

Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari Minuman *Ce Hun Tiau*

Rafika Sari¹, Lia Deslianri¹, Pratiwi Apridamayanti¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak. 78124

Email : rafikasari.untan@gmail.com

Abstrak

Bakteri asam laktat termasuk golongan bakteri yang menguntungkan, karena dapat menghasilkan peptida antimikroba yang disebut bakteriosin. Bakteriosin telah banyak diaplikasikan sebagai pengawet alami makanan, karena efektif mencegah pertumbuhan bakteri patogen pada makanan atau minuman. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri asam laktat dari minuman *Ce hun tiau* yang merupakan salah satu produk dari pedagang kakilima sebagai penghasil bakteriosin yang memiliki aktivitas terhadap bakteri patogen, seperti: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Di dalam penelitian ini bakteri asam laktat diisolasi dari minuman *Ce hun tiau* menggunakan teknik goresan pada media *deMan Rogose Sharpe*. Kemudian dilanjutkan dengan skrining bakteriosin dengan menggunakan metode difusi cakram untuk mengetahui aktivitas penghambatan isolat terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* serta uji konfirmasi menggunakan enzim proteolitik untuk mengetahui aktivitas penghambatan merupakan aktivitas dari bakteriosin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada minuman *Ce hun tiau* telah berhasil diisolasi bakteri asam laktat sebanyak 1 (satu) isolat yang teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum*. Pengamatan zona hambat menunjukkan aktivitas bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* yang merupakan aktivitas dari bakteriosin.

Abstract

Lactic acid bacteria is one of the beneficial bacteria because it can produce an antimicrobial peptide called bacteriocin. Bacteriocin has been applied as a natural food preservative because it effectively prevents the growth of pathogenic bacteria in food or drink. This study aims to identify the lactic acid bacteria as producers of bacteriocin from *Ce hun tiau* which have inhibitory activity against pathogenic bacteria such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. In this study, Lactic acid bacteria were isolated from *Ce Hun Tiau* using streak plate method on media *deMan Rogose Sharpe*. Screening bacteriocin using disc diffusion method to find out the inhibitory activity of isolates against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* and for confirmation test using proteolytic enzymes. The results showed 1 isolate of lactic acid bacteria was successfully isolated from *Ce hun tiau*, identified as *Lactobacillus plantarum*. This isolate could inhibit the growth of pathogenic bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi* which is a bacteriocin activity.

Keywords : Bacteriocin, lactic acid bacteria, ce hun tiau

PENDAHULUAN

Makanan dan minuman merupakan salah satu kebutuhan pokok manusia dan merupakan unsur yang penting dalam meningkatkan derajat kesehatan manusia. Salah satu masalah yang menonjol menyangkut makanan dan minuman adalah masalah keamanannya. Makanan dan minuman yang tidak aman dapat disebabkan oleh cemaran mikroba atau yang disebut dengan bakteri patogen. Makanan dan minuman yang berasal dari produk pedagang kakilima berpotensi terkontaminasi oleh mikroba atau bakteri patogen. Produk pedagang kakilima memiliki risiko untuk terjadinya kontaminasi makanan 3,5 kali dibandingkan dengan usaha makanan dan minuman dari Jasaboga (Djaja *et al.*, 2000). Serta ditemukan adanya kontaminasi bakteri patogen yaitu *Escherichia coli* sebesar 22,4% (Djaja, 2008).

Bakteri yang terkandung dalam makanan dan minuman tidak hanya merugikan karena dapat menyebabkan penyakit, di dalam makanan dan minuman juga mengandung bakteri yang memiliki pengaruh baik terhadap kesehatan. Salah satunya adalah bakteri asam laktat (BAL) yang termasuk golongan *Generally Recognized As Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang dapat ditambahkan pada makanan dan tidak mempengaruhi mikroba alami lain yang terdapat di dalam tubuh, juga menghasilkan peptida antimikroba lain yang disekresikan yaitu bakteriosin. Berdasarkan penelitian sebelumnya, ditemukan galur BAL yang dapat memproduksi bakteriosin yaitu

Lactococcus lactis sp. yang diisolasi dari rusip dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* dan *Lactobacillus plantarum* (Kusmawarti *et al.*, 2013).

Ce Hun Tiau merupakan minuman khas warga tionghoa Kota Pontianak yang terdiri dari komposisi ketan hitam, kacang merah, bongko, tepung kanji dan gula merah sebagai pemanis serta santan kelapa. Santan kelapa dan gula merah telah terbukti sebagai penghasil bakteri asam laktat (BAL). Hal ini dibuktikan pada penelitian terdahulu, telah diperoleh galur BAL yaitu *Weissella salipiscis*, *Weissella confusa* dan *Weissella cibaria* dari beberapa minuman yang mengandung komposisi berupa santan dan gula merah (Malik *et al.*, 2010). BAL yang terkandung dalam minuman *Ce Hun Tiau* berpotensi untuk menghasilkan substansi antimikroba yaitu bakteriosin yang dapat digunakan sebagai antimikroba alami untuk pengawet makanan karena memiliki kemampuan dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Cleveland *et al.*, 2011).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari sampel minuman *Ce Hun Tiau* yang diduga menghasilkan bakteriosin yang memiliki aktivitas terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*.

METODE

Minuman *Ce Hun Tiau* yang diperoleh dari salah satu pedagang kaki lima di Jalan W.R Supratman Kota Pontianak, aquadest, media *de Man-Rogosa-Sharpe* (MRS), enzim Protease K, hidrogen peroksida (H_2O_2), kristal violet, safranin, alkohol, iodin, sukrosa, manitol, glukosa, laktosa, maltosa, NaOH, NaCl 2%; 4% dan 6,5%, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Simmon Citrate agar*, *Sulfur Indole Motility Media* (SIM), *Urea Agar Base*.

Perlakuan sampel

Sampel *Ce Hun Tiau* diblender dan diencerkan dalam media MRS *broth* sebanyak 10 ml. Sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam media MRS *broth* pada tabung reaksi pertama. Pada pengenceran 100 ini dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel pada pengenceran 10. Kemudian dimasukkan ke media MRS *broth* dalam tabung reaksi kedua. Pengenceran ini dilakukan hingga diperoleh pengenceran 1000.

Isolasi bakteri asam laktat

Suspensi bakteri yang sudah dibuat sebelumnya digoreskan sebanyak 1 loop pada petri yang berisi media *deMan Rogose Sharpe Agar* (MRSa). Kemudian diinkubasi pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Identifikasi bakteri asam laktat

Identifikasi dilakukan dengan uji pewarnaan Gram, uji biokimia dan uji sifat fisiologis.

Uji biokimia yang dilakukan meliputi uji katalase, fermentasi gula, fermentasi karbohidrat, simon sitrat, motilitas, urea dan indol. Sedangkan uji sifat fisiologis meliputi suhu (15°C, 37°C dan 45°C), pH (3, 5, 6 dan 9) serta kadar garam (2%; 4%; dan 6,5%).

Skrining bakteriosin

Uji sifat antibakteri bakteriosin. Pengujian dilakukan dengan metode difusi cakram. Isolat BAL ditumbuhkan dalam media MRS cair 5,0 mL dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 jam. Kultur cair disentrifugasi dengan kecepatan 1600 x g pada suhu 4°C selama 15 menit. Filtrat dinetralkan hingga pH 6,0 menggunakan pH meter dengan menambahkan larutan NaOH 1 N. Filtrat disterilkan dengan filter bakteri berdiameter 0,22 µm ke dalam tabung steril untuk memperoleh supernatan antibakteri (Sari *et al.*, 2011). Sebanyak 20 µm supernatan antibakteri diteteskan pada kertas cakram steril berdiameter 6 mm. Kertas cakram diletakkan diatas media NA yang mengandung bakteri indikator *E.coli*, *S.aureus* dan *S.typhi*. Diameter zona bening yang dihasilkan di sekitar kertas cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C (Sidabutar *et al.*, 2015).

Uji aktivitas bakteriosin terhadap enzim proteolitik. Sebanyak 250 µL supernatan antibakteri dicampur dengan 750 µL enzim protease K konsentrasi 1 mg/mL dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,5 kemudian diinkubasi selama 5 jam pada suhu 37°C.

Filtrat disterilkan dengan filter *Millipore* berdiameter 0,22 μ L ke dalam tabung steril (Sari *et al.*, 2011). Sebanyak 20 μ m supernatan antibakteri diteteskan pada kertas cakram steril berdiameter 6 mm. Kertas cakram diletakkan diatas media NA yang mengandung bakteri indikator *E.coli*, *S.aureus* dan *S.typhi*. Kemudian diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C (Sidabutar *et al.*, 2015).

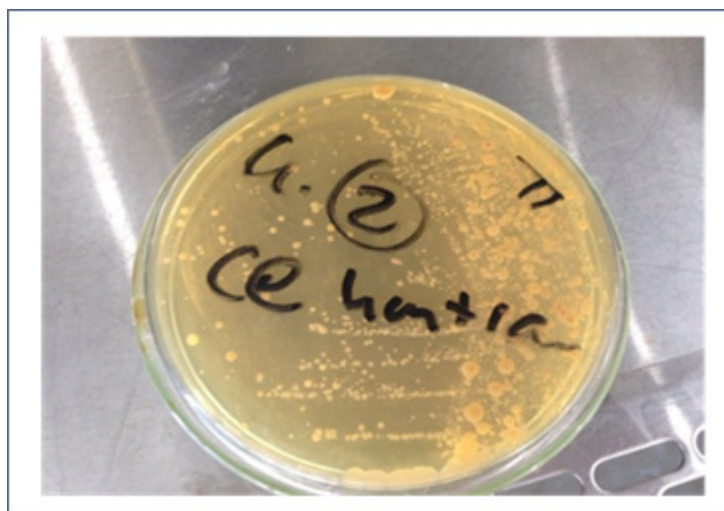
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi setelah proses inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam yaitu ditemukan isolat bakteri tumbuh berkoloni di dalam media MRSA. Koloni yang tumbuh pada media MRSA merupakan bakteri asam laktat karena media MRSA didesain untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat termasuk genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc*. Bakteri asam laktat dapat tumbuh pada media MRSA karena mengandung beberapa komponen yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri tersebut. Media MRSA mengandung dekstrosa, ekstrak daging, ekstrak ragi, ammonium sitrat, magnesium sulfat, pepton, natrium asetat, dikalium fosfat, tween 80 dan mangan sulfat. Kandungan ammonium sitrat pada pH rendah menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat. Dikalium fosfat dan natrium asetat merupakan dapar untuk menjaga pH tetap rendah, sementara tween 80 adalah pelarut zat- zat lain. Mangan dan magnesium sulfat merupakan sumber dari ion dan sulfat. Sedangkan pepton, daging dan ragi adalah sumber nutrisi untuk pertumbuhan karena

mengandung nitrogen, vitamin, mineral dan asam amino. Dekstrosa adalah karbohidrat fermentasi yang berfungsi sebagai karbon dan sumber energi (De Man *et al.*, 1960).

Identifikasi bakteri asam laktat dilakukan untuk mengetahui adanya keberadaan bakteri asam laktat di dalam sampel dan untuk mengetahui karakteristik fenotipik isolat bakteri asam laktat yang terdapat dalam sampel tersebut. Identifikasi bakteri asam laktat dilakukan dengan uji pewarnaan Gram, uji biokimia dan uji sifat fisiologis. Uji biokimia yang dilakukan meliputi uji katalase, fermentasi gula, fermentasi karbohidrat, simon sitrat, motilitas, urea dan indol. Sedangkan uji sifat fisiologis meliputi suhu (15°C, 37°C dan 45°C), pH (3, 5, 6 dan 9) serta kadar garam (2%; 4%; dan 6,5%).

Hasil uji pewarnaan Gram pada sampel *Ce hun tiau* menunjukkan bahwa isolat bakteri merupakan golongan bakteri Gram positif yang ditandai dengan warna ungu pada sel bakteri. Warna ungu ini disebabkan karena dinding sel bakteri Gram positif mengandung lebih banyak lapisan peptidoglikan, sehingga kompleks kristal violet- iodin yang masuk ke dalam sel bakteri tidak dapat tercuci oleh alkohol (Pratiwi, 2008). Dari pewarnaan Gram juga dapat diketahui bahwa bentuk sel bakteri yang diisolasi berbentuk batang berpasangan (diplobasil). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, bahwa ciri dari *Lactobacillus plantarum* berbentuk batang membentuk pasangan (diplobasil) dan rantai pendek dari sel- selnya serta memiliki warna sel ungu (Buckle, 2007).



Gambar 1. Isolat *Lactobacillus plantarum*

Hasil uji biokimia pada tabel 1, menunjukkan bahwa isolat yang didapat memiliki kemiripan dengan profil uji biokimia dengan bakteri asam laktat. Hal ini dibuktikan dengan uji katalase dan motilitas negatif. Hasil uji biokimia tersebut kemudian diolah menggunakan aplikasi *Probabilistic Identification of Bacteria for Windows* (PIB Win) untuk mengetahui genus dan spesies dari bakteri asam laktat yang didapat. Hasil

aplikasi menunjukkan bahwa isolat bakteri asam laktat (BAL) pada minuman *Ce hantiau* merupakan *Lactobacillus plantarum*. Kemudian untuk memperkuat identifikasi, hasil uji biokimia tersebut dicocokkan dengan literatur *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dan diduga kuat isolat bakteri asam laktat (BAL) termasuk kelompok *Lactobacillus plantarum*.

Tabel 1. Hasil uji biokimia

Jenis uji	Hasil	Keterangan
Fermentasi Gula	+	Perubahan warna media menjadi kuning
Simon Sitrat	-	Tidak terjadi perubahan media dari hijau menjadi biru
Motilitas	-	Penyebaran warna putih di tusukan inokulasi
Indol	-	Tidak membentuk lapisan cincin merah
Urea	-	Tidak membentuk warna merah muda
Katalase	-	Tidak terbentuk gelembung udara
H ₂ S	-	Tidak membentuk endapan hitam
Fermentasi Karbohidrat	+	Perubahan warna media menjadi kuning

Hasil uji sifat fisiologis pada isolat yang teridentifikasi sebagai bakteri asam laktat menunjukkan hasil positif pada semua kondisi suhu, pH dan kadar garam yang diujikan. Pengujian suhu terhadap isolat bakteri asam laktat (BAL) yang didapat bertujuan untuk melihat pengaruh isolat terhadap kondisi suhu 15°C, 37°C, dan 45°C. Bakteri dikatakan tumbuh jika terlihat koloni berwarna putih pada media. Hasil uji pada sampel *Ce hun tiau* menunjukkan hasil positif pada semua kondisi suhu yang diujikan yang ditandai dengan terdapatnya koloni berwarna putih pada media MRS Agar. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu bahwa *Lactobacillus plantarum* dapat tumbuh pada suhu 15°C, 37°C dan 45°C (Whitman, 1984; Fitriyani, 2010).

Pengujian pH terhadap isolat bakteri asam laktat (BAL) yang didapat bertujuan untuk melihat pengaruh isolat terhadap kondisi pH 3, 4, 6, dan 9. Bakteri dikatakan tumbuh jika media berubah menjadi keruh. Hasil uji pada sampel *Ce hun tiau* menunjukkan hasil positif pada semua kondisi pH yang diujikan yang ditandai dengan kekeruhan pada media. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fitriyani (2010), bahwa *Lactobacillus plantarum* dapat tumbuh pada derajat keasaman 3, 4, 6, dan 9.

Pengujian kadar garam terhadap isolat bakteri asam laktat (BAL) yang didapat bertujuan untuk melihat pengaruh isolat terhadap kadar NaCl 2%; 4%; dan 6,5%. Hasil uji pada sampel *Ce hun tiau* menunjukkan hasil

positif pada semua kadar NaCl yang diujikan yang ditandai dengan perubahan warna pada media. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Korhonen (2010) dan Fitriyani (2010), bahwa *Lactobacillus plantarum* dapat tumbuh pada kadar garam 2%, 4% dan 6,5%. Berdasarkan beberapa paparan di atas, dapat dibuktikan bahwa isolat tersebut memiliki profil fisiologis yang sama dengan bakteri *Lactobacillus plantarum*.

Tabel 2. Hasil uji sifat fisiologis

Pengujian	Hasil	
Suhu	15°C	+
	37°C	+
	45°C	+
Kadar Garam	2%	+
	4%	+
	6,5%	+
Tingkat Keasaman (pH)	3	+
	4	+
	6	+
	9	+

Uji sifat antibakteri bakteriosin bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri bakteriosin dari isolat bakteri asam laktat (BAL). Metode yang digunakan pada uji ini adalah difusi cakram dan digunakan tiga bakteri patogen yaitu *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus*. Pemilihan bakteri uji ini mewakili bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram negatif (*Eschericia coli* dan *Salmonella typhi*). Selain itu, ketiga bakteri tersebut merupakan bakteri yang sering mengkontaminasi makanan dan merupakan bakteri penyebab gangguan pada saluran pencernaan seperti diare.

Tabel 3. Hasil uji sifat antibakteri bakteriosin

Bakteri Indikator	Zona Hambat (mm)			
	I	II	III	X ± SD
<i>Eschericia coli</i>	8,0	8,2	8,0	8,07 ± 0,115
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,5	11,5	11,3	11,43±0,115
<i>Salmonella typhi</i>	9,0	9,0	9,0	9,0 ± 0

Isolat bakteri asam laktat (BAL) yang memiliki aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Semakin besar zona bening yang terbentuk maka semakin besar aktivitas penghambatan isolat bakteri asam laktat (BAL) terhadap bakteri patogen. Pada tabel berikut disajikan diameter penghambatan isolat bakteri asam laktat (BAL) terhadap bakteri patogen.

Hasil pengujian aktivitas antimikroba menunjukkan bahwa isolat yang teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus*. Daerah hambatan yang dapat diamati melalui zona jernih dapat dipastikan bukan berasal dari asam-asam organik karena supernatan antibakteri telah dinetralkan dengan larutan NaOH. Terhambatnya pertumbuhan bakteri patogen oleh bakteriosin disebabkan karena adanya interaksi elektrostatis bakteriosin yang bermuatan positif dengan lipid membran sitoplasma yang bermuatan negatif. Bagian hidrofobik bakteriosin akan masuk ke dalam membran sitoplasma dengan membentuk pori. Pembentukan pori ini akan menyebabkan kegagalan *proton motive force* (PMF). PMF

merupakan proton yang membentuk energi untuk digunakan dalam berbagai aktifitas sel termasuk metabolisme sel bakteri. Oleh karena itu, kegagalan PMF akan menyebabkan kematian sel melalui penghentian semua reaksi yang membutuhkan energi (Chen *et al.*, 2003).

Hal ini sesuai dengan penelitian Arief *et al.*, (2012) yang melakukan penelitian aktivitas antimikroba bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* terhadap bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus* dan dari penelitian tersebut terbukti, bahwa bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen seperti *E.coli*, *S.aureus*, dan *S.typhi* yang ditandai dengan adanya daya hambat di sekeliling cakram.

Uji aktivitas bakteriosin menggunakan enzim proteolitik bertujuan untuk uji konfirmasi yaitu memastikan bahwa substansi antibakteri yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* merupakan bakteriosin. Sebagai antibakteri, bakteriosin memiliki sifat dapat terdegradasi oleh enzim proteolitik. Karena bakteriosin merupakan protein yang tersusun atas asam

amino membentuk ikatan peptida, oleh enzim ikatan peptida tersebut akan dirusak sehingga aktivitas antibakteri dari bakteriosin akan hilang atau tidak stabil dengan adanya enzim proteolitik (Parada *et al.*, 2007).

Enzim proteolitik yang digunakan adalah enzim Protease K. Hasil yang diamati berupa hilangnya zona jernih sebagai akibat penambahan enzim Protease K pada supernatan antibakteri. Pada isolat *Lactobacillus plantarum* terlihat bahwa pada media tidak terbentuk zona jernih di sekitar cakram. Zona jernih yang hilang akibat perlakuan dengan enzim proteolitik seperti Protease K membuktikan karakteristik umum dari bakteriosin sebagai protein alami. Bakteriosin merupakan protein yang mengandung ikatan disulfida, dengan penambahan enzim proteolitik maka ikatan tersebut dirusak sehingga aktivitas bakteriosin menjadi hilang yang ditandai dengan hilangnya zona jernih (Sari *et al.*, 2011). Sehingga dapat disimpulkan bahwa antibakteri yang dihasilkan oleh isolat *Lactobacillus plantarum* merupakan aktivitas dari bakteriosin.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini, didapatkan bahwa pada minuman *Ce hun tiau* teridentifikasi mengandung bakteri asam laktat (BAL) yang merupakan kelompok *Lactobacillus plantarum* dan memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen, seperti *Escherichia coli* sebesar 8,07 mm,

Staphylococcus aureus sebesar 11,43 mm dan *Salmonella typhi* sebesar 9,0 mm yang merupakan aktivitas dari bakteriosin.

DAFTAR ACUAN

- Arief, I.I., Jenie, B.S.L., Suryati, T., Ayuningtyas, G., Fuziawan, A. (2012). Antimicrobial activity of bacteriocin from indigenous *Lactobacillus plantarum* 2C12 and its application on beef meatball as biopreservative. *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 37(2), 90-96
- Buckle, K.A. (2007). *Ilmu Pangan*. Cetakan keempat. Penerjemah: Hari Purnomo dan Andiono. Jakarta: UI Press
- Chen, H., & D.G.Hoover. (2003). Bacteriocins and their food application. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 82-100
- Cleveland, J., T.J Montville, I.F Nes, M.L Chikindas. (2001). Bacteriocins: Safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71, 1-20
- De Man, J.C., Rogosa, M., Sharpe, M.E. (1960). A Medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135
- Djaja, I. M., Aryastami, N.K. (2000). Pengaruh tempat pengelolaan makanan terhadap kontaminasi makanan di Jakarta Selatan 1999-2000. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*.
- Djaja, I.M. (2008). Kontaminasi *E. Coli* pada makanan dari tiga jenis Tempat

- Pengelolaan Makanan (TPM) Di Jakarta Selatan 2003. *Makara Kesehatan*, 12(1), 36-41
- Fitriyani, I. (2010). Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari buah matang yang berpotensi menghasilkan antimikroba. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Korhonen, J. (2010). *Antibiotic resistance of lactic acid bacteria*. Kuopio: University of Eastern Finland.
- Kusmarwati, A., Ninoek, I., Hermana, I. (2013). Production and characterization of bacteriocin produced by lactic acid bacteria isolated from rusip. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 8(1), 13-22
- Malik, A., Ajitya, K.H., Mahardhika, H., Atiek, S., Maksum, R. (2010). Isolasi dan skrining molekuler bakteri asam laktat pembawa gen glukansukrase dari makanan dan minuman mengandung gula. *Makara Sains*, 14, 63-68
- Parada, J.L., Caron, C.R., Medeiros, A.B., Soccol, C.R. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50, 521-524
- Pratiwi, S. (2008). *Mikrobiologi farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Sari, R., Anita, C., Radji, M., Malik, A. (2011). Skrining bakteriosin dari beberapa galur bakteri asam laktat isolat lokal genus *Streptococcus* dan *Weissella*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 9(2), 116-121
- Sidabutar, A.R., Feliatra, Andi, D. (2015). Uji aktivitas antimikroba bakteriosin dari bakteri probiotik yang diisolasi dari udang windu (*Penaeus monodon Fabricus*). *Jurnal Online Mahasiswa FAPERIKA*, 2(2), 1-13
- Whitman, W.B. (1984). *Bergey's manual of systematic bacteriology III* (2nd ed.). New York: Springer Dordrecht Heidelberg.