



Karakterisasi dan identifikasi khamir proteolitik dari *belacan depik*, pasta ikan fermentasi khas Gayo

Eva Murlida¹, Cut Nilda^{1,2}, Heru Prono Widayat¹, Murna Muzaifa^{1,2*}

¹Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

²Pusat Riset Halal, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

Article history

Diterima:

12 Mei 2023

Diperbaiki:

17 Juli 2023

Disetujui:

24 Juli 2023

Keyword

Depik fish;

Gayo;

Proteolytic;

Rasbora tawarensis;

Yeast

ABSTRACT

Belacan depik is one of Gayo's fermented fish products, which is still rarely studied scientifically. This product is a fermented fish paste made from depik fish (Rasbora Tawarensis). Scientific studies regarding the yeast involved in the fermentation of depik fish have never been reported. This study aims to characterize and identify yeasts that have proteolytic activity. This study was designed as an exploratory laboratory study, beginning with the isolation and characterization of the yeast from belacan depik and identification molecularly. The three pure isolates Y1, Y2 and Y3 that were successfully isolated had various morphological and biochemical characteristics. Only Y2 isolate has proteolytic activity. The results of molecular recognition showed that isolate B1 was identified as Rhodotorula mucilaginosa strain IMUFRJ 52392 with 100% homology and query cover. The identification of Rhodotorula in belacan depik products indicates a certain role during fermentation. Further studies are needed regarding its role during fermentation and its potential as a biological agent in improving the quality of belacan depik.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespondensi

Email : murnamuzaifa@usk.ac.i

DOI 10.21107/agrointek.v18i2.20022

PENDAHULUAN

Fermentasi adalah salah satu metode pengawetan tradisional yang banyak digunakan untuk meningkatkan keamanan pangan, umur simpan, nutrisi dan atribut organoleptik makanan. Ikan merupakan salah satu bahan pangan yang sering diawetkan dengan fermentasi, disamping diawetkan dengan pengeringan dan pengasinan. Pengawetan ikan dengan fermentasi telah lama berkembang di berbagai belahan dunia dan merupakan bagian integral dari suatu budaya (Ngasotter *et al.* 2020).

Produk ikan fermentasi sangat umum ditemukan di negara-negara Asia. Berdasarkan bahan baku yang digunakan, jenis ikan fermentasi dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu produk fermentasi ikan air tawar dan ikan laut atau kerang. Biasanya, produk ikan fermentasi ini merupakan produk asin akibat adanya penambahan garam dengan konsentrasi yang bervariasi (Narzary *et al.* 2021).

Salah satu produk fermentasi ikan air tawar yang ada di Indonesia adalah *belacan depik*. Produk ini berbahan baku ikan air tawar *Rasbora tawarensis*, yang oleh masyarakat Gayo (salah satu kelompok suku di Aceh yang mendiami Dataran Tinggi Gayo) disebut dengan ikan *depik*. Ikan depik yang digunakan dalam pembuatan belacan adalah ikan depik yang sudah dikeringkan kemudian difermentasi dengan penambahan sejumlah bahan-bahan tertentu seperti rempah dan garam. Ikan depik termasuk kelompok ikan kecil, berukuran seperti telunjuk dengan panjang maksimal 120 mm. Ikan ini merupakan endemik khas Danau Laut Tawar yang terletak di kabupaten Aceh Tengah (Rahmi *et al.* 2021). Pada Gambar 1 dapat dilihat transformasi ikan depik segar menjadi ikan depik kering dan *belacan depik*.



Gambar 1 *Rasbora tawarensis* dan produk olahannya (Rahmi *et al.* 2021)

Sekilas dari teksturnya, *belacan depik* mirip dengan terasi berupa pasta, namun memiliki warna dan aroma yang lebih spesifik akibat adanya penggunaan rempah yang sangat kompleks dalam pembuatannya. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan *belacan depik* ini adalah ikan depik kering, lengkuas, kunyit, daun jeruk purut, garam dan sejumlah kecil rempah lainnya (Muzaifa, 2015; Rahmi *et al.*, 2021). Selama proses fermentasi *belacan depik*, diduga terjadi sejumlah perubahan komponen kimia yang berperan dalam pembentukan aroma dan citarasa belacan depik yang khas. Hal ini sebagaimana produk fermentasi lainnya tentu saja melibatkan sejumlah mikroorganisme tertentu.

Informasi ilmiah mengenai mikroorganisme yang terlibat dalam fermentasi *belacan depik* masih sangat terbatas. Sejauh ini identifikasi yang telah berhasil dilakukan baru sebatas pada identifikasi bakteri asam laktat (BAL) proteolitik yaitu *Enterococcus faecium* (Rahmi *et al.* 2021) dan bakteri proteolitik non-BAL, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus hominis* (Murlida *et al.* 2020). Pada makanan fermentasi tradisional, fermentasi spontan sering melibatkan interaksi antar kelompok mikroorganisme, seperti bakteri-bakteri, khamir-khamir, dan khamir-bakteri. Interaksi ini menciptakan sekelompok mikroorganisme heterogen yang bekerja secara sinergis, menghasilkan dampak yang signifikan terhadap rasa, tekstur dan bau produk akhir (Aidoo *et al.* 2006, Johansen *et al.* 2019).

Terdapat dua kelompok utama mikroorganisme yang berperan penting dalam menghasilkan karakter khas ikan fermentasi yaitu BAL dan khamir (Steinkraus 2022). Belum ada laporan ilmiah mengenai khamir yang terdapat pada fermentasi belacan depik. BAL dan khamir telah diketahui berperan utama dalam fermentasi makanan dengan bekerja sama untuk membentuk mikrobiota yang kompleks. Selama ini BAL lebih populer sebagai mikroorganisme utama dalam fermentasi makanan karena menghasilkan banyak zat seperti asam organik, senyawa aromatik, dan peptida yang tidak hanya untuk mendorong proses fermentasi tetapi juga untuk menghambat pertumbuhan organisme yang tidak diinginkan. Hanya sedikit laporan penelitian tentang spesies khamir yang dominan dalam jenis makanan fermentasi ini. Khamir dominan yang umumnya terdapat pada makanan fermentasi (ikan dan daging) adalah dari genus *Candida*, *Saccharomyces*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces*,

Debaryomyces dan *Hanseniaspora* (Kuncharoen *et al.* 2020). Khamir yang mampu memecah protein (memiliki aktivitas proteolitik) diduga berperan penting dalam fermentasi *belacan depik*. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi dan identifikasi khamir proteolitik asal belacan depik.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah *belacan depik*, diperoleh dari salah satu produsen di Kabupaten Aceh Tengah. Bahan yang digunakan untuk analisis mikroorganisme adalah media tumbuh *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), pepton, susu skim, dan akuades. Peralatan yang digunakan adalah sejumlah peralatan gelas seperti cawan petri, gelas ukur, erlenmeyer, dan pipet tetes. Peralatan lainnya adalah timbangan analitik, *vortex*, autoklaf, inkubator, *oven*, *laminar air flow colony counter* dan desikator.

Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Industri dan Laboratorium Analisis Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yaitu isolasi dan karakterisasi khamir dari *belacan depik*, skrining khamir proteolitik dan identifikasi khamir proteolitik secara molekuler. Secara skematis tahapan penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Tahapan penelitian

Prosedur kerja dari setiap tahapan tersebut dapat diuraikan sebagai berikut:

Isolasi dan karakterisasi khamir

Sebanyak 2 g sampel (*belacan depik*) ditimbang, disuspensikan kedalam larutan pepton dan dikocok. Suspensi ini diambil sebanyak 1 mL dan dikultivasi kedalam cawan petri dengan metode *pour plate* menggunakan media DSA. Diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C dan diamati karakteristik koloni yang muncul. Koloni tunggal dengan karakteristik yang berbeda diisolasi lanjut untuk memperoleh isolat yang benar-benar murni dengan cara *streaking* ke cawan petri lainnya dengan media yang sama. Isolat murni yang diperoleh diamati secara makroskopis meliputi morfologi koloni (warna, bentuk, elevasi, margin dan ukuran) dan secara mikroskopis terhadap bentuk selnya. Isolat juga diuji lanjut kemampuannya untuk tumbuh pada sumber karbon (karbohidrat) yang berbeda (Bell *et al.* 2005).

Skrining khamir proteolitik

Kemampuan khamir dalam mendegradasi protein diuji dengan cara menginokulasikan biakan khamir ke dalam media agar 2% w/v yang mengandung 1% susu skim. Diinkubasi selama 24-48 jam dan diamati ada tidaknya zona jernih yang terbentuk (Nespolo and Brandelli 2010).

Identifikasi khamir proteolitik secara molekuler

Identifikasi khamir dilakukan dengan identifikasi gen 18S rRNA, dengan tahapan meliputi isolasi DNA isolat murni khamir, amplifikasi DNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR), elektroforesis gel agarosa hasil PCR, sekuensing gen 18S rRNA dan konstruksi pohon filogenetik.

Pada penelitian ini untuk isolasi dan amplifikasi DNA dilakukan secara bersamaan menggunakan *kit direct PCR* (KOD FX Neo, Toyobo) mengikuti protokol perusahaan tersebut. Mesin PCR yang digunakan adalah personal *mastercycler* merek Eppendorf dengan menggunakan *Universal Primer F*: ITS-1 (F)/Sequence: TCC GTA GGT GAA CCT GCG dan *Primer R*: ITS-4/Sequence: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC. Produk PCR dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk dilakukan sekuensing. Data hasil sekuensing kemudian diedit menggunakan program MEGA 7 dan dianalisis menggunakan *software Basic Local Alignment Search Tool* (BLASTN) dengan

referensi dari *Gen Bank National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Prosedur ini digunakan untuk menentukan spesies *yeast* yang memiliki homologi terbesar dan paling dekat secara molekuler.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Morfologis dan Biokimia

Berdasarkan hasil isolasi, diperoleh tiga jenis koloni yang berbeda sehingga ketiga jenis koloni inilah yang dimurnikan yaitu isolat Y1, Y2 dan Y3 (Tabel 1).

Koloni ketiga isolat khamir (Y1, Y2, Y3) memiliki bentuk dan margin yang sama yaitu bulat dan *entire* serta bentuk sel oval (*ovoid*). Warna ketiga isolat bervariasi yaitu krem, oranye dan putih. Koloni berukuran kecil hingga sedang dengan elevasi koloni *flat* hingga *raised*. Dengan adanya perbedaan ini diawal dapat diduga bahwa ketiga khamir ini merupakan jenis yang berbeda. Perbedaan ini dapat terjadi karena adanya ekspresi gen diferensial (Collection 2015).

Christopher and Bruno (2003) menyebutkan bahwa koloni berasal dari sel tunggal yang

berkembang dan berkembang biak dalam jumlah hingga jutaan sel. Masing-masing koloni memiliki tampilan yang dapat berbeda dalam hal bentuk, ukuran, warna, margin dan tekstur. Sehingga jika suatu koloni ditumbuhkan pada media sejenis dan menunjukkan perbedaan tampilan maka dapat diduga mikroorganisme tersebut berbeda spesies. Namun demikian karena banyaknya jenis spesies yang mempunyai kemiripan morfologi, maka uji ini harus dikonfirmasi lanjut dengan uji lainnya.

Tabel 1 lebih lanjut menunjukkan hasil uji pertumbuhan isolat khamir pada sumber karbon yang berbeda. Seluruh isolat mampu menggunakan glukosa, namun bervariasi pada penggunaan laktosa dan sukrosa. Ceapa (2015) menyebutkan bahwa karbohidrat dibutuhkan sebagai sumber energi utama untuk pertumbuhan mikroorganisme tetapi kemampuan setiap mikroorganisme dalam memanfaatkan karbohidrat berbeda-beda. Ada yang mampu memecah karbohidrat tertentu namun tidak dapat memecah karbohidrat jenis lainnya sehingga kemampuan menggunakan karbohidrat tertentu dapat dijadikan dasar dalam menentukan jenis mikroorganismenya.

Tabel 1 Karakteristik morfologi koloni dan sel khamir

Karakteristik Morfologi	Isolat		
	Y1	Y2	Y3
Bentuk:			
- Koloni	bulat	bulat	bulat
- Sel	oval	oval	oval
Warna koloni	krem	oranye	putih
Ukuran koloni	kecil	sedang	sedang
Margin koloni	<i>entire</i>	<i>entire</i>	<i>entire</i>
Elevasi koloni	<i>flat</i>	<i>raised</i>	<i>raised</i>
<i>Budding</i>	+	+	+
Sumber karbon:			
- sukrosa	-	+	-
- glukosa	+	+	+
- laktosa	-	-	-

Tabel 2 Skrining khamir proteolitik

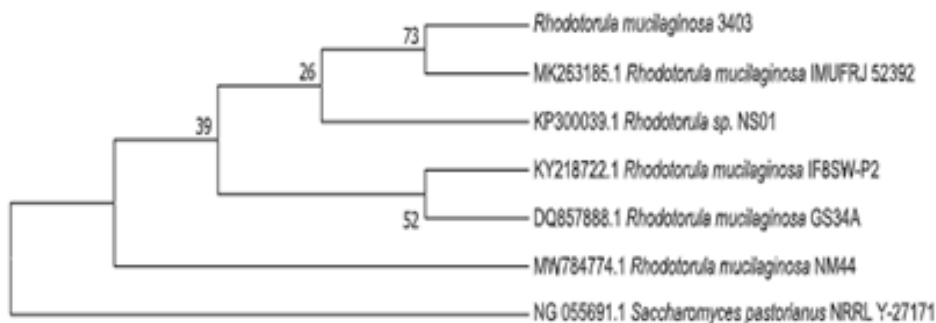
Isolat khamir	Aktivitas Enzim Proteolitik	Ukuran zona bening
Y1	-	-
Y2	+	1,6 mm
Y3	-	-

Ket: +: mempunyai aktivitas proteolitik

-: tidak mempunyai aktivitas proteolitik

Tabel 3 Hasil sekuensing dan identifikasi

<p>Forward Y2 CGAGCGAAGCGGGAAGAGCTCAAATTTATAATCTGGCACCTTCGGTGTCCGAGTTGTAATCTCTAGAAATGT TTCCGCGTTGGACCGCACACAAGTCTGTTGGAATACAGCGGCATAGTGGTGAGACCCCGTATATGGTGCG GACGCCAGCGCTTTGTGATACATTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTGGGAATGCAGCTCAAATGGGTGGTAA ATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACCGTGAGGGAAAGATGAAAAGC ACTTTGAAAGAGAGTTAACAGTACGTGAAATTGTTGGAAGGAAACGCTTGAAGTCAGACTTGCTTGCTG AGCAATCGGTTTGCAGGCCAGCATCAGTTTTCCGGGATGGATAATGGTAGAGAGAAGGTAGCAGTTTCGGC TGTGTTATAGCTCTCTGCTGGATACATCTTGGGGGACTGAGGAACGCAGTGTGCCTTTGGCGGGGTTTCGA CCTTTCACACTTAGGATGCTGGTGGAAATGGCTTAAACGACCC</p>
<p>Reverse Y2 CAGCATCCTAAGTGTGAAGAGGTCGAAACCCCGCCAAAGGCACACTGCGTTCCTCAGTCCCCAAGATGT ATCCAGCAGAGCTATAACACAGCCGAAACTGCTACCTTCTCTACCATTATCCATCCCGGAAAACACTGAT GCTGGCCTGCAAACCGATTGCTCAGCAAGCAAGTCTGACTTCAAGCGTTCCCTTCCAACAATTCACGTAC TGTTAACTCTCTTCCAAAGTGCTTTTCATCTTCCCTCACGGTACTTGTTCGCTATCGGTCTCTCGCCAATAT TTAGCTTTAGATGGAATTTACCACCAATTTGAGCTGCATTCCCAAACAACCTCGACTCTTCGAAAATGTATC ACAAAGCGCTGGGCGTCCGCACCATATACGGGGGTCTCACCCTATGCCGCTGTATTCCAACAGACTTGTGT GCGGTCCAACGCGGAAAACATTTCTAGAGATTACAACCTCGGACACCGAAGGTGCCAGATTATAAATTTGAG CTCTTCCCGCTTCGCTCGCCGCTACTAGGGGAATCCTTGTTAGTTTCTTTTCCCTCCGCT</p>
<p>Consensus AGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCCCTAGTAGCGGGGAGCGAAGCGGGAAGAGCTCAAATTTAT AATCTGGCACCTTCGGTGTCCGAGTTGTAATCTCTAGAAATGTTTCCGCGTTGGACCGCACACAAGTCTGT TGGAAATACAGCGGCATAGTGGTGAGACCCCGTATATGGTGGCGACGCCAGCGCTTTGTGATACATTTTCG AAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAATTTGGGTGGTAAATTCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAG AGACCGATAGCGAACAAGTACCGTGAGGGAAAGATGAAAAGCACTTTGAAAGAGAGTTAACAGTACGTG AAATTGTTGGAAGGAAACGCTTGAAGTCAGACTTGCTTGTGAGCAATCGGTTTGCAGGCCAGCATCAGT TTTCCGGGATGGATAATGGTAGAGAGAAGGTAGCAGTTTCGGCTGTGTTATAGCTCTCTGCTGGATACATCT TGGGGGACTGAGGAACGCAGTGTGCCTTTGGCGGGGGTTTCGACCTTTCACACTTAGGATGCTGGTGGAAAT GGCTTAAACGACCC</p>
<p>Hasil Identifikasi: <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> strain IMUFRJ 52392. Homology 100% and Query Cover 100%.</p>



Gambar 2 Konstruksi pohon filogenetik

Skринing dan Identifikasi khamir Proteolitik

Dari 3 isolat murni khamir yang diperoleh sebelumnya, hanya isolat Y2 yang terkonfirmasi mampu memecah protein pada tahapan skринing. Hasil skринing enzim proteolitik isolat khamir dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 3, isolat Y2 menghasilkan zona bening sebesar 1,6 mm. Zona bening mengindikasikan bahwa isolat Y2 merupakan kelompok khamir yang mampu memecah protein, dalam hal ini memecah susu skim menjadi sumber karbon. Dengan adanya kemampuan ini,

maka isolat Y2 yang berpotensi menjadi starter dalam meningkatkan kualitas produk belacan depik. Hasil penelitian Rahmi *et al.* (2021) menyebutkan bahwa terjadi penurunan protein ikan depik setelah diolah menjadi belacan. Hal ini mengindikasikan adanya aktivitas mikroorganisme yang memecah protein dan diduga salah satunya adalah aktivitas dari khamir proteolitik.

Hasil elektroforesis sekuensing dan identifikasi khamir yang mempunyai aktivitas proteolitik ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil BLAST dengan data genom di *National center for Biotechnology Information* (NCBI) menunjukkan bahwa secara molekuler isolat Y2 teridentifikasi sebagai *Rhodotorula mucilaginosa* strain IMUFRJ 52392 dengan homologi 100% dan *query cover* 100%. Konstruksi pohon filogenetik terhadap *Rhodotorula mucilaginosa* strain IMUFRJ 52392 dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2 diatas, terlihat bahwa *Rhodotula mucilagnosa* 3403 (yang merupakan isolat Y2) dengan nilai *bootstrap* 73% berada pada cabang yang sama dan memiliki kekerabatan terdekat dengan *Rhodotorula mucilaginosa* strain IMUFRJ 52392. Hal ini menunjukkan bahwa kedua isolat adalah spesies yang sama. Menurut (Ludwig and Klenk, 2001), dua isolat yang berada pada cabang yag sama merupakan spesies yang sama sehingga benar isolat yang diperoleh ini berkerabat dengan kelompok Rhodotula.

Rhodotorula adalah kelompok *yeast* yang termasuk dalam filum *Basidiomycota*, famili *Sporidiobolaceae*, dan kelas *Microbotryomycetes*. Dapat ditemukan pada berbagai sumber lingkungan yang sangat bervariasi mulai dari iklim ekstrem di laut dalam hingga gurun dingin Arktik, tanah, udara dan tanaman (Sen *et al.* 2019). *Rhodotula* merupakan salah satu kelompok yeast yang ditemukan pada produk fermentasi tradisional (Tamang *et al.* 2016, Jasmine *et al.* 2019).

Keberadaan *Rhodotula* pada produk *belacan depik* ini diduga berasal dari ikan depik segar sebagai mikroflora indigenus. *Yeast* dari strain *Rhodotorula mucilaginosa* dilaporkan berkolonisasi dalam saluran cerna sejumlah ikan sebagai mikroflora komensal yang menetap secara permanen. Interaksi *Rhodotorula spp.* dengan ikan dianggap sebagai mekanisme hubungan simbiosis berdasarkan stimulasi mekanisme non-spesifik imunoproteksi ikan (Bogulawska-Was *et al.* 2019). Masih teridentifikasinya *Rhodotorula* pada produk *belacan depik* ditambah kemampuannya memecah enzim spesifik (proteolitik), menunjukkan adanya peran tertentu selama fermentasi. Sehingga perlu dikaji lanjut perannya selama fermentasi dan potensinya sebagai agen biologis dalam meningkatkan mutu *belacan depik*.

KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mengisolasi tiga isolat khamir murni asal *belacan depik* dengan karakteristik morfologi dan biokimia yang bervariasi. Hanya satu isolat yang mampu memecah protein (mempunyai aktivitas proteolitik) yaitu isolat Y2 yang selanjutnya diidentifikasi secara molekuler. Hasil identifikasi molekuler menunjukkan bahwa khamir proteolitik asal *belacan depik* teridentifikasi sebagai *Rhodotorula mucilaginosa* strain IMUFRJ 52392 dengan *homology* sebesar 100% dan *query cover* 100%. *Yeast* ini perlu dikaji potensinya sebagai starter *belacan depik* dimasa yang akan datang sehingga mampu meningkatkan mutu *belacan depik*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Universitas Syiah Kuala yang telah membantu pendanaan penelitian ini melalui hibah Penelitian Lektor Tahun Anggaran 2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidoo, K.E., Nout, M.J.R., Sarkar, P.K. 2006. Occurrence and function of yeasts in Asian indigenous fermented foods. *FEMS Yeast Res.* 6, 30–39.
- American Type Culture Collection. 2015. Introduction to Microbiology. URL www.atc.org (accessed 5.12.21).
- Bogulawska-Was, E., Dlubala, A., Laskowska, M. 2019. The role of *Rhodotula mucilaginosa* in selected biological process of wild fish. *Fish Physiol Biochem* 45, 511–521
- Ceapa, C., Lambert, J., van Limpt, K., Wels, M., Smokvina, T., Knol, J., Kleerebezem, M. 2015. Correlation of *Lactobacillus rhamnosus* genotypes and carbohydrate utilization signatures determined by phenotype profiling. *Appl. Environ. Microbiol.* 81, 5458–5470. <https://doi.org/10.1128/AEM.00851-15>.
- Christopher, K., Bruno, E. 2003. Identification of Bacterial Species, in: Tested Studies for Laboratory Teaching. pp. 103–130.
- Lara-Hidalgo, C.E., Hernández-Sánchez, H., Hernández-Rodríguez, C., Dorantes-Álvarez, L. 2017. Yeasts in Fermented Foods and their Probiotic Potential. *Austin J Nutr Metab.* 4(1): 1045.

- Jasmine, R., Ganesh, R., Mohanapriya, S., Dharani, R. 2022. Probiotic *Rhodotorula Mucilaginosa* Isolated From Fermented Food: Investigation Of Pufa Production And Strategy For Health Improvement. *Asian Journal of Advances in Medical Science*, 4(1), 172–178.
- Johansen, P.G., Owusu-Kwarteng, J., Parkouda, C., Padonou, S.W., Jespersen, L. 2019. Occurrence and Importance of Yeasts in Indigenous Fermented Food and Beverages Produced in Sub-Saharan Africa. *Front Microbiol.* 10:1789. doi:10.3389/fmicb.2019.01789.
- Kuncharoen, N., Techo, S., Savarajara, A., Tanasupawat, S. 2020. Dentification and lipolytic activity of yeasts isolated from foods and wastes. *Mycol. Int. J. Fungal Biol.* , 11, 279–286. <https://doi.org/10.3390/jof8101029>
- Ludwig, W., Klenk, H.P. 2001. Overview: A Phylogenetic Backbone and Taxonomic Framework for Procaryotic Systematics, in: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Archeae and the Deeply Branching an Phototrophic Bacteria*. Springer, Berlin, pp. 49–65
- Murlida, E., Nilda, C. 2020. Karakterisasi dan Identifikasi Mikroorganisme Indigenous Ikan Depik (*Rasbora tawarensis*) Fermentasi. Laporan Akhir Penelitian. LPPM Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Muzaifa, M. 2015. Analisis Kimia dan Mikrobiologis Belacan Depik (*Rasbora tawarensis*), Pasta Ikan Fermentasi Tradisional Gayo. *SAGU* 14, 19–22.
- Narzary, Y., Das, S., Goyal, A.K., Lam, S.S., Sarma, H., Sharma, D. 2021. Fermented fish products in South and Southeast Asian cuisine: Indigenous technology processes, nutrient composition, and cultural significance. *J. Ethn. Foods* , 8, 33.
- Ngasotter, S., Waikhom, D., Mukherjee, S., Devi, M.S., Singh, A.S. 2020. Diversity of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Fermented Fish Products: A Review. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 9, 2238–2249.
- Paludan-Müller, C., Madsen, M., Sophanodora, P., Gram, L., Møller, P.L. 2002. Fermentation and microflora of plaasom, a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *Int. J. Food Microbiol.* , 73, 61–70
- Rahmi, F., Susanti, Z., Nilda, C., Muzaifa, M. 2021. Karakterisasi dan identifikasi bakteri asam laktat proteolitik asal ikan depik (*Rasbora tawarensis*) fermentasi *AGROINTEK* 15, 617–623.
- Sen, D., Paul, K., Saha, C., Mukherjee, G., Nag, M., Ghosh, S., Das, A., Seal, A., Tripathy, S. 2019. A unique life-strategy of an endophytic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* JGTA-S1-a comparative genomics viewpoint. *DNA Res.* 1, 26(2):131-146. doi: 10.1093/dnares/dsy044.
- Steinkraus, K.H. 2002. Fermentations in world food processing. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 1, 23–32
- Tamang, J.P., Watanabe, K., Holzapfel, W.H. 2016. Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Front Microbiol.* 24;7:377. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00377>.
- Zang, J., Xu, Y., Xia, W., Regenstein, J.M. 2020. Quality, Functionality, and Microbiology of Fermented Fish: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60:1228-1242