

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat yang Berperan dalam Fermentasi Tumpi Jagung Bahan Pakan Ternak

Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria that Involved in the Fermentation of Tumpi Jagung (Corn Waste) as Animal Feed Materials

Laila Alvi Nurin*, Rizki Amalia, Tania S. W. Arisna, Wahyu N. Sulistyanto, Guntur Trimulyono

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Negeri Surabaya
Jln. Ketintang, Surabaya 60231

ABSTRAK

Tumpi jagung adalah sisa hasil pertanian berkualitas rendah. Bahan ini dimanfaatkan sebagai pakan ternak, dalam pemafaatannya terlebih dahulu tumpi difermentasi. Pada proses fermentasi sering kali terkendala dengan lama waktu fermentasi dan tumbuhnya bakteri pembusuk yang merusak kualitas pakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakteristik jenis bakteri asam laktat yang berperan dalam proses fermentasi tumpi jagung sebagai bahan pakan ternak. Penelitian ini merupakan penelitian observasional. Metode penelitian meliputi isolasi bakteri asam laktat yang berasal dari tumpi jagung dan karakterisasi berupa karakteristik morfologi dan biokimia. Dari penelitian ini diharapkan bakteri asam laktat yang diisolasi nantinya dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam proses fermentasi tumpi jagung sebagai pakan ternak sehingga mempercepat proses fermentasi dan menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk yang merugikan pakan ternak. Melalui tahap isolasi bakteri diperoleh 5 isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari proses fermentasi tumpi jagung bahan pakan ternak memiliki karakteristik umum yaitu berbentuk batang, Gram positif, tidak membentuk endospora, katalase negatif, heterofermentatif dan homofermentatif, dapat tumbuh pada suhu 35°C-45°C, serta tumbuh pada konsentrasi NaCl 4%-6,5%. Berdasarkan hasil karakterisasi yang dilakukan, diduga kelima isolat bakteri yang diperoleh merupakan anggota genus *Lactobacillus*.

Kata Kunci: Tumpi jagung, Bakteri asam laktat, Karakterisasi

ABSTRACT

*Tumpi jagung (corn waste) is a waste of agricultural products that have low quality. Tumpi jagung (corn waste) is used as animal feed, in the maize corn tillage first fermented tumpi jagung (corn waste). In the process of fermentation is often constrained by the length of fermentation time and the growth of bacterial decay that damage the quality of feed. The purposes of this research were to isolate the type of lactic acid bacteria and characterize the type of BAL that plays a role in the fermentation process of tumpi jagung (corn waste) as animal feed ingredients. This research was an observational research. The method consisted of isolating the lactic acid bacteria derived from the tumpi jagung (corn waste) and characterization of morphological and biochemical characteristics. The lactic acid bacteria isolated in this study, could be utilized as additional material in fermentation process of corn crop as animal feed so that accelerate the process of fermentation and inhibit the growth of decay bacteria that harm animal feed. Through the isolation stage of bacteria obtained five isolates of lactic acid bacteria obtained from the fermentation process of corn crops of livestock feed has a common characteristic that were rod-shaped, Gram positive, did not form endospora, catalase negative, heterofermentatif and homofermentatif, can grow at temperature 35°C-45°C, and grow at a concentration of NaCl 4% -6.5%. Based on the result of characterization, it was suspected that the five bacterial isolates were members of the genus *Lactobacillus*.*

Key Words: *tumpi jagung (corn waste), Lactic acid bacteria, Characterization*

PENDAHULUAN

Tumpi jagung merupakan limbah industri pemipilan/perontokan biji jagung yang ketersediannya cukup berlimpah bahkan menjadi masalah dalam penyimpanannya terutama pada saat musim panen jagung. Jumlah tumpi dalam perontokan biji jagung mencapai 2%, satu hal yang dapat dimanfaatkan dari tumpi jagung ini yaitu digunakan sebagai pakan ternak hewan ruminansia seperti sapi. Kandungan bahan kering (BK), lemak

kasar (LK), protein kasar (PK), serat kasar (SK), dan total digestible nutrien (TDN) tumpi jagung berurut-urut adalah 87,38%, 8,65%, 0,53%, 21,29%, dan 48,47% (Wahyono dan Hardiyanto, 2004).

Berdasarkan beberapa hasil penelitian menyebutkan bahwa tumpi jagung merupakan salah satu bahan penyusun substitusi konsentrat; jika ditambahkan dengan suplemen akan memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan produksi ternak (Marhaenyanto dan Prasetyo,

*Alamat korespondensi:
laila.alvinurin@gmail.com

2009). Oleh karena itu, untuk memanfaatkannya sebagai bahan pakan, perlu adanya peningkatan kualitas antara lain dengan teknologi pengolahan amofer (amoniasi fermentasi). Dalam penggunaannya yang terlihat mudah dan ekonomis, namun perlu perhatian terhadap residu kimiawi serta kandungan antinutrisi atau toksin yang timbul dari dalam produk ternak yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan dari beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa terdapat jenis tanaman pangan dan perkebunan yang mengandung toksin dan antinutrisi yang berefek samping terhadap kesehatan ternak dan manusia yang bukan menjadi target utamanya. Oleh sebab itu diperlukannya penambahan bahan yang mampu membantu proses fermentasi dan menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk yang menurunkan kualitas pakan (Pamungkas, 2008).

Fermentasi merupakan proses perubahan bahan pangan secara biokimia oleh aktivitas mikroorganisme serta menghasilkan terjadinya aktivitas metabolit enzim. Hidayat dkk. (2006), mengatakan bahwa berbagai jenis bakteri, khamir dan kapang adalah jenis mikrobial yang umumnya terlibat dalam proses fermentasi. Salah satunya jenis bakteri yang dapat ditemukan dalam produk olahan fermentasi yaitu bakteri asam laktat. Bakteri ini menghasilkan asam laktat dapat menurunkan pH bahan pakan, sehingga kualitas bahan pakan dapat dipertahankan. Selain itu, bakteri ini juga menghasilkan asam-asam organik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk (Hanafi, 2008).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang menghasilkan amilase ekstra seluler dan menfermentasi pati menjadi asam laktat secara langsung (Reddy *et al.*, 2008). Petrov *et al.* (2008), mengatakan bahwa proses hidrolisis enzimatis substrat karbohidrat (pati) dan fermentasi gula merupakan gabungan dua proses yang dilakukan oleh bakteri asam laktat dalam menghasilkan asam laktat. Bakteri ini dapat berfungsi sebagai pengawet makanan, peningkatan keamanan dan kualitas higiene pangan melalui proses penghambatan pertumbuhan flora berbahaya yang bersifat patogen dengan cara menurunkan pH lingkungan, memproduksi asam organik dan mengekskresikan senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, seperti H₂O₂, diasetil, CO₂, asetaldehid, d-isomer asam amino dan bakteriosin (Kusmiati dan Malik, 2002). Beberapa jenis bakteri yang memproduksi bakteriosin adalah *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, dan *Propionibacterium* (Utami, 2011).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Putri dkk. (2012), didapatkan 63 jenis bakteri asam laktat amilolitik yang diisolasi dari growol dan dilakukan pengujian kemampuan amilolitiknya. Selama ini belum ada penelitian tentang jenis bakteri asam laktat yang membantu proses fermentasi tumpi jagung yang dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Oleh karena itu, perlunya dilakukannya penelitian lebih lanjut terhadap BAL yang terdapat pada tumpi jagung, yang diharapkan nantinya dapat dimanfaatkan kembali dalam membantu proses fermentasi tumpi jagung yang dimanfaatkan sebagai pakan ternak.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakteristik jenis bakteri asam laktat yang berperan dalam proses fermentasi tumpi jagung sebagai bahan pakan ternak.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian observasional karena hasil yang ingin dicapai berupa data deskriptif mengenai karakteristik bakteri yang berperan dalam fermentasi tumpi jagung. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu autoclave, Laminar Air Flow (LAF), vortex, oven, inkubator, timbangan digital, pipet, jarum suntik 1 ml, tabung reaksi, gelas ukur 100 mL, erlenmeyer 1000 mL, bunsen, spiritus, spatula kaca, mortar alu, beaker glass 1000 ml, plastik wrap, plastik PP, cawan Petri, tabung reaksi, tabung Durham, rak tabung reaksi, aluminium foil, kertas label, jarum ose, cover glass dan object glass, alat dokumentasi. Bahan yang digunakan adalah tumpi jagung, media MRS Agar, media MRS Broth, media MIO, CaCO₃ 1%, kapas, alkohol 70% dan 96%, crystal violet, safranin, lugol, malachite hijau, H₂O₂ 3%, KOH 3%, spiritus, NaCl, dan akuades.

Prosedur penelitian ini meliputi tahap persiapan, tahap pengenceran sampel, tahap isolasi bakteri, tahap pemurnian bakteri, serta tahap karakterisasi bakteri. Tahap persiapan terdiri atas sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media pertumbuhan dan media uji, penyiapan reagen untuk uji, sterilisasi ruangan, dan proses fermentasi tumpi jagung. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf dengan tekanan 2 atm dan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang disiapkan adalah media pertumbuhan bakteri yaitu MRS Agar dan MRS Broth untuk uji pertumbuhan pada kisaran suhu dan toleransi terhadap NaCl, serta media MIO untuk uji motilitas. Adapun reagen dan bahan lain yang disiapkan yaitu alkohol 70% dan 96%, crystal violet, safranin, lugol, malachite hijau,

H₂O₂ 3%, KOH 3%, spiritus, NaCl, dan akuades steril.

Pengenceran sampel dilakukan dengan pengenceran bertingkat yaitu dari tingkat pengenceran 10-1 hingga pengenceran 10-8. Pengenceran 10-1 dilakukan dengan cara 1 gram tumpi jagung dihaluskan dengan mortal alu kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL akuades steril kemudian sampel dihomogenkan menggunakan vortex. 1 ml pengenceran 10-1 disuspensikan lagi ke dalam 9 ml akuades steril sehingga menjadi pengenceran 10-2. Cara yang sama dilakukan hingga mencapai tingkat pengenceran 10-8. Sebanyak 1 mL sampel pengenceran 10-1 sampai 10-8 masing-masing disuspensikan secara duplo ke 2 cawan petri kemudian dituangkan MRS Agar yang telah ditambah CaCO₃ 1% dan dibiarkan hingga memadat (metode pour plate). Biakan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pemurnian bakteri dilakukan terhadap bakteri yang menghasilkan zona bening disekeliling koloninya dengan menggunakan metode streak plate dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur isolat murni kemudian ditumbuhkan pada media MRS Agar miring dan disimpan di lemari pendingin hingga saat akan digunakan.

Selanjutnya dilakukan karakterisasi isolat bakteri yang diperoleh dengan cara karakterisasi morfologi koloni dan bentuk sel (Romadhon dkk., 2012), pewarnaan Gram dan uji motilitas (Yulvizar, 2013), uji katalase (Muzaifa, 2014), pewarnaan endospora (Susilawati, 2016), uji pertumbuhan pada suhu tertentu (Thakkar et al., 2015), uji tipe fermentasi dan uji toleransi terhadap NaCl (Susilawati, 2016). Hasil karakterisasi bakteri kemudian dicocokkan dengan buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh lima isolat bakteri dari fermentasi tumpi jagung yaitu isolat A, B, C, D dan E. Isolat bakteri ini dipilih berdasarkan terbentuknya zona bening (*clear zone*) di sekitar koloni bakteri yang tumbuh pada media MRS Agar pada saat tadapan isolasi, yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut menghasilkan metabolit berupa asam laktat. Kelima isolat tersebut kemudian dikarakterisasi (Tabel 1).

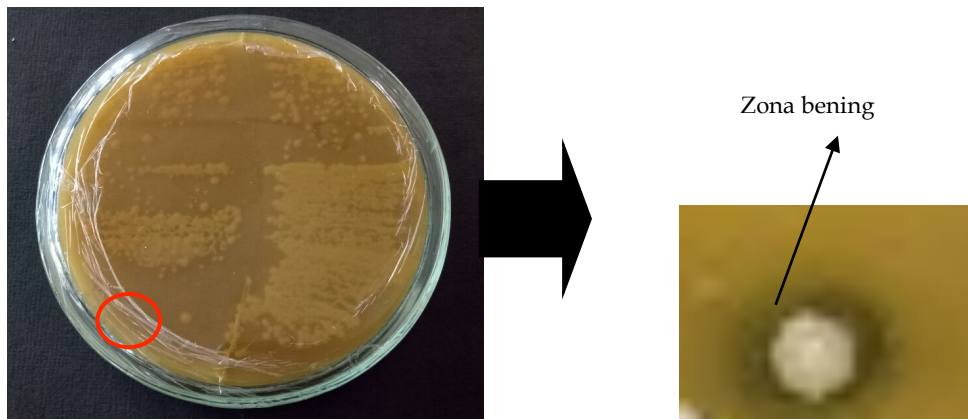
Berdasarkan hasil karakterisasi di atas, diketahui bahwa semua isolat bakteri memiliki karakteristik Gram positif, sel berbentuk basil, non endospora, non motil, katalase negatif dan dapat tumbuh pada suhu 35°C-45°C. Pada uji tipe fermentasi isolat bakteri A, C dan E bersifat heterofermentatif, sedangkan bakteri B dan D bersifat homofermentatif. Pada uji toleransi NaCl diketahui bahwa semua isolat bakteri dapat tumbuh pada konsentrasi NaCl 4%, namun pada NaCl konsentrasi 6,5% bakteri yang dapat tumbuh hanya isolat A, B dan E.

Pada penelitian ini, diperoleh lima isolat bakteri berdasarkan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Zona bening tersebut adalah indikasi terjadinya interaksi antara CaCO₃ dalam media dengan asam laktat yang dihasilkan oleh koloni bakteri, sehingga membentuk Ca-laktat yang larut dalam medium (Nur dkk., 2015). Isolat bakteri tersebut kemudian dikarakterisasi lebih lanjut. Karakterisasi yang dilakukan adalah karakterisasi morfologi, yaitu bentuk koloni, warna koloni, tepi koloni, permukaan koloni, bentuk sel, jenis Gram dan pewarnaan endospora. Karakterisasi fisiologi yaitu uji motilitas, uji pertumbuhan pada suhu tertentu, dan uji toleransi NaCl serta karakterisasi biokimia yaitu uji katalase dan uji tipe fermentasi.

Tabel 1. Hasil karakterisasi dan identifikasi isolat BAL

Karakteristik	Isolat Bakteri				
	A	B	C	D	E
Bentuk sel	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Gram	+	+	+	+	+
Pembentukan spora	-	-	-	-	-
Katalase	-	-	-	-	-
Motilitas	-	-	-	-	-
Tipe fermentasi	Hetero-fermentatif	Homo-fermentatif	Hetero-fermentatif	Homo-fermentatif	Hetero-fermentatif
Uji suhu (°C)					
15	-	-	-	-	-
35	+	+	+	+	+
45	+	+	+	+	+
Uji toleransi NaCl (%)					
4	+	+	+	+	+
6,5	+	+	-	-	+

Keterangan: Reaksi positif (+), reaksi negatif (-)



Gambar 1. Zona bening pada isolat bakteri

Tabel 2. Karakterisasi koloni isolat bakteri yang diperoleh

Isolat bakteri	Morfologi koloni			
	Bentuk	Warna	Tepi	Permukaan
A	Bulat	Putih	Rata	Cembung
B	Bulat	Putih	Rata	Cembung
C	Tidak beraturan	Putih	Rata	Cembung
D	Bulat	Putih	Rata	Cembung
E	Tidak beraturan	Putih	Tidak beraturan	Rata

Karakterisasi morfologi dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Karakterisasi morfologi secara makroskopik dilakukan dengan pengamatan secara visual terhadap bentuk, warna, tepian dan permukaan koloni. Berdasarkan pengamatan, koloni bakteri A, B dan D memiliki ciri morfologi yang sama yaitu berbentuk bulat, berwarna putih, tepi rata dan permukaan cembung. Sedangkan koloni D berbentuk tidak beraturan, berwarna putih, tepian rata dan permukaan cembung, serta koloni bakteri E berbentuk tidak beraturan, berwarna putih, tepian tidak beraturan dan permukaan rata (Tabel 2).

Karakterisasi morfologi secara mikroskopik dilakukan dengan pewarnaan Gram dan endospora. Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui jenis Gram bakteri sekaligus mengamati bentuk sel bakteri, sedangkan pewarnaan endospora bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk membentuk endospora. Berdasarkan hasil pewarnaan Gram, semua isolat bakteri yang diperoleh (A, B, C, D dan E) merupakan bakteri Gram positif, ditandai dengan sel bakteri yang berwarna ungu, berarti bakteri tersebut dapat mengikat zat warna *crystal violet* (Yulvizar, 2013). Berdasarkan pengamatan, bentuk sel kelima isolat bakteri adalah basil (batang). Berdasarkan hasil tersebut, isolat A, B, C, D dan E

dapat dikarakterisasi lebih lanjut, karena Gram positif merupakan salah satu karakteristik umum BAL (Muzaifa, 2014).

Berdasarkan hasil pewarnaan endospora menggunakan malachite hijau, diketahui bahwa semua isolat bakteri yang diperoleh tidak membentuk endospora (non endospora). Non endospora merupakan salah satu karakteristik umum yang lain dari BAL. Bakteri asam laktat tidak membentuk endospora sehingga ketika pengamatan hasil pewarnaan endospora, maka sel vegetatif hanya tampak berwarna merah muda tanpa warna hijau yang mengindikasikan terbentuknya endospora (Laily dkk., 2013).

Selanjutnya dilakukan karakterisasi secara biokimia dan fisiologi dengan uji motilitas, uji katalase, uji suhu, uji tipe fermentasi, dan uji toleransi NaCl. Hasil uji katalase menunjukkan bahwa kelima isolat bakteri yang diperoleh bersifat katalase negatif. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas saat sel bakteri ditetesi H_2O_2 3%. Bakteri asam laktat memiliki sifat katalase negatif, dikarenakan tidak memiliki kemampuan menghasilkan enzim katalase yang dapat memecah H_2O_2 menjadi air dan oksigen (Laily dkk., 2013). Berdasarkan hasil uji ini juga semua isolat bakteri akan dikarakterisasi lebih

lanjut, karena katalase negatif merupakan karakteristik umum dari BAL (Muzaifa, 2014).

Karakterisasi selanjutnya adalah uji motilitas menggunakan media MIO semi padat. Uji ini dilakukan dengan cara isolat bakteri ditusukkan secara lurus pada media dengan menggunakan jarum ose. Berdasarkan hasil uji motilitas diketahui bahwa kelima isolat bakteri bersifat non motil, karena tidak ditemukan terbentuknya perambatan pertumbuhan bakteri di sekitar bekas tusukan ose (Susilawati, 2016).

Hasil uji fermentasi pada kelima isolat bakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri B dan D bersifat homofermentatif, sedangkan isolat bakteri A,C dan E bersifat heterofermentatif. Menurut Susilawati (2016), BAL dapat bersifat homofermentatif atau heterofermentatif. Bakteri ini bersifat homofermentatif apabila hanya menghasilkan asam laktat sebagai hasil utama dari fermentasi glukosa, sedangkan bakteri asam laktat bersifat heterofermentatif apabila fermentasi glukosa yang dilakukan bakteri tidak hanya menghasilkan asam laktat, namun menghasilkan karbondioksida dan etanol sebagai produk sampingan (Purwohadisantoso dkk., 2009). Pada uji fermentasi, BAL yang bersifat heterofermentatif akan terbentuk gelembung gas pada tabung Durham.

Uji selanjutnya adalah uji pertumbuhan pada suhu tertentu dan uji toleransi terhadap NaCl dengan cara menginokulasikan bakteri asam laktat pada medium MRS Broth yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 15°C, 35°C dan 45°C selama 48 jam. Pertumbuhan bakteri didasarkan pada kekeruhan media MRS Broth (Susilawati, 2016). Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa semua isolat bakteri tidak tumbuh pada suhu 15°C, namun dapat tumbuh pada suhu 35°C dan 45°C. Pada uji toleransi NaCl, isolat bakteri diinokulasikan pada media MRS Broth yang sebelumnya telah ditambahkan NaCl dengan konsentrasi 4% serta 6,5%. Uji toleransi garam dilakukan untuk mengetahui tingkat ketahanan isolat bakteri terhadap garam empedu yang harus dilalui untuk dapat mencapai usus dan melakukan aktivitas metabolik, sehingga mampu menyeimbangkan mikroflora di dalam pencernaan manusia (Thakkar *et al.*, 2015). Berdasarkan uji toleransi NaCl yang dilakukan diperoleh hasil bahwa bakteri A, B dan E dapat tumbuh pada konsentrasi NaCl 4% dan 6,5%, sedangkan bakteri C dan D tumbuh pada konsentrasi 4% tetapi tidak tumbuh pada konsentrasi 6,5%.

Keseluruhan hasil karakterisasi kemudian dicocokkan dengan buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Berdasarkan karakter yang dimiliki oleh kelima isolat bakteri asam laktat

hasil isolasi dari tumpi jagung, diduga kelima isolat tersebut termasuk dalam anggota genus *Lactobacillus*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dipaparkan maka dapat kesimpulan sebagai berikut. Melalui tahap isolasi bakteri diperoleh lima isolat bakteri asam laktat yang diperoleh dari proses fermentasi tumpi jagung bahan pakan ternak memiliki karakteristik umum yaitu berbentuk batang, Gram positif, tidak membentuk endospora, katalase negatif, heterofermentatif dan homofermentatif, dapat tumbuh pada suhu 35°C-45°C, serta tumbuh pada konsentrasi NaCl 4%-6,5%. Kelima isolat bakteri asam laktat yang diperoleh diduga merupakan anggota genus *Lactobacillus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Breed RS, Murray EGD, Smith NR, and Ninety-four Contributors. 1957. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore: The Williams & Wilkins Company.
- Hanafi ND, 2008. *Teknologi Pengawetan Pakan Ternak*. Medan: Departemen Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Hidayat N, Padaga MC, dan Suhartini S, 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi.
- Kusmiati dan Malik A 2002. Aktivitas Bakteriosin dan Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pba1 pada Berbagai Media. *Makara Kesehatan*.
- Laily IN, Utami R dan Widowati E, 2013. Isolasi dan karakteristik Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2(4): 179-184
- Marhaeniyanto E dan Prasetyo H, 2009. Suplementasi pada pakan basal tumpi jagung dan kulit kopi terhadap kinerja domba jantan muda. *Buana Sains* 9(2): 119-128.
- Muzaifa M, 2014. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Indigenous dari Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Sagu* 13(1): 8-13.
- Nur F, Hafsan, Wahdiniar A. 2015. Isolasi Bakteri Asam laktat Berpotensi Probiotik pada Dangke, Makanan Tradisional dari Susu Kerbau di Curio Kabupaten Enrekang. *Jurnal Ilmiah Biologi Biogenesis* 3(1): 60-65
- Pamungkas, D. 2008. Suplementasi Pakan Sumber Energi dan Sumber Protein dengan Degradasi Berbeda pada Pakan Basal Tumpi Jagung dan Kulit Kopi terhadap Kinerja Sapi Potong. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Petrov K, Urshev Z, and Petrova P 2008. L(+)-Lactic Acid Production from Starch by A Novel Amylolytic *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* B84. *Food Microbiology* 25: 550- 557.
- Purwohadisantoso K, Zubaidah E, dan Saparianti E, 2009. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Kubis yang Memiliki Kemampuan Penghambatan Bakteri patogen (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella thypimurium*). *Jurnal Teknologi Pertanian* 10(1): 19-27

- Putri WDR, Haryadi, Marseno DW, dan Cahyanto MN, 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik Selama Fermentasi Growol, Makanan Tradisional Indonesia. *Jurnal Teknologi Pertanian* 13(1): 52-60.
- Reddy G, Altaf MD, Naveena BJ, Venkateshwar M, & Kumar EV, 2008. Amylolytic Bacterial Lactic Acid Fermentation, A Review. *Biotechnology Advances* 26: 22-34.
- Romadhon, Subagiyo dan Margino S, 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan. *Jurnal Sainstek Perikanan* 8(1): 59-64.
- Susilawati S, 2016. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Air Cucian Beras. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah
- Thakkar P, Modi HA, and Prajapati JB, 2015. Isolation, Characterization and Safety Assessement of Lactic Acid Bacterial Isolates from Fermented Food Products. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science* 4(4): 713-725.
- Utami DA, 2011. Karakterisasi Molekuler Bakteri Asam Laktat (BAL) Probiotik dengan Gen 16S rRNA yang Berpotensi Menghasilkan Bakteriosin dari Fermentasi Sirsak (*Annona maricata L.*) Di Sumatera Barat. *Tesis*. Tidak Dipublikasikan. Universitas Andalas, Padang.
- Wahyono DE & Hardiyanto R, 2004. Pemanfaatan Sumberdaya Pakan Lokal untuk Pengembangan Usaha Sapi Potong. *Prosiding Lokakarya Nasional Sapi Potong Puslitbangnak*. Yogyakarta: Badan Litbang Pertanian.
- Yulvizar C, 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger sp.*. *Biospecies* 6(2): 1-7.