terjadi berkisaran pada suhu 94°C untuk denaturasi, 48°C untuk *annealing* dan 72°C untuk *extantion*. Serta desain primer yang baik sangat penting untuk keberhasilan reaksi PCR.



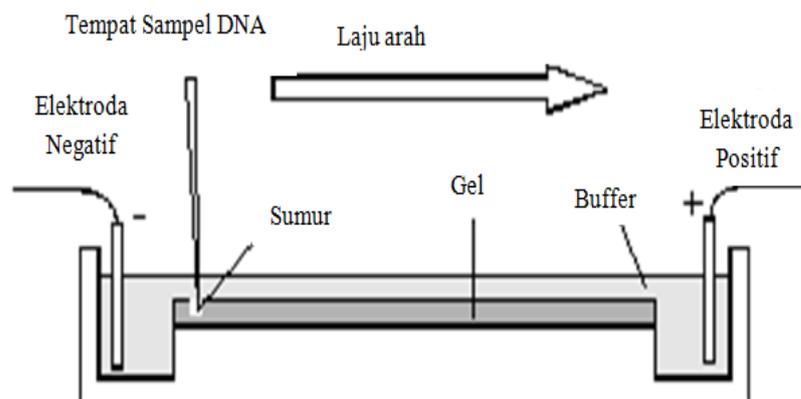
Gambar 5. Tahapan proses PCR (Garibyan dan Avashia, 2013)

Komponen- komponen yang diperlukan pada proses PCR diantaranya yaitu templat DNA yang berfungsi sebagai cetakan untuk pembentukan molekul DNA baru yang sama atau DNA yang akan diamplifikasi (DNA hasil isolasi dari organisme yang dianalisis); sepasang primer yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA templat; Enzim DNA polimerase berperan pada pada proses perpanjangan DNA merupakan eksonuklease pada ujung 3'-5' dari cetakan DNA, diisolasi dari bakteri termofilik *Thermus aquaticus* menghasilkan enzim *Taq polymerase* (Nuraeni, 2008)

dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates) merupakan campuran yang terdiri dari: dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP merupakan sumber nukleotida yang diperlukan untuk pemanjangan DNA; buffer PCR yang berfungsi menjaga kondisi pH larutan untuk aktifitas enzim DNA polimerase dan kelarutan DNA; Ion K yang terdapat dalam buffer berperan mengaktifasi enzim *Taq polimerase* dan mempengaruhi spesifitas hibridasi primer dengan template DNA; magnesium klorida ($MgCl_2$) sebagai kofaktor pada reaksi enzimatik, dimana $MgCl_2$ ini akan mengion berikatan dengan dNTPs, konsentrasi $MgCl_2$ yang terlalu tinggi akan mengganggu proses *annealing* (Handoyo, 2001).

E. Elektroforesis dan Visualisasi Gel

Untuk mengidentifikasi hasil isolasi DNA dilakukan analisa menggunakan gel elektroforesis agarosa. Analisa ini dilakukan dengan menginjeksi DNA kedalam lubang sumur agarosa dan mengalir dengan arus listrik. Selanjutnya dilakukan visualisasi migrasi DNA pada gel agarosa menggunakan lampu UV transiluminator dan hasil deteksi didokumentasikan. Hasil untai DNA kecil dengan cepat berpindah dan untai besar yang terbentuk diantara gel menunjukkan hasil yang positif (Nuronyah, 2012).



Gambar 6. Elektroforesis gel agarosa

F. Sekuensing Gen 16S rRNA Bakteri Metode *Dideoxy-sanger*

Proses penentuan urutan basa nukleotida pada DNA disebut dengan sekuensing. Sekuensing gen 16S rRNA dari produk PCR menggunakan metoda Sekuensing *Dideoxy-Sanger*. Pilihan penggunaan metode ini karena kesederhanaan dan kecepatannya. Prinsip Sekuensing dengan metode *Dideoxy-Sanger* adalah perpanjangan primer yang menempel pada templet yang akan disekuen sampai sebuah nukleotida pengakhir rantai berikatan. Proses menggunakan mesin Sekuensing merek CEQTM 8000 Genetic Analysis System (Fatimawali.,2013).

G. Analisa Data atau Bioinformatika

Bioinformatika adalah disiplin ilmu baru yang menggabungkan ilmu komputer, kimia dan statistika untuk mengatur, menganalisa, dan mendistribusikan informasi biologis untuk memecahkan masalah biologi, terutama terkait dengan penggunaan sekuen DNA dan protein menjadi sangat cepat dan praktis. Untuk mempermudah pengolahan data bio dilibatkan ilmu informatika, sehingga dikenal cabang ilmu baru biokimia yaitu bioinformatika. Pengolahan data ini menggunakan program-program *free* yang terdapat pada berbagai basis data bio (Azhar., 2016).

Beberapa program bioinformatika diantaranya yaitu Program *Seqmen* DNAS^tar, *GenBank* Program BLAST, dan Program MEGA.

1. Program *Seqmen* DNAS^tar

Perkembangan DNAS^tar *software* adalah untuk analisis sekuen pada genomic, biologi molekuler, dan strukrur biologi. DNAS^tar merupakan suatu

software bioinformatika untuk analisis DNA. Program *Seqman DNASTar* adalah sebuah *software* komputer yang digunakan untuk menganalisis atau mendeteksi data sekuen dari hasil *sequencing* DNA. Data yang diolah adalah data hasil *sequencing* DNA yaitu *electropherogram*. Prinsip kerja program ini adalah hasil dari data *sequencing* yang berupa seperti grafik atau kromatogram diterjemahkan menjadi urutan-urutan basa nukleotida. Hasil data dari *Seqman DNASTar* ini adalah urutan dari basa nukleotida DNA sampel yang dianalisa

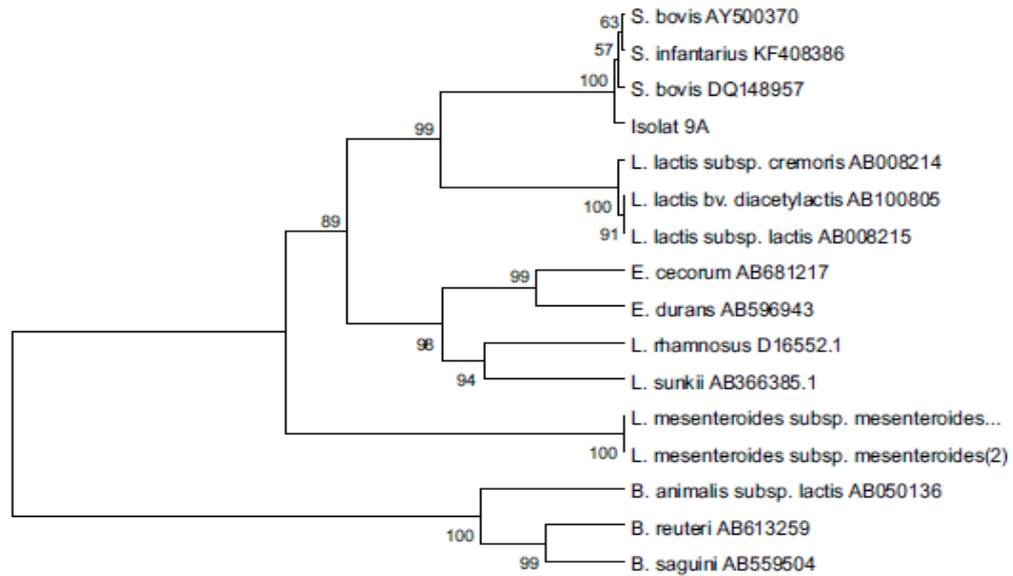
2. *GenBank* program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*)

Hasil Sekuen DNA atau Protein dapat dibandingkan dengan data yang ada pada *GenBank*. Salah satu bentuk analisis yang dapat dilakukan adalah analisis penjajaran sekuen DNA. Program yang digunakan untuk analisis penjajaran yaitu program BLAST (*Basic Local Allignment Search Tools*) yang bertujuan untuk membandingkan data yang diperoleh dengan hasil sekuen DNA yang ada diseluruh dunia yang didepositkan pada database *GenBank* sekuen publik. Program ini dapat diakses melalui website *National Center for Biotechnology Information* ([BLAST](#)) (Purwati *et al.*, 2014)

3. MEGA (*Molecular Evolution Genetic Analysis*)

Software MEGA dikembangkan sejak 1994 untuk analisa sekuen dari DNA dan protein. Tujuan dari perangkat lunak MEGA adalah untuk mengeksplorasi, menemukan, dan menganalisis urutan DNA dan protein dari evolusi perspektif. *Software* MEGA digunakan untuk analisa sekuen dari DNA dan protein yang bertujuan untuk menentukan kekerabatan, pola molekuler dari gen, genom, dan spesies dari waktu ke waktu. Pada MEGA versi 6.0, MEGA menambahkan fasilitas untuk membangun pohon evolusi molekuler disebut *timetrees*, yang

mana diperlukan secara jelas oleh *scientist* sebagai sebuah kenaikan jumlah pengetahuan yang melaporkan perbedaan spesies, untai, dan duplikasi gen (Widyadnyana *et al.*, 2015).



Gambar 7. Contoh pohon filogenetika Program MEGA (Widyadnyana *et al.*, 2015).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Isolasi bakteri asam laktat dari dadih diberi kode nama yaitu isolat bakteri UBC-DA-08. Identifikasi isolat bakteri UBC-DA-08 merupakan koloni bakteri berbentuk bulat, ukuran sedang dan berwarna putih, Sel bakteri berbentuk coccus (bulat), gram positif. Berdasarkan identifikasi genotif gen 16S rRNA isolat bakteri asam laktat UBC-DA-08 dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri tersebut termasuk kelompok spesies *Lactococcus lactis*

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, untuk peneliti selanjutnya disarankan untuk :

1. Dari penelitian ini telah berhasil diisolasi isolat bakteri *Lactococcus lactis* yang merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat menghasilkan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, sehingga disarankan untuk dilakukan peneliti lebih lanjut
2. Alat yang digunakan dalam identifikasi bakteri harus dalam keadaan steril, serta lingkungan tempat isolasi bakteri dan isolasi DNA kromosom harus dalam keadaan bersih untuk menghindari terjadinya kontaminasi.
3. Ketelitian dalam teknik pemipetan dan pengadukan campuran larutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani. 2010. "Pengaruh Penggunaan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Kadar Asam dan Nilai pH Dadih Susu Sapi". *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan Mei, 2010, Vol. XIII, No. 6*
- Alfiyana.H.,Prima.R.W. 2018. "Penentuan Waktu Produksi Optimum Bakteriosin Asal *Lactobacillus plantarum* B1765 Berdasarkan Aktivitas Penghambatannya Terhadap *Staphylococcus aureus*". *UNESA Journal of Chemistry Vol. 7, No. 1, January 2018*
- Ambri, K., Kusnadi, J., dan Putri, W.D.R. 2009. "Studi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Dadih dalam Es krim sebagai Pangan Probiotik". *Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 10 NO.1 (April 2009) 1 – 9*
- Arsyik Ibrahim, Aditya Fridayanti, Fila Delvia. 2015 "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indicaL.*)". *Jurnal Ilmiah Manuntung, 1(2), 2015 ISSN Cetak. 2443-115X ISSN Elektronik. 2477-1821. Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Farmaka Tropis Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur*
- Azhar, M. 2016. "Biomolekul Sel" Padang : UNP Press
- Baker G.C., Smith J.J., Cowan D.A. 2003. "Review and re-analysis of domain-specific 16S primers". *Journal of Microbiological Methods 55 (2003) 541–555. doi:10.1016/j.mimet.2003.08.009*
- Bylund, Gösta. 1995. *Dairy Processing Handbook*. LP Grafiska AB. Swedia
- Chalid, S.Y., Hartiningsih, F. 2013. "Potensi Dadih Susu Kerbau Fermentasi sebagai Antioksi dan dan Antibakteri". Program Studi Kimia, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Clarridge. 2004."Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases". *Clinical Microbiology Reviews, Oct. 2004, p. Vol. 17, No. 40893-8512/04/\$08.00_0 DOI: 10.1128/CMR.17.4.840–862.2004*