

Skrining dan Identifikasi Molekuler Probiotik dari Dadih Sebagai Inhibitor Alpha-Glukosidase

Togi Rut Marlita Marbun¹⁾, Ramawathy Naidu¹⁾, I Nyoman Ehrich Lister²⁾, Edy Fachrial²⁾ *

¹⁾ Faculty of Medicine, Dentistry, and Health Sciences, Universitas Prima Indonesia, Jl. Sampul, Sei Putih Baru, Medan City 20118, North Sumatra, Indonesia

²⁾ Faculty of Medicine, Dentistry, and Health Sciences, Universitas Prima Indonesia, Jl. Sampul, Sei Putih Baru, Medan City 20118, North Sumatra, Indonesia

E - mail : edyfachrial@unprimdn.ac.id

Abstrak

Latar Belakang: Saat ini, berbagai jenis obat antidiabetes tersedia di pasaran. Namun, penggunaan obat sintetis untuk pengobatan diabetes seringkali menimbulkan kendala, termasuk efek samping, resistensi terhadap terapi, dan biaya pengobatan yang tinggi. Inhibitor SGLT-2, *Pioglitazone*, *Metformin*, *Sulfonilurea*, inhibitor DPP-4 (Gliptin), *agonis* GLP-1, *Acarbose*, dan berbagai obat lainnya umum digunakan dalam farmakoterapi diabetes. Selain obat antidiabetes oral konvensional, zat alami seperti Bakteri Asam Laktat (BAL) probiotik dapat menjadi terapi alternatif untuk diabetes. Beberapa jenis probiotik memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim alfa-glukosidase di mikrovili usus yang menurunkan kadar glukosa darah. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menemukan karakteristik yang cocok sebagai kandidat probiotik di dalam dadih dengan skrining dan mengidentifikasi molekul probiotik dari dadih sebagai inhibitor alfa-glukosidase. **Metode:** Metode dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimental. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat DDH 8 memiliki persentase pertumbuhan sebesar 48% dalam uji asam, yang menunjukkan pertumbuhan bakteri yang signifikan, dengan tingkat pertumbuhan hidup sebesar 46,595% dan toleransi garam empedu yang rendah. DDH 8 juga menunjukkan aktivitas antibakteri sedang, dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 10,5 mm terhadap *E. coli*. Berdasarkan identifikasi fenotipik dan molekuler menggunakan 16S rRNA, isolat DDH8 diidentifikasi sebagai *Lactobacillus fermentum*, yang memiliki karakteristik yang cocok sebagai kandidat probiotik. **Simpulan:** Isolat bakteri asam laktat (LAB), yang diidentifikasi sebagai *Lactobacillus fermentum* melalui identifikasi fenotipik dan molekuler berdasarkan gen 16S rRNA, menunjukkan dadih berpotensi sebagai probiotik. LAB dari dadih bersifat gram-positif, berwarna merah, dan berbentuk batang, serta hasil skrining menunjukkan bahwa isolat ini bersifat katalase-negatif dan homofermentatif.

Kata Kunci: alfa-glukosidase; asam laktat; bakteri; dadih; probiotik

Abstract

Background: Currently, there are various types of antidiabetic drugs available in the market. However, the use of synthetic drugs for the treatment of diabetes often causes problems, including side effects, resistance to therapy, and high treatment costs. SGLT-2 inhibitors, *Pioglitazone*, *Metformin*, *Sulfonylurea*, *DPP-4* inhibitors (Gliptin), *GLP-1* agonists, *Acarbose*, and other drugs are commonly used in diabetes pharmacotherapy. In addition to conventional oral antidiabetic drugs, natural substances such as probiotic Lactic Acid Bacteria (LAB) can be an alternative therapy for diabetes. Some types of probiotics have the ability to inhibit the activity of alpha-glucosidase enzyme in intestinal microvilli, thereby reducing blood glucose levels. **Objective:** This study aimed to find suitable characteristics as probiotic candidates in dadih by screening and identifying molecular probiotics from curd as alpha-glucosidase inhibitors. **Methods:** This study used experimental method. **Results:** The results showed that isolate DDH8 had a growth percentage of 48% in the acid test, which showed significant bacterial growth, with a live growth rate of 46.595% and low bile salt tolerance. DDH 8 also showed moderate antibacterial activity, with average inhibition zone diameter of 10.5 mm against *E. coli*. Based on phenotypic and molecular identification using 16S rRNA, isolate DDH8 was identified as *Lactobacillus fermentum*, which has suitable characteristics as probiotic candidate. **Conclusion:** LAB isolates, identified as *Lactobacillus fermentum* through phenotypic and molecular identification based on 16S rRNA gene, showed potential as probiotics. LAB from curd was gram-positive, red in color, and rod-shaped. Screening results showed that this isolate was catalase-negative and homofermentative.

Keywords: alpha-glucosidase, bacterial, dadih, lactic acid, probiotics

1. Pendahuluan

Diabetes diklasifikasikan sebagai penyakit yang tidak dapat menular dan masuk dalam kategori penyakit degeneratif. Penyakit ini merupakan masalah kesehatan yang tersebar luas dan memengaruhi populasi secara

global, regional, nasional, maupun lokal. Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolik dengan prevalensi tinggi di berbagai belahan dunia, sebagaimana dilaporkan oleh Sari & Purnama (2019). Diabetes melitus memiliki gejala yaitu dengan adanya kenaikan kadar gula darah (hiperglikemia) yang diakibatkan oleh kelainan dalam sekresi insulin, aksi insulin, atau keduanya. Kondisi ini dapat terjadi akibat penurunan sekresi insulin oleh pankreas atau respons tubuh yang buruk terhadap insulin. Insulin merupakan hormon yang berperan dalam mengelola kadar glukosa dalam aliran darah. Kurangnya kontrol gula darah dalam jangka panjang dapat menyebabkan hiperglikemia (Cornell, 2017). Gejala hiperglikemia dapat muncul dalam berbagai bentuk, seperti peningkatan frekuensi buang air kecil (poliuria), rasa haus yang berlebihan (polidipsia), penurunan berat badan yang tidak disengaja, peningkatan nafsu makan (polifagia), dan penglihatan kabur (Novitasari et al., 2022). Kadar gula darah yang tinggi dalam jangka panjang dapat membuat pengidapnya rentan terserang penyakit. Diabetes yang tidak terkontrol pada pasien dapat menyebabkan hiperglikemia ekstrem, yang pada akhirnya dapat memicu sindrom hiperosmolar atau ketoasidosis nonketotik (Fatimah, 2015). Obesitas merupakan faktor yang berkontribusi terhadap perkembangan DM karena menyebabkan resistensi insulin pada berbagai tingkat (Putra & Berawi, 2015). Individu yang tidak mengalami obesitas dengan berat badan normal tetap dapat memiliki proporsi lemak tubuh yang lebih tinggi, terutama yang terlokalisasi di area perut (Thomas et al., 2023).

Pada tahun 2019, prevalensi global diabetes melitus pada kelompok usia 20-79 tahun mencapai 463 juta orang, yang mencakup 9,3% dari total populasi dalam rentang usia tersebut. Prevalensi DM pada kelompok usia 65-79 tahun diperkirakan sebesar 19,9% pada 2019, dan diproyeksikan akan meningkat menjadi 20,4% pada 2030 dan 20,5% pada 2045. Angka kejadian diabetes pada tahun 2019 tercatat sebesar 9% pada wanita dan 9,6% pada pria. Berdasarkan penelitian Widasari *et al.* (2021), prevalensi diabetes diperkirakan akan meningkat menjadi 578,4 juta pada tahun 2030 dan 700,2 juta pada tahun 2045 (Widasari et al., 2021). Peningkatan jumlah individu yang terkena diabetes ini dapat dihubungkan dengan kurangnya langkah-langkah yang signifikan dalam pencegahan, pengelolaan, dan kepatuhan terhadap pengobatan penyakit ini. Negara-negara dengan insiden tertinggi diabetes melitus (DM) pada tahun 2019 adalah China, India, dan Amerika Serikat, untuk kelompok usia 20-79 tahun. Indonesia menempati peringkat ketujuh di antara 10 negara dengan prevalensi tertinggi, dengan 10,7 juta orang yang terdampak. Berdasarkan data dari International Diabetes Federation (2019), Indonesia dan negara-negara di Asia Tenggara memiliki tingkat prevalensi diabetes sebesar 11,3%, menjadikan Indonesia sebagai negara dengan prevalensi tertinggi ketiga di dunia. Indonesia adalah satu-satunya negara di Asia Tenggara yang termasuk dalam daftar ini, yang menyoroti dampak besar terhadap prevalensi diabetes di kawasan tersebut (Fachrial et al., 2024).

Berdasarkan data dari International Diabetes Federation (2019), Indonesia dan negara-negara lain di kawasan Asia Tenggara memiliki tingkat prevalensi diabetes sebesar 11,3%, menjadikan Indonesia sebagai negara dengan kasus diabetes tertinggi ketiga di dunia. Indonesia merupakan satu-satunya negara di Asia Tenggara yang termasuk dalam daftar ini, menegaskan pengaruh signifikan terhadap prevalensi diabetes di kawasan tersebut (Fachrial et al., 2024). Saat ini, terdapat berbagai jenis obat antidiabetes yang tersedia di pasaran. Namun, penggunaan obat sintetis untuk pengobatan diabetes seringkali menimbulkan kendala, termasuk efek samping, resistensi terhadap terapi, dan biaya pengobatan yang tinggi. Inhibitor SGLT-2, *pioglitazone*, *metformin*, *sulfonilurea*, inhibitor DPP-4 (Gliptin), *agonis GLP-1*, *acarbose*, dan berbagai obat lainnya umum digunakan dalam farmakoterapi diabetes (Marianne et al., 2014). Selain obat antidiabetes oral konvensional, zat alami seperti Bakteri Asam Laktat (BAL) probiotik dapat menjadi terapi alternatif untuk diabetes. Probiotik adalah sekelompok mikroorganisme yang, memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya dengan jumlah yang cukup (Fachrial et al., 2023). Beberapa jenis probiotik memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim alfa-glukosidase di mikrovili usus, sehingga menurunkan kadar glukosa darah (Gomes et al., 2014).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa probiotik memiliki kemampuan menurunkan kadar kolesterol juga menunjukkan karakteristik antidiabetes (Bosch et al., 2014; Gomes et al., 2014). Studi menunjukkan bahwa respons tubuh terhadap insulin dapat ditingkatkan dengan konsumsi probiotik, yang berkontribusi pada penurunan signifikan HOMA-IR (Ruan et al., 2015). Kusmiati et al. (2015) melakukan penelitian dengan pemberian 65 ml minuman probiotik *Lactobacillus casei* pada pasien obesitas selama 16 hari menghasilkan penurunan signifikan kadar glukosa darah dan kolesterol total. Konsumsi susu fermentasi *Lactobacillus casei* terbukti mampu menghambat aktivitas enzim alfa-glukosidase di mikrovili usus, sehingga menurunkan kadar glukosa darah pada tikus (Kusmiati et al., 2015).

Ejtahed et al. (2012) melakukan penelitian ekstensif pada hewan dan manusia untuk menyelidiki dampak probiotik dalam pencegahan serta pengobatan berbagai gangguan, termasuk diare, penyakit radang usus, sindrom iritasi usus, asma, alergi, obesitas, dan diabetes tipe 2 (Ejtahed et al., 2012). Probiotik dapat diperoleh dari berbagai sumber, termasuk susu dan produk turunannya, seperti susu sapi, susu kerbau, susu fermentasi, dadih, dan dangke (Nur et al., 2015). Di Indonesia, dadih merupakan salah satu produk susu yang berpotensi menghasilkan mikroorganisme menguntungkan. Konsumsi dadih tidak hanya memanfaatkan bakteri probiotik yang terkandung di dalamnya, tetapi juga manfaat susu kerbau segar yang telah diproses untuk meningkatkan daya cerna. *Lactobacillus acidophilus* (LAB) menunjukkan efek antibakteri, antioksidan, dan hipoglikemik (Nur et al., 2015). Sebagai agen antidiabetes, BAL mampu menghambat enzim alfa-glukosidase. Bajpai et al. (2016) menduga

bahwa isi sitoplasma atau produk metabolisme bakteri mungkin bertanggung jawab untuk aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase. BAL yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase juga telah terbukti mampu menurunkan glukosa darah pada tikus sehingga memiliki sifat fungsional sebagai antidiabetes (Farida et al., 2019). Enzim ini memiliki peran dalam proses terpecahnya karbohidrat menjadi glukosa di saluran pencernaan, yang dapat meningkatkan kadar gula darah dalam tubuh. Guna mencegah lonjakan kadar gula darah, diperlukan inhibitor enzim α -glukosidase (Hedrington & Davis, 2019). Berdasarkan fenomena mengenai LAB dan temuan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa LAB memiliki sifat inhibisi terhadap aktivitas enzim alfa-glukosidase. Tujuan dari penelitian ini adalah menelaah potensi probiotik dari bakteri asam laktat dalam dadih sebagai agen antidiabetes.

2. Bahan dan Metode

Bahan

Penelitian ini menggunakan peralatan yang meliputi ujung pipet, bunsen, kaca objek, cawan petri, mikropipet, pemantik api, pipet tetes, oven, kertas label, laminar air flow, inkubator, autoklaf, mikroskop, kantong plastik tahan panas, jarum ose, *shaker water bath*, kompor pemanas, dan *vortex mixer*. Adapun bahan LAB yang digunakan merupakan isolat dari bakteri asam laktat dari dadih (*Lactobacillus fermentum*), media *de Man Rogosa Sharpe Broth*, akarbosa, aluminium foil, plastik pembungkus, alkohol 70%, *Bacto Agar*, aloksan, pakan standar (AD-1), dan akuades.

Penyiapan Dadih

Dadiah kerbau dalam penelitian ini berasal dari Kota Payakumbuh. Dadiah kerbau berisi 250 ml dikirim melalui ekspedisi ke Kota Medan. Proses pembuatan dadiah dilakukan secara tradisional dari susu kerbau yang dimasukkan ke dalam batang bambu, kemudian ditutup dengan daun pisang yang telah dilayukan menggunakan api, lalu difermentasi pada suhu ruang sekitar 27-33°C dalam dua hari. Ada beberapa variasi karakteristik pada dadiah seperti: komposisi awal susu kerbau yang digunakan, jenis dan ukuran tabung bambu serta lama fermentasi susu kerbau (Putra et al., 2011). Hasil penelitian menunjukkan nilai gizi dadiah didapatkan rata-rata kadar air sebesar 72,43%, protein 8,09%, dan lemak 7,63%. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa profil dan karakteristik dadiah pada tempat pengambilan sampel berbeda telah memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk susu fermentasi (*yoghurt*) (Haezah et al., 2024).

Prosedur Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari dadiah dilakukan menggunakan media *deMan Rogosa Sharpe Broth* (MRSB). Proses isolasi mengikuti metode yang dijelaskan oleh Emmawati et al. (2015), yang melibatkan pengenceran berseri dengan rasio 1:9. Sebanyak 1 gram/ml sampel ditambahkan ke dalam 9 ml *MRS broth* steril dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, larutan yang keruh diencerkan secara berseri dari 10^{-1} hingga 10^{-7} . Pada setiap tahap pengenceran, sebanyak 0,1 ml dari tabung sebelumnya dipindahkan ke dalam 9 ml *MRS broth* pada tabung berikutnya untuk memastikan koloni bakteri yang tumbuh tidak terlalu padat. Pengenceran terakhir (10^{-7}) kemudian ditanam pada media MRS agar menggunakan metode *pour plate*, dengan menambahkan 0,1 ml sampel dan 1,5% CaCO_3 , lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni BAL yang tampak bening selanjutnya dimurnikan menggunakan metode *streak plate*. Koloni tunggal yang terpilih digoreskan pada media MRS agar baru dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 48 jam hingga koloni terisolasi terbentuk (Emmawati et al., 2015).

Evaluasi Aktivitas Antibakteri BAL

Sebanyak lima mililiter air destilasi steril digunakan untuk mengencerkan tiga hingga empat sampel dari setiap isolat Bakteri Asam Laktat (BAL). Kertas cakram (diameter 6 mm) direndam dalam larutan isolat BAL selama 15 menit. Kertas cakram yang direndam dalam air steril digunakan sebagai kontrol. Air steril juga digunakan untuk mengencerkan tiga hingga empat dosis bakteri patogen, yang kemudian dihomogenisasi.

Sebanyak satu mililiter larutan bakteri patogen disebarkan secara merata di permukaan media MRS dan dibiarkan selama 5 menit. Kertas cakram yang sudah jenuh diletakkan di atas media tersebut. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Zona di mana BAL menghambat pertumbuhan bakteri patogen diamati sebagai area bening di sekitar kertas cakram (Syukur et al., 2016).

Karakterisasi Morfologi dan Biokimia Probiotik

Karakterisasi isolat bakteri asam laktat dalam penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakter fisiologis, morfologi, dan biokimia, termasuk uji katalase, fermentasi, serta toleransi terhadap asam dan garam empedu dengan menggunakan metode cawan tuang mikroba. Pengenceran yang berbeda dari sampel disiapkan dalam larutan garam (0,85% NaCl) dan tuang ke media MRS agar10 dan diinkubasi pada suhu 37 ° C, selama 24 jam. Unit pembentuk koloni (CFU/mL) BAL ditentukan. Spesies dugaan BAL dimurnikan dengan menggoreskan kembali pada lempeng MRS agar dan diinkubasi untuk mendapatkan satu koloni murni. Setelah inkubasi, koloni disimpan di lemari es pada cawan agar MRS selama percobaan berlangsung (Rahman, 2015).

Analisis Aktivitas Inhibitor Alpha-Glukosidase oleh BAL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat DNH 16 mampu menghambat aktivitas α -glukosidase sebesar 27%. Campuran dengan kode A0 terdiri dari MRS *Broth*, *buffer* pH 7, dan substrat. Kode A1 terdiri dari MRS *Broth*, *buffer* pH 7, enzim, dan substrat. Kode A10 terdiri dari supernatan, *buffer* pH 7, dan substrat. Kode A11 terdiri dari supernatan, *buffer* pH 7, enzim, dan substrat. Penentuan α -glukosidase didasarkan pada penghambatan pembentukan glukosidase kasar dari substrat sukrosa (Riastawaty et al., 2023). Ekspresi hasil tersebut dinyatakan dalam rumus berikut:

$$\% \text{Inhibition} = \frac{(abs \ A1 - abs \ A0) - (abs \ A11 - abs \ A10)}{(abs \ A1 - abs \ A0)} \times 100\%$$

Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler bakteri asam laktat dari dadih dimulai dengan ekstraksi DNA, yang mencakup persiapan sampel, lisis sel, pengikatan DNA, pencucian, dan elusi. Proses ini dilanjutkan dengan amplifikasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan visualisasi produk PCR melalui elektroforesis. Hasilnya kemudian dianalisis menggunakan sequencing DNA dan analisis pohon filogenetik (Ginting et al., 2023).

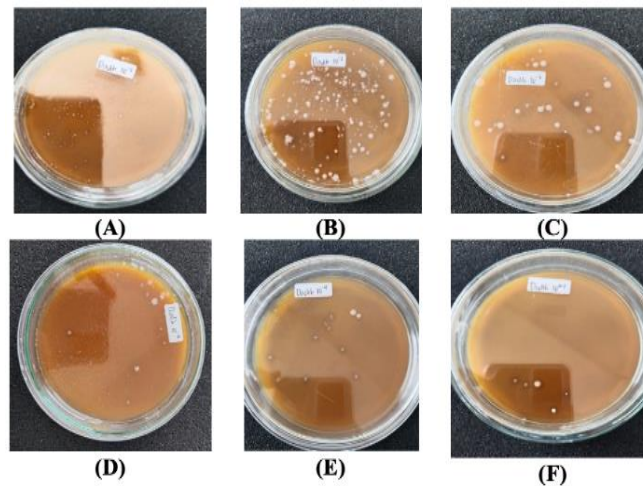
Analisis Statistik

Data dianalisis secara deskriptif tanpa membandingkan hasil dengan sampel lain.

3. Hasil

a. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Dadih

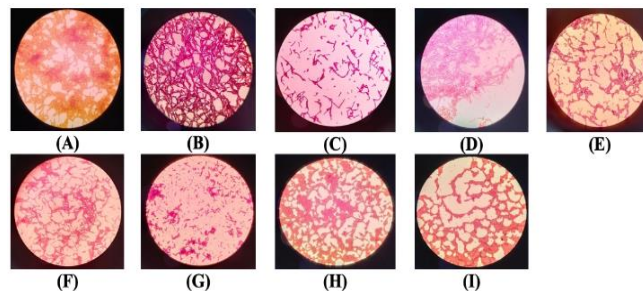
Hasil isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari dadih dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil dari *Lactic Acid Bacteria* (LAB) Isolasi dari dadih, A: Dilution 10^{-2} , B: Dilution 10^{-2} , C: Dilution 10^{-3} , D: Dilution 10^{-3} , E: Dilution 10^{-4} , F: Dilution 10^{-4}

b. Karakteristik Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengidentifikasi BAL, di mana BAL dikategorikan sebagai bakteri Gram-positif. Hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram, A: Dadih 1, B: Dadih 2, C: Dadih 3, D: Dadih 4, E: Dadih 5, F: Dadih 6, G: Dadih 7, H: Dadih 8, I: Dadih 10

c. Uji Katalase dan Fermentasi

Hasil skrining bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh dari dadih menunjukkan bahwa semua sampel dadih yang diuji memberikan hasil positif pada uji katalase dan bersifat homofermentatif dalam uji fermentasi. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Skrining Uji Katalase dan Fermentasi BAL Dadih

No	Nama Bakteri	Uji Katalase	Uji Fermentasi
1.	Dadih 1	(Negative)	Homofermentative
2.	Dadih 2	(Negative)	Homofermentative
3.	Dadih 3	(Negative)	Homofermentative
4.	Dadih 4	(Negative)	Homofermentative
5.	Dadih 5	(Negative)	Homofermentative
6.	Dadih 6	(Negative)	Homofermentative
7.	Dadih 7	(Negative)	Homofermentative
8.	Dadih 8	(Negative)	Homofermentative
9.	Dadih 9	(Negative)	Homofermentative

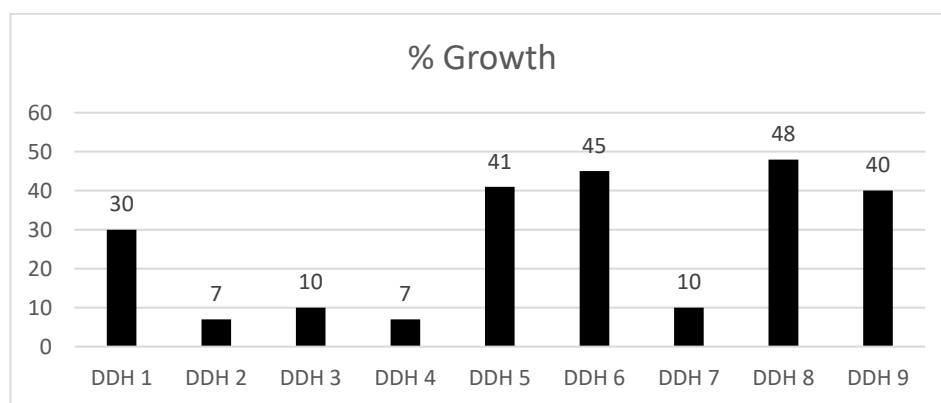
d. Uji Toleransi Asam

Uji toleransi asam dilakukan untuk menentukan kemampuan isolat bakteri asam laktat dari Dadih dalam tumbuh di lingkungan asam. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 2.

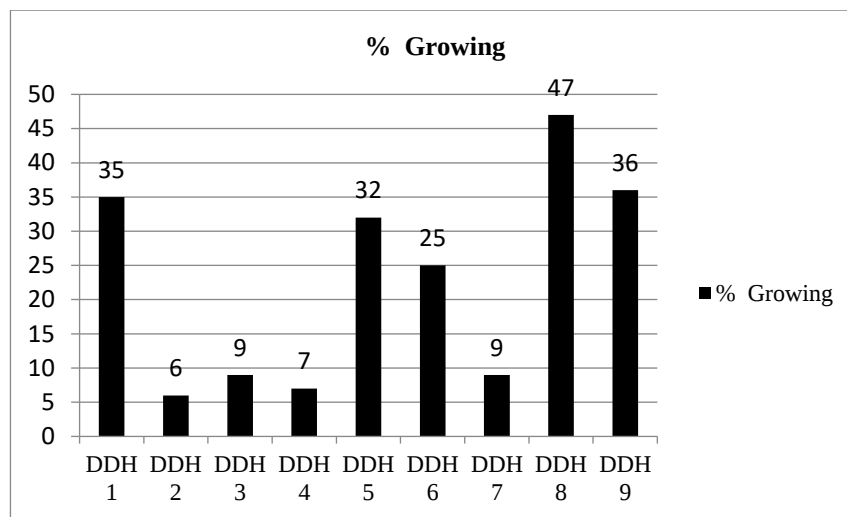
Tabel 2. Data Absorbansi Uji Asam

No	Nama Bakteri	Kontrol Absorbansi	Absorbansi		% pertumbuhan
			Pengulangan 1	Pengulangan 2	
1	DDH 1	2.284	0.243	0.6960	30
2	DDH 2	2.294	0.158	0.1630	7
3	DDH 3	2.306	0.186	0.2250	10
4	DDH 4	2.277	0.259	0.1630	7
5	DDH 5	2.279	0.293	0.9230	41
6	DDH 6	2.305	0.303	1.0360	45
7	DDH 7	2.269	0.286	0.2240	10
8	DDH 8	2.335	0.381	1.1170	48
9	DDH 9	2.751	0.384	0.0980	40

Data penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa LAB dalam Dadih 8 memiliki potensi sebagai probiotik berdasarkan kemampuannya bertahan di lingkungan asam.

**Gambar 3. Presentasi Pertumbuhan Isolasi BAL Dari Dadih Di Lingkungan Asam****e. Uji Garam Empedu**

Dalam penelitian ini, sembilan isolat BAL diuji untuk melihat pertumbuhannya pada medium MRS yang ditambahkan garam empedu.

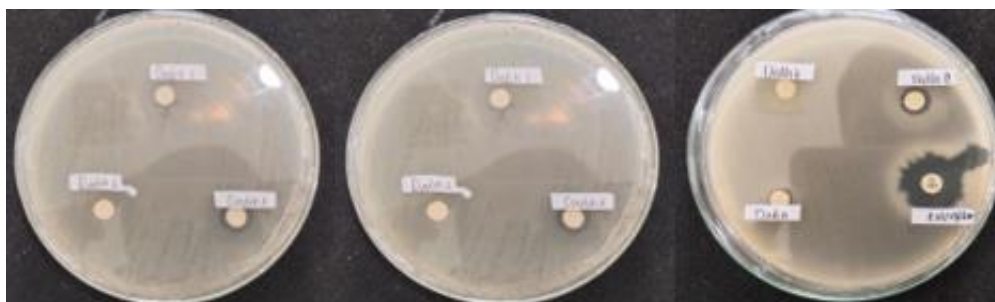
Gambar 4. Toleransi Isolat BAL Dalam MRS Dengan *Bile Salt* (Oxoid)

f. Aktivitas Antibakteri Isolat BAL dari Dadih

Hasil uji antibakteri dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 5.

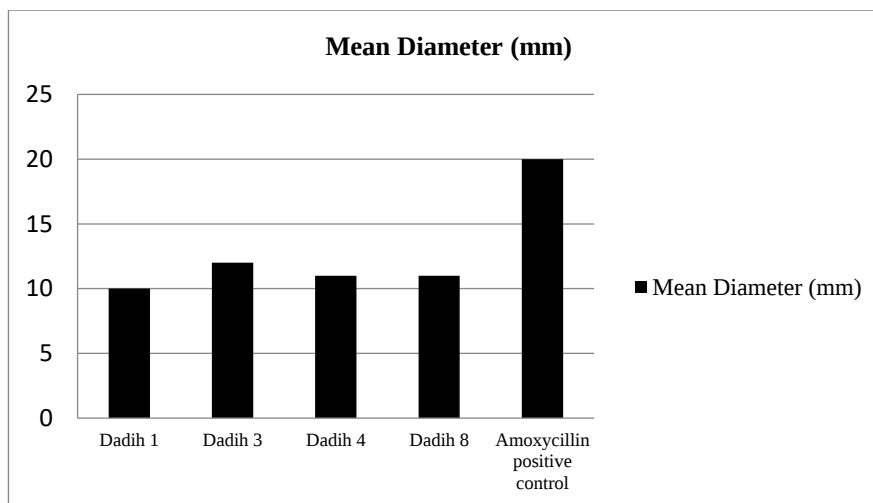
Tabel 3. Hasil uji toleransi aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* bacteria

No	Sampel	Diameter rata-rata (mm)
1	Dadiah 1	9.5
2	Dadiah 3	11.5
3	Dadiah 4	11
4	Dadiah 8	10.5
5	<i>Amoxycillin</i> positive control	20.3



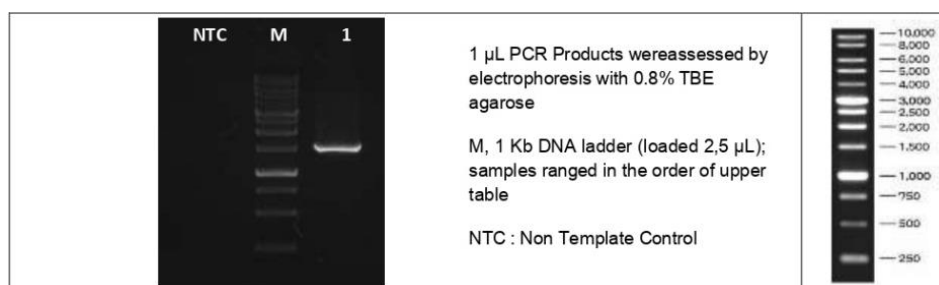
Gambar 5. Hasil uji aktivitas antibakteri

Hasil uji dapat dilihat pada Gambar 6.

Gambar 6. Uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli bacteria*

g. Barcode Spesies Bakteri dan Analisis Filogenetik

Hasil visualisasi elektroforesis gel dari produk PCR dievaluasi menggunakan agarosa 0.8% TBE dengan penanda DNA 1 Kb, sebagaimana ditampilkan dalam Gambar 7.



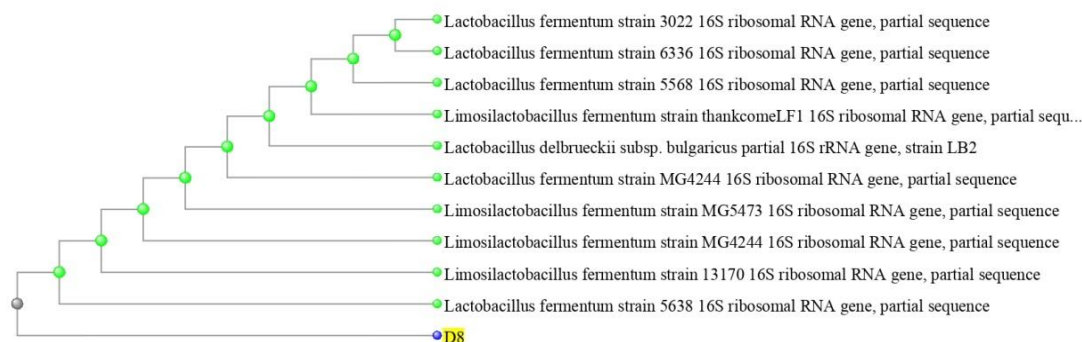
Gambar 7. Visualisasi Hasil Elektroforesis Gel untuk D8

Penelitian ini melibatkan analisis urutan DNA dari isolat DDH 8, dan hasil identifikasinya menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Identifikasi DNA dari Isolat DDH 8

Isolat	Finished Sequences total (BP)	Closely Related Type Strains BASED on 16S rRNA Gene	Presentasi kesamaan (%)	Nomor Akses
Dadiah 8	1478	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain 3022	100%	MT613440.1
	1480	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain 63j36	100%	MT463745.1
	1485	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain 55j68	100%	MT463576.1
	1506	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain thankcomeLF1	100%	MZ045746.1
	1515	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	100%	HE793100.1
	1449	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain MG4244	100%	MN055696.1
	1450	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain MG5473	100%	ON619519.1
	1449	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain MG4244	100%	MW947154.1
	1449	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain 13170	100%	MW449921.1
	1484	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> strain 5638	100%	MT510461.1

Pengukuran diameter zona hambat dari berbagai sampel dadih dilakukan untuk menilai kemampuan antibakterinya, dengan amoksisilin sebagai kontrol positif. Hasil uji antibakteri dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 8. Hasil Analisis Filogenetik Dadih BAL

4. Pembahasan

Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Dadih

Susu fermentasi dadih dikenal sebagai media kaya nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme fermentatif, termasuk Bakteri Asam Laktat (BAL). BAL merupakan komponen penting dalam produksi berbagai produk susu fermentasi, tidak hanya karena perannya dalam fermentasi laktosa menjadi asam laktat yang menghasilkan rasa asam khas, tetapi juga karena sifat probiotiknya yang berkontribusi terhadap kesehatan pencernaan dan sistem imun.

Pengenceran bertingkat yang digunakan dalam penelitian ini merupakan teknik umum dalam mikrobiologi untuk mengisolasi koloni individu mikroorganisme dari campuran yang padat (Gottschal et al., 1992). Pengenceran bertingkat memungkinkan mikrobiolog memperoleh distribusi koloni yang cukup untuk diidentifikasi dan dihitung tanpa tumpang tindih yang berlebihan yang dapat menghambat analisis. Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan koloni yang jelas pada semua tingkat pengenceran (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}), yang mengindikasikan bahwa BAL dalam dadih cukup melimpah untuk diisolasi bahkan pada konsentrasi yang sangat encer.

Koloni yang jernih dapat menunjukkan beberapa hal tentang fisiologi BAL yang diisolasi. Pertama, hal ini dapat menunjukkan jenis metabolit yang diproduksi oleh bakteri. Beberapa BAL menghasilkan eksopolisakarida, yang dapat membentuk koloni dengan tekstur lebih jernih dan mengkilap. Kedua, hal ini juga dapat menunjukkan bahwa bakteri yang diisolasi bersifat homofermentatif, yang secara efisien mengonversi gula menjadi asam laktat tanpa menghasilkan banyak gas atau produk sampingan alkohol yang biasanya menyebabkan koloni tampak lebih transparan (Nicolescu et al., 2023).

Karakteristik Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengidentifikasi BAL yang dikategorikan sebagai bakteri gram-positif. Semua hasil pewarnaan gram menunjukkan reaksi gram-positif. Dengan hasil pewarnaan gram yang konsisten di seluruh sampel, dapat disimpulkan bahwa dadih yang diteliti mengandung bakteri probiotik yang homogen. Hal ini memberikan indikasi awal bahwa dadih mungkin mengandung bakteri dengan daya tahan yang baik melalui saluran pencernaan serta potensi manfaat kesehatan, sesuai dengan definisi probiotik. Namun, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengevaluasi kelangsungan hidup bakteri ini dalam kondisi asam lambung dan konsentrasi garam empedu secara spesifik, serta untuk menguji manfaat kesehatannya pada manusia. Dadih dapat dikonsumsi oleh golongan *lactose intolerance*, selain itu manfaat positifnya adalah dapat mengendalikan dan meningkatkan kesehatan usus serta lebih mudah diserap oleh tubuh (Sugitha, 1997). Dadih mengandung 16 asam amino (13 asam amino esensial dan 3 asam amino nonesensial) dengan gizi tinggi yang mudah diserap oleh pencernaan (Usmiati S & Risfaheri, 2013; Sandi, Bachtiar & Hidayati, 2018). Menurut Pato (2004), selain mengandung protein tinggi (39,8%) dan asam amino esensial, dadih juga mengandung kalsium serta vitamin B dan K yang terbentuk selama proses fermentasi.

Uji Katalase dan Fermentasi

Hasil skrining bakteri asam laktat (BAL) yang diperoleh dari dadih menunjukkan bahwa semua sampel dadih yang diuji memberikan hasil positif pada uji katalase dan bersifat homofermentatif dalam uji fermentasi. Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa semua isolat BAL dari dadih menunjukkan hasil negatif pada uji katalase. Karakterisasi BAL mencakup pemeriksaan isolat bakteri secara makroskopik, mikroskopik, dan fisiologis. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa isolat yang diuji benar-benar termasuk dalam kelompok BAL berdasarkan karakteristiknya. Karakteristik tersebut mencakup bentuk bulat atau batang, bersifat gram-positif, tidak memiliki motilitas, tidak menghasilkan spora, serta menunjukkan hasil negatif pada uji katalase (Marco et al., 2017).

Isolat BAL menunjukkan hasil negatif pada uji katalase, sebagaimana dibuktikan dengan tidak adanya gelembung O_2 . Enzim katalase memiliki peran penting dalam metabolisme bakteri karena kemampuannya menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) (Abidin et al., 2024). Hidrogen peroksida merupakan produk sampingan metabolisme yang dapat memicu stres oksidatif dan merusak sel jika tidak segera dimetabolisme (Kumar et al., 2023). Selain itu, hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa semua isolat BAL dari Dadih bersifat homofermentatif, yang berarti bahwa karbohidrat hanya difermentasi menjadi asam laktat. Fermentasi homolaktat merupakan karakteristik penting yang ditunjukkan oleh banyak bakteri asam laktat yang berperan dalam fermentasi susu (Sharma et al., 2023). Produksi asam laktat berkontribusi terhadap rasa asam dan konsistensi khas dadih, serta berperan penting dalam mencegah pertumbuhan mikroba berbahaya dan memperpanjang umur simpan produk.

Uji Toleransi Asam

Uji toleransi asam dilakukan untuk menentukan kemampuan isolat bakteri asam laktat dari dadih dalam tumbuh di lingkungan asam. Hasil uji menunjukkan kemampuan bakteri asam laktat dari setiap sampel dadih untuk tumbuh di lingkungan dengan pH rendah. Uji ini perlu dilakukan untuk menentukan kemampuan BAL bertahan dalam lingkungan asam, seperti di dalam lambung manusia, yang dapat menghambat atau membunuh banyak jenis bakteri, termasuk probiotik. Gambar 3 menunjukkan bahwa sampel uji DDH 2, 3, dan 4 menunjukkan persentase kelangsungan hidup 48% untuk DDH 8, yang mengindikasikan kemampuan bertahan yang lebih rendah dalam kondisi asam. Sementara itu, Dadih 8 memiliki pertumbuhan tertinggi (48%), yang mungkin menunjukkan bahwa isolat tersebut lebih tahan terhadap kondisi asam dibandingkan isolat lainnya. Perbedaan toleransi asam antar isolat dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti perbedaan genetik antar strain bakteri asam laktat, kondisi fermentasi dadih, atau komposisi nutrisi yang berbeda dalam dadih, yang masing-masing dapat memengaruhi kemampuan bakteri untuk beradaptasi dan tumbuh dalam lingkungan asam.

Bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan tinggi untuk bertahan dalam kondisi asam berpotensi lebih efektif sebagai probiotik (Saeed et al., 2020). Probiotik harus mampu bertahan melewati saluran pencernaan agar dapat memberikan manfaat kesehatan. Toleransi asam yang tinggi yang ditunjukkan oleh sebagian besar sampel dadih dalam penelitian ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa BAL yang diisolasi dari produk susu fermentasi memiliki mekanisme pertahanan yang memungkinkan mereka bertahan dalam kondisi asam (Taye et al., 2021; Widyastuti & Febrisiantosa, 2014; Taufiq & Anindita, 2013). Hal ini dapat dikaitkan dengan produksi buffer metabolik atau sistem pompa proton yang membantu bakteri menjaga homeostasis pH internal (Kajfasz & Quivey, 2011).

Data penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa LAB dalam dadih 8 memiliki potensi sebagai probiotik berdasarkan kemampuannya bertahan di lingkungan asam. Namun, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme pertahanan yang digunakan oleh LAB ini serta menguji efektivitasnya dalam model *in vivo*. Selain itu, penelitian ini dapat diperluas dengan mengevaluasi efek sinergis antar strain bakteri serta potensi efek antagonistik terhadap patogen. Sebagai langkah berikutnya, akan sangat bermanfaat untuk melakukan pengujian lebih lanjut pada berbagai tingkat pH guna memahami titik pH di mana bakteri ini mulai kehilangan viabilitasnya.

Uji Garam Empedu

Uji toleransi garam empedu dilakukan untuk mengamati kemampuan isolat bakteri asam laktat (BAL) dalam tumbuh pada berbagai konsentrasi garam empedu. Pengamatan dilakukan dengan menumbuhkan isolat BAL dari dadih (DDH) pada medium agar MRS (Merck) yang telah ditambahkan garam empedu (Oxoid). Uji toleransi garam empedu dilakukan untuk menilai kemampuan BAL yang diisolasi dari Dadih dalam bertahan dan tumbuh di lingkungan yang mengandung garam empedu (Amraei et al., 2014). Garam empedu merupakan komponen utama empedu manusia dan memiliki fungsi penting dalam proses pencernaan lemak (Maldonado-Valderrama et al., 2011). Bakteri probiotik yang efektif harus mampu bertahan dalam kondisi stres yang disebabkan oleh garam empedu agar dapat bertahan hidup di dalam usus manusia.

Dalam penelitian ini, sembilan isolat BAL diuji untuk melihat pertumbuhannya pada medium MRS yang ditambahkan garam empedu. Pertumbuhan diukur berdasarkan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer. Nilai normal mencerminkan kondisi optimal bakteri tanpa stres garam empedu, sedangkan nilai uji garam empedu menunjukkan respons pertumbuhan bakteri terhadap kondisi stres. Dari data yang diperoleh, setiap pengujian dilakukan dua kali, dan hasilnya dihitung untuk mendapatkan nilai total, rata-rata, serta persentase pertumbuhan. Selain itu, uji toleransi garam empedu dilakukan untuk mengamati kemampuan isolat bakteri asam laktat (BAL) dalam tumbuh pada berbagai konsentrasi garam empedu. Pengamatan dilakukan dengan menumbuhkan isolat BAL dari Dadih (DDH) pada medium agar MRS (Merck) yang telah ditambahkan garam empedu (Oxoid).

Pada isolat DDH 8, diperoleh persentase pertumbuhan sebesar 46,6%, yang menunjukkan toleransi rendah dibandingkan dengan isolat lainnya terhadap garam empedu. Hal ini menunjukkan bahwa "Dadiah 8" memiliki pertumbuhan hidup tertinggi (46,595%), yang mengindikasikan ketahanan lebih baik terhadap keberadaan garam empedu. Garam empedu tidak hanya penting dalam proses emulsi lemak, tetapi juga berperan sebagai penghalang mikroba terhadap patogen dan mikroorganisme non-probiotik (Korc et al., 2018). Garam empedu memiliki kemampuan untuk menyusup dan berinteraksi dengan bagian hidrofobik membran sitoplasma, sehingga menyebabkan kerusakan pada membran sel. Mekanisme ini bertanggung jawab atas penghancuran mikroba komensal dalam tubuh manusia (Sunaryanto et al., 2014).

Oleh karena itu, kemampuan bakteri asam laktat untuk bertahan dari paparan garam empedu merupakan indikator penting dari potensi probiotiknya. Isolat DDH 8 yang menunjukkan toleransi tinggi terhadap garam empedu lebih mungkin bertahan melalui saluran usus kecil karena garam empedu terkonsentrasi secara signifikan. Hasil ini memiliki implikasi penting dalam pemilihan strain bakteri asam laktat yang digunakan dalam produk probiotik. Isolat DDH 8 mungkin menjadi kandidat yang lebih baik untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai suplemen probiotik. Variasi pertumbuhan yang diamati antar isolat dapat disebabkan oleh perbedaan intrinsik dalam spesies BAL atau kondisi fermentasi dadih tempat isolat diperoleh. Bakteri yang memiliki mekanisme pertahanan alami terhadap garam empedu, seperti pompa efluks atau modifikasi lipid membran, cenderung lebih resisten dan mampu mengatasi stres fisiologis yang disebabkan oleh garam empedu (Shulpekova et al., 2022).

Hasil pengujian menunjukkan kemampuan bakteri asam laktat (BAL) dari setiap sampel dadih untuk tumbuh dalam lingkungan pH rendah. Uji ini diperlukan untuk menentukan kemampuan BAL bertahan dalam kondisi asam, seperti yang ditemukan di lambung manusia, yang dapat menghambat atau membunuh banyak jenis bakteri, termasuk probiotik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Dadiah 8 memiliki persentase dekomposisi pertumbuhan terendah (67,923%), yang kemungkinan menunjukkan bahwa isolat ini lebih tahan terhadap kondisi asam dibandingkan dengan isolat lainnya. Uji toleransi garam empedu dilakukan untuk menilai kemampuan bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari dadih dalam bertahan dan tumbuh di lingkungan yang mengandung garam empedu (Amraii et al., 2014). Garam empedu merupakan komponen utama empedu manusia dan berperan penting dalam pencernaan lemak (Maldonado-Valderrama et al., 2011). Bakteri probiotik yang efektif harus mampu bertahan dari kondisi stres yang disebabkan oleh garam empedu agar dapat bertahan hidup di usus manusia.

Dalam penelitian ini, sembilan isolat BAL diuji pertumbuhannya pada medium MRS yang telah ditambahkan garam empedu. Pertumbuhan diukur berdasarkan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer. Nilai normal mencerminkan kondisi optimal bakteri tanpa stres garam empedu, sementara nilai uji garam empedu menunjukkan respons pertumbuhan bakteri terhadap kondisi stres. Setiap pengujian dilakukan dalam dua kali ulangan, dan hasilnya dihitung untuk memperoleh nilai total, rata-rata, serta persentase pertumbuhan. Isolat Dadiah 8 menunjukkan persentase pertumbuhan terendah (67,216%), yang menunjukkan ketahanan lebih baik terhadap garam empedu.

Aktivitas Antibakteri Isolat BAL dari Dadih

Penelitian ini juga menganalisis aktivitas antibakteri dari sampel dadih, yang merupakan produk susu fermentasi dan sering dikaitkan dengan manfaat probiotik. Pengujian ini melibatkan pengukuran diameter zona hambat dari berbagai sampel dadih untuk menilai kemampuan antibakterinya, dengan amoksisilin sebagai kontrol positif. Hasil uji zona hambat menunjukkan bahwa sampel dadih memiliki variasi dalam aktivitas antibakteri. Secara khusus, DDH 3 menunjukkan aktivitas yang paling mendekati kontrol positif, diikuti oleh sampel DDH 8. Hasil uji aktivitas antibakteri ini mengindikasikan bahwa bakteri probiotik dalam dadih juga menghasilkan senyawa yang dapat menghambat bakteri patogen di usus, yang turut berperan dalam memperkuat respons imun tubuh terhadap infeksi. Penggunaan probiotik sebagai alternatif atau terapi pelengkap telah mendapatkan banyak perhatian dalam beberapa tahun terakhir, terutama karena meningkatnya resistensi antibiotik (Aghamohammad & Rohani, 2023). Hasil penelitian ini memberikan bukti awal bahwa dadih mungkin mengandung senyawa yang memiliki potensi manfaat terapeutik, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut. Uji toleransi asam dilakukan untuk menentukan kemampuan isolat Bakteri Asam Laktat dari dadih dalam tumbuh di lingkungan asam (Gambar 6).

Analisis Aktivitas Inhibitor Alpha-Glukosidase oleh Bakteri Asam Laktat dari Dadih

Bakteri asam laktat (BAL) yang dapat tumbuh dengan baik dalam kondisi asam lebih efektif sebagai probiotik karena harus mampu bertahan melewati saluran pencernaan untuk memberikan manfaat kesehatan (Saeed et al., 2013). Berdasarkan uji toleransi garam empedu dan asam, data menunjukkan bahwa isolat DDH 8 memiliki persentase degradasi terendah, yang mengindikasikan bahwa DDH 8 lebih unggul dibandingkan isolat lainnya (10,5%). Oleh karena itu, DDH 8 dipilih untuk uji efektivitas dalam menghambat α -glukosidase.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat DDH 8 mampu menghambat aktivitas α -glukosidase sebesar 27,5%. Campuran dengan kode A0, A1, AI0, dan AI1 didefinisikan sebagai berikut:

- A0: *Buffer* kaldu MRS pH 7 dan substrat
- A1: *Buffer* kaldu MRS pH 7, enzim, dan substrat
- AI0: *Buffer* supernatan pH 7 dan substrat
- AI1: *Buffer* supernatan pH 7, enzim, dan substrat

Persentase inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{Inhibition} = \frac{(\text{abs A1} - \text{abs A0}) - (\text{abs AI1} - \text{abs AI0})}{(\text{abs A1} - \text{abs A0})} \times 100\%$$

- a. Uji Alpha-Glukosidase Inhibisi (kontrol positif)
 - % inhibisi = $(0011-0000) - (0001-0000) / (0011-0000) \times 100\%$
 - % inhibisi = 91%
- b. Uji Alpha-Glukosidase inhibisi dengan BAL dari Dadih 8
 - % Inhibisi (P-1) = $(0066-0000) - (0103-0021) / (0066-0000) \times 100\%$
 - % Inhibisi (P-1) = 24%
 - % Inhibisi (P-2) = $(0041-0000) - (0065-0011) / (0041-0000) \times 100\%$
 - % Inhibisi (P-2) = 31%
 - Rata-rata: $(24\% + 31\%) / 2 = 27.5\%$

Data menunjukkan adanya penurunan nilai absorbansi ketika isolat DDH 8 ditambahkan ke dalam enzim α -glukosidase. Inhibisi yang dihasilkan adalah 27.5%. Sebagai perbandingan, akarbosa, yang merupakan inhibitor standar, menunjukkan tingkat inhibisi sebesar 91%, sehingga mengonfirmasi validitas metode uji yang digunakan. Nilai inhibisi untuk DDH 8 adalah 24% untuk P-1 dan 31% untuk P-2, dengan rata-rata inhibisi atau penghambatan aktivitas α -glukosidase sebesar 27.5%. Uji inhibisi terhadap dadih susu kerbau secara khusus belum ditemukan di penelitian lain, tetapi pada penelitian produk susu probiotik komersil hasilnya serupa yaitu 27,5% (Dea et al., 2022). Namun dalam penelitian ini, dadih diambil karena masih kurangnya penelitian mengenai dadih dalam penghambatan aktivitas α -glukosidase.

Barcode Spesies Bakteri dan Analisis Filogenetik

Penelitian ini melakukan ekstraksi DNA genom menggunakan *Quick-DNA Plus Kit* dari Zymo Research (D4081), diikuti dengan amplifikasi PCR menggunakan *MyTaq HS Red Mix (2x)* dari Bioline (BIO-25048) dan penentuan urutan DNA secara *bidirectional sequencing*. Hasil analisis menunjukkan bahwa sampel D8 memiliki:

- Konsentrasi DNA: 35.4 ng/ μ l
- Rasio A260/280: 2.05 (mengindikasikan kemurnian DNA yang baik)
- Rasio A260/230: 0.06 (mengindikasikan kemungkinan kontaminasi oleh polisakarida atau protein)
- Volume sampel: 35 μ l

Selain itu, hasil visualisasi elektroforesis gel dari produk PCR dievaluasi menggunakan agarosa 0.8% TBE dengan penanda DNA 1 Kb. Analisis filogenetik mengkategorikan organisme ke dalam kelompok taksonomi berdasarkan sejarah evolusionernya, yang ditentukan melalui analisis urutan DNA. Gen 16S rRNA sering digunakan sebagai penanda dalam identifikasi hewan. Gen ini membantu menentukan hubungan antarorganisme melalui konstruksi pohon filogenetik, yang menunjukkan keragaman tersembunyi yang tinggi. Penelitian ini melibatkan analisis urutan DNA dari isolat DDH 8, dan hasil identifikasinya menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Hasil analisis BLAST menunjukkan bahwa urutan gen 16S rRNA dari isolat LAB DDH 8 memiliki kesamaan 100% dengan beberapa strain *Limosilactobacillus fermentum* dan satu strain *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. Kesamaan ini diukur berdasarkan persentase kesamaan urutan gen 16S rRNA, yang merupakan penanda umum dalam studi filogenetik pada bakteri. Nilai homologi urutan sebesar $\geq 97\%$ berkorelasi dengan kesamaan hibridisasi sebesar 70%, yang merupakan nilai minimum untuk menyatakan bahwa dua bakteri termasuk dalam spesies yang sama (Madigan & Martinko, 2012).

Isolat DDH 8 cocok dengan beberapa strain *Limosilactobacillus fermentum*, termasuk strain 3022, 6336, 5568, thankcomeLF1, MG4244 (dua entri dengan nomor akses berbeda), MG5473, dan 13170, serta beberapa strain *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, yang semuanya menunjukkan kesamaan 100%, mengonfirmasi keakuratan identifikasi dan tingkat homogenitas tinggi antara isolat ini dengan strain yang telah terdaftar. Urutan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari hasil sekuensing gen 16S rRNA dari isolat

BAL yang berasal dari dadih. Urutan gen 16S rRNA dari isolat BAL dianalisis untuk membangun pohon filogenetik yang menunjukkan hubungan kekerabatan antara organisme dalam penelitian ini dengan organisme pembanding lainnya.

Tahapan analisis filogenetik dimulai dengan penyelarasan urutan DNA menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* versi 6 (MEGA6) untuk konstruksi pohon filogenetik. Versi 6 dari perangkat lunak MEGA dilengkapi dengan algoritma *subtree-pruning-and-regrafting* (SPR) untuk mencari pohon secara optimal berdasarkan kriteria *Maximum Parsimony* dan *Maximum Likelihood* (Taufiq & Anindita, 2013). Penelitian ini juga menganalisis aktivitas antibakteri dari sampel dadih, yang merupakan produk susu fermentasi dan sering dikaitkan dengan manfaat probiotik. Pengukuran diameter zona hambat dari berbagai sampel dadih dilakukan untuk menilai kemampuan antibakterinya, dengan amoksisilin sebagai kontrol positif.

Penelitian ini melakukan analisis filogenetik untuk mengevaluasi hubungan kekerabatan antara berbagai strain dari genus *Lactobacillus*, khususnya *Lactobacillus fermentum*. Analisis filogenetik dapat memberikan wawasan lebih lanjut mengenai kedekatan antar bakteri. Pohon filogenetik diilustrasikan dalam skala dengan panjang cabang dalam satuan yang sama untuk menunjukkan hubungan kekerabatan [36]. Pohon filogenetik pada Gambar 8 menunjuk kan berbagai strain *Lactobacillus fermentum* dan hubungannya dengan strain lain serta sampel yang disebut sebagai D8. Pohon ini secara efektif menggambarkan bagaimana strain-strain tersebut berhubungan dalam evolusi genetik berdasarkan urutan gen 16S rRNA. Dalam kasus ini, sampel D8 menunjukkan hubungan yang sangat dekat dengan strain *Lactobacillus fermentum* 5638, di mana kedua sampel terhubung langsung dalam pohon filogenetik. Studi lain juga menunjukkan bahwa *Lactobacillus fermentum* merupakan spesies yang ditemukan dalam produk susu fermentasi. Saeed et al. (2020) mengidentifikasi *Lactobacillus fermentum* dalam produk susu kambing, temuan yang juga diamati oleh Mo et al. (2019), yang mengidentifikasi berbagai produk susu fermentasi di Xinjiang, China, dan menemukan bahwa mayoritas kandungan BAL dalam produk tersebut adalah *Lactobacillus fermentum*.

5. Kesimpulan

Isolat bakteri asam laktat (BAL), yang diidentifikasi sebagai *Lactobacillus fermentum* melalui identifikasi fenotipik dan molekuler berdasarkan gen 16S rRNA, menunjukkan potensi sebagai probiotik yang dapat menghambat aktivitas α -glukosidase. BAL dari dadih bersifat gram-positif, berwarna merah, dan berbentuk batang, serta hasil skrining menunjukkan bahwa isolat ini bersifat katalase-negatif dan homofermentatif. Isolat DDH 8 dapat bertahan pada pH serendah 2 dan toleran terhadap konsentrasi garam empedu hingga 0,5% (w/v). Selain itu, isolat ini dapat menghambat bakteri berbahaya seperti *Escherichia coli* dalam sistem pencernaan. Persentase inhibisi alfa-glukosidase oleh DDH 8 sebesar 27,5%, menunjukkan potensinya dalam mendukung kesehatan pencernaan. Penelitian lebih lanjut, termasuk analisis komponen kimia dadih, studi in vivo, dan uji klinis, diperlukan untuk lebih memahami potensi dan keterbatasan penggunaan dadih sebagai alternatif antibakteri.

6. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, atas fasilitas teknis yang telah disediakan.

7. Daftar Pustaka

- Abidin, Z., La Mudi, R., Hidayat, N., Mentari, S. D., Daryono, D., & Prima, D. 2024. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Rice Washing Water Waste. *International Journal of Science, Technology & Management*, 5(1), 184-191. DOI: <https://doi.org/10.46729/ijstm.v5i1.1031>
- Aghamohammad, S., & Rohani, M. 2023. Antibiotic resistance and the alternatives to conventional antibiotics: The role of probiotics and microbiota in combating antimicrobial resistance. *Microbiological Research*, 267, 127275. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127275>
- Amraii, H. N., Abtahi, H., Jafari, P., Mohajerani, H. R., Fakhroleslam, M. R., & Akbari, N. 2014. In vitro study of potentially probiotic lactic acid bacteria strains isolated from traditional dairy products. *Jundishapur journal of microbiology*, 7(6). Doi: <https://10.5812/jjm.10168>
- Amraii, H. N., Abtahi, H., Jafari, P., Mohajerani, H. R., Fakhroleslam, M. R., & Akbari, N. (2014). In vitro study of potentially probiotic lactic acid bacteria strains isolated from traditional dairy products. *Jundishapur journal of microbiology*, 7(6).
- Bajpai VK, Han JH, Nam GJ, Majumder R, Park C, Lim J, Paek WK, Rather IA, Park YH. 2016. Characterization and pharmacological potential of *Lactobacillus sakai* 111 isolated from fresh water fish *Zacco koreanus*. *J Pharm Sci* 24:1-12. DOI: <https://10.1186/s4019901601478>
- Bosch, G., Zhang, S., Oonincx, D. G., & Hendriks, W. H. 2014. Protein quality of insects as potential ingredients for dog and cat foods. *Journal of nutritional science*, 3, e29. DOI: <https://doi.org/10.1017/jns.2014.23>
- Cornell, S. 2017. Comparison of the diabetes guidelines from the ADA/EASD and the AACE/ACE. *Journal of the American Pharmacists Association*, 57(2), 261-265. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.japh.2016.11.0055>

- Dea Christa Amanda, Calvin Christian Karo Karo, Edy Fachrial, Aktivitas Inhibisi Glukosidase *Lactobacillus Casei*, Jurnal Pendidikan dan Konseling, DOI: <https://doi.org/10.31004/jpdk.v4i6.9265>
- Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., & Mofid, V. 2012. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*, 28(5), 539-543. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.08.013>
- Emmawati, A., Laksmi, B. S., Nuraida, L., & Syah, D. 2015. Karakterisasi isolat bakteri asam laktat dari mandai yang berpotensi sebagai probiotik. *Agritech*, 35(2), 146-155. DOI: <https://doi.org/10.22146/agritech.9400>
- Fachrial, E., Anggraini, S., & Nugroho, T. T. 2023. Inhibitor α -glucosidase activity of *Pediococcus acidilactici* DNH16 isolated from Dali ni Horbo, a traditional food from North Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas: Journal of Biological Diversity*, 24(2). DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240235>
- Fachrial, E., Lina, J., Harmileni, H., Anggraini, S., & Sihotang, W. Y. 2024. Hypoglycemic Activity and Safety Assessment of *Pediococcus acidilactici* Strain DNH16 in Experimental Type 2 Diabetes Melitus Rats Induced with Streptozotocin. *The Indonesian Biomedical Journal*, 16(1), 31-9. DOI: <https://doi.org/10.18585/inabj.v16i1.2781>
- Farida, E., Jenie, B. S. L., Nuraida, L., & Giriwono, P. E. 2019. Aktivitas antioksidan dan penghambatan α -glukosidase oleh ekstrak etanol bakteri asam laktat indigenus. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 30(1), 56-63. DOI: <https://doi.org/10.6066/jtip.2019.30.1.56>
- Fatimah, R. N. 2015. Diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Majority*, 4(5), 93-101.
- Ginting, c. N., piska, f., harmileni, h., & fachrial, e. 2023. Molecular identification of thermophilic bacteria with antimicrobial activity isolated from hot springs in North Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(2). DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240210>
- Gomes, A. C., Bueno, A. A., de Souza, R. G. M., & Mota, J. F. 2014. Gut microbiota, probiotics and diabetes. *Nutrition journal*, 13, 1-13.
- Gottschal, J. C., Harder, W., & Prins, R. A. 1992. Principles of enrichment, isolation, cultivation, and preservation of bacteria. *Prokaryotes*, 1, 149-196.
- Haezah Fardillah, Firshty Febrianti, Yurma Metri, 2024. Tinjauan Kandungan Gizi dan Keunggulan Dadih Sebagai Alternatif Makanan Berkhasiat Tinggi. *Jurnal di Bidang Teknologi Peternakan*. DOI: <https://doi.org/10.36355/sptr.v6i1.1281>
- Hedrington, M. S., & Davis, S. N. 2019. Considerations when using alpha-glucosidase inhibitors in the treatment of type 2 diabetes. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 20(18), 2229-2235. DOI: <https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1672660>
- Kajfasz, J. K., & Quivey Jr, R. G. (2011). *Responses of lactic acid bacteria to acid stress. In Stress responses of lactic acid bacteria*. Boston, MA: Springer US.
- Kemenkes, R. I. 2020. Infodatin 2020 Diabetes Melitus Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. P2PTM Kemenkes RI.
- Korcz, E., Kerényi, Z., & Varga, L. (2018). Dietary fibers, prebiotics, and exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: Potential health benefits with special regard to cholesterol-lowering effects. *Food & function*, 9(6), 3057-3068.
- Kumar, H., Dhalaria, R., Guleria, S., Cimler, R., Sharma, R., Siddiqui, S. A., & Kuča, K. 2023. The anti-oxidant potential of plants and probiotic spp. in alleviating oxidative stress induced by H₂O₂. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 165, 115022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115022>
- Kusmiati, M., Herdiansyah, K. D., & Nuraeni, S. 2015. Gambaran kadar glukosa dan kolesterol total pada penderita obesitas sebelum dan sesudah mengonsumsi minuman probiotik. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 14(1), 52-55. DOI: <http://dx.doi.org/10.36465/jkbth.v14i1.128>
- Madigan, M. T., & Martinko., J. M., 2012. *Brock Biology of Microorganisms*. United States of America: Pearson Education International.
- Maldonado-Valderrama, J., Wilde, P., Macierzanka, A., & Mackie, A. 2011. The role of bile salts in digestion. *Advances in colloid and interface science*, 165(1), 36-46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.12.002>
- Maldonado-Valderrama, J., Wilde, P., Macierzanka, A., & Mackie, A. (2011). The role of bile salts in digestion. *Advances in colloid and interface science*, 165(1), 36-46.
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., ... & Hutkins, R. 2017. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current opinion in biotechnology*, 44, 94-102. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>
- Marianne, M., Lestari, D., Sukandar, E. Y., Kurniati, N. F., & Nasution, R. 2014. Antidiabetic activity of leaves ethanol extract *Chromolaena odorata* (L.) RM King on induced male mice with alloxan monohydrate. *Jurnal natural*, 14(1).
- Mo, L., Jin, H., Pan, L., Hou, Q., Li, C., Darima, I., ... & Yu, J. 2019. Biodiversity of lactic acid bacteria isolated from fermented milk products in Xinjiang, China. *Food Biotechnology*, 33(2), 174-192. DOI:

- <https://doi.org/10.1080/08905436.2019.1574230>
- Nicolescu, C. M., Bumbac, M., Buruleanu, C. L., Popescu, E. C., Stanescu, S. G., Georgescu, A. A., & Toma, S. M. 2023. Biopolymers produced by lactic acid Bacteria: characterization and food application. *Polymers*, 15(6), 1539. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym15061539>
- Novitasari, D., Ariqoh, D. N., Adriani, P., & Kurniasih, N. A. 2022. Manajemen Hiperglikemia Untuk Mengatasi Masalah Risiko Ketidakstabilan Kadar Glukosa Darah Penderita DMT2. *Jurnal Altifani Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat*, 2(4), 378-386. DOI: <https://doi.org/10.25008/altifani.v2i4.264>
- Nur, F., Hafsan, H., & Wahdinari, A. 2015. Isolasi bakteri asam laktat berpotensi probiotik pada dangke, makanan tradisional dari susu kerbau di Curio Kabupaten Enrekang. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 3(1), 60.
- Putra, A.A., Y. Marlida, Khasrad, S.Y.D. Azhike, dan R. Wulandari. 2011. Perkembangan dan usaha pengembangan dadih: sebuah review tentang susu fermentasi minangkabau. *Jurnal Peternakan Indonesia* 13 (3): 159- 169
- Putra, I. W. A., & Berawi, K. N. 2015. Empat pilar penatalaksanaan pasien diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Majority*, 4(9), 8-12.
- Rahman, S. M. K. 2015. Probiotic properties analysis of isolated lactic acid bacteria from buffalo milk. *Arch Clin Microbiol*, 7(1), 5-10.
- Riastawaty, D., Girsang, E., Fachrial, E., Ginting, C. N., Piska, F., & Nasution, A. N. 2023. The Activity of α -glucosidase Inhibition of *Pediococcus Acidilactici* BAMA 4 Isolated from “Naniura” Traditional Foods from North Sumatera, Indonesia. *The Open Biochemistry Journal*, 17(1). DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/1874091X-v17-230921-2023-2>
- Ruan, Y., Sun, J., He, J., Chen, F., Chen, R., & Chen, H. 2015. Effect of probiotics on glycemic control: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *PloS one*, 10(7), e0132121. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132121>
- Saeed, Z. K., Abbas, B. A., & Othman, R. M. (2020). Molecular identification and phylogenetic analysis of lactic acid bacteria isolated from goat raw milk. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 34(2), 259-263.
- Saeed, Z. K., Abbas, B. A., & Othman, R. M. 2020. Molecular identification and phylogenetic analysis of lactic acid bacteria isolated from goat raw milk. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 34(2), 259-263.
- Sandi IM, Bachtiar H, Hidayati H. Perbandingan Efektivitas Daya Hambat Dadih Dengan Yogurt Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutan*. B-Dent, J Kedokt Gigi Univ Baiturrahmah. 2018;2(2):88-94.
- Sari, N., & Purnama, A. 2019. Aktivitas Fisik dan Hubungannya dengan Kejadian Diabetes Melitus. *Window of Health: Jurnal Kesehatan*, 368-381. DOI: <https://doi.org/10.33096/woh.v2i4.621>
- Sharma, H., Ozogul, F., Bartkiene, E., & Rocha, J. M. 2023. Impact of lactic acid bacteria and their metabolites on the techno-functional properties and health benefits of fermented dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(21), 4819-4841. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2007844>
- Shulpekova, Y., Shirokova, E., Zharkova, M., Tkachenko, P., Tikhonov, I., Stepanov, A., ... & Ivashkin, V. (2022). A recent ten-year perspective: Bile acid metabolism and signaling. *Molecules*, 27(6), 1983.
- Sugitha IM. Rekayasa dadih dengan starter *Streptococcus lactis* dan *Lactobacillus acidophilus* untuk mencegah kanker dan mengurangi kolesterol darah. 1997 [cited 2023 Apr 2]; Available from: <https://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=US2013.00065724>
- Sunaryanto, R., Martius, E., & Marwoto, B. (2014). Uji kemampuan *Lactobacillus casei* sebagai agensia probiotik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 1(1), 9-14.
- Syukur, S., Hermansyah, A., & Fachrial, E. 2016. Probiotics and strong antimicrobial of buffalo milk fermentation (Dadiah) from different places in West Sumatera Indonesia. *Research Journal Of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 7(6), 386-392.
- Taufiq, T. T., & Anindita, N. S. (2013). Fermented goat milk and cow milk produced by different starters of lactic acid bacteria: Quality studies. *Journal of Agricultural Science and Technology. A*, 3(11A), 904.
- Taufiq, T. T., & Anindita, N. S. 2013. Fermented goat milk and cow milk produced by different starters of lactic acid bacteria: Quality studies. *Journal of Agricultural Science and Technology. A*, 3(11A), 904.
- Taye, Y., Degu, T., Fesseha, H., & Mathewos, M. (2021). Isolation and identification of lactic acid bacteria from cow milk and milk products. *The Scientific World Journal*, 2021(1), 4697445.
- Thomas, E. L., Fitzpatrick, J. A., Malik, S. J., Taylor-Robinson, S. D., & Bell, J. D. 2013. Whole body fat: content and distribution. *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy*, 73, 56-80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2013.04.001>
- Usmiati S, Risfaheri. Pengembangan Dadih Sebagai Pangan Fungsional Probiotik Asli Sumatera Barat. *J Litbang Pert.* 2013;32(1):20-9.
- Widiasari, K. R., Wijaya, I. M. K., & Suputra, P. A. 2021. Diabetes Melitus Tipe 2: Faktor Risiko, Diagnosis, Dan Tatalaksana. *Ganesha Medicina*, 1(2), 114-120. DOI: <https://doi.org/10.23887/gm.v1i2.40006>
- Widyastuti, Y., & Febrisiantosa, A. (2014). The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. *Food and Nutrition Sciences*, 2014.