

Pengaruh pH, Suhu Dan Salinitas Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Asam Organik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Penaeid

Subagiyo^{1,2*}, Sebastian Margino², Triyanto² dan Wilis Ari Setyati^{1,2}

¹Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH, Tembalang Semarang, Indonesia 50275

²Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Utara, Berek, Yogyakarta, Indonesia 55281
Email : subagiyo_kelautan@yahoo.co.id

Abstrak

Bakteri asam laktat telah lama dikembangkan sebagai probiotik. Penentuan kondisi lingkungan yang optimum untuk pertumbuhan sel serta asam organik memberikan gambaran aktivitas optimum untuk kinerja probiotik baik dalam sistem fisiologi inang maupun dalam sistem bioproses untuk produksi sel dan metabolit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh faktor lingkungan (pH, suhu dan salinitas) terhadap pertumbuhan dan produksi total asam organik tiga isolat bakteri asam laktat yang telah diseleksi dari intestinum udang penaeid. Eksperimen menggunakan medium deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) cair. Perlakuan pH awal meliputi nilai pH 4, 5 dan 6. Perlakuan suhu meliputi suhu 25, 30 dan 35°C serta perlakuan salinitas meliputi salinitas 0,75 %, 1,5 % dan 3 %. Setiap interval 6 jam dilakukan pengambilan sampel kultur bakteri dan penghitungan pertumbuhan berdasarkan perubahan optical density (pada panjang gelombang 600 nm) sedangkan produksi asam laktat dianalisis dengan metode titrimetri menggunakan NaOH 1 N sebagai larutan titrasinya. Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa suhu, pH awal dan salinitas berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi asam organik. Nilai kondisi lingkungan terbaik untuk pertumbuhan dapat berbeda dengan nilai terbaik untuk produksi asam organik. Hal ini ditunjukkan oleh nilai laju pertumbuhan dan produksi asam laktat tertinggi dari tiga isolat uji terjadi pada suhu, pH awal dan salinitas yang berbeda. Isolat L12 tumbuh optimum pada suhu 30°C, pH awal 6 dan salinitas 0,75%. Isolat L14 tumbuh optimum pada suhu 30°C, pH awal 6 dan salinitas 1.5%. Isolat L 21 tumbuh optimum pada suhu 30 °C, pH awal 6 dan salinitas 1.5%.

Kata kunci: bakteri asam laktat, suhu, pH, salinitas, asamorganik, pertumbuhan,

Abstract

Effects Of pH, Temperature And Salinity In Growth And Organic Acid Production Of Lactic Acid Bacteria Isolated From Penaeid Shrimp Intestine

Lactic acid bacteria are widely distributed in intestinal tracts of various animals where they live as normal flora. Strains of lactic acid bacteria are the most common microbes employed as probiotics, The optimum condition for growth are important to mass production and to determined parameters most suitable for growth. The effects of temperature, pH and salinity on the growth and production of lactic acid from the three shrimp intestinal lactic acid bacteria isolates were conducted using batch culture in a flask. These variables for growth were determined based on the growth curves and lactic acid production. Data from the flask batch experiment demonstrated that the best initial pH and temperature for growth of isolat L12, L14 and L21 were found to be pH 6 and 30 °C. Salinity (NaCl concentration) 0,75% were the best for growth of isolat L12. Salinity 1,5 % were best for growth of isolat L14 and L21.

Key words : growth, temperature, pH, salinity, lactic acid bacteria

Pendahuluan

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri yang telah banyak dipelajari dan

dikembangkan sebagai probiotik (Todar, 2012). Bakteri ini mempunyai banyak keunggulan diantaranya adalah (1) menghasilkan senyawa antibakteri terutama bakteriosin (Elayaraja et al.,

2014, Quinto *et al.*, 2014, Hening *et al.*, 2015,) dan asam organik (Suskovic *et al.*, 2010; Okorhi, 2014; Ghaffar *et al.*, 2014), dan beberapa menghasilkan peroksida dan biosurfaktan (Saravanakumari & Mani, 2010) (2) memiliki resistensi terhadap kondisi intestinum (lambung dan usus) (Yang *et al.*, 2015), (3) mampu hidup pada *mucus* intestinal dan melekat pada sel-epitelium intestinal (Ossowski *et al.*, 2010, Yang *et al.*, 2015), (4) diakui sebagai GRAS, sehingga aman bagi inang, (5) banyak digunakan sebagai starter produk bahan makanan olahan fermentatif, (5) mampu menghasilkan enzim pencernaan ekstraseluler (Nandan *et al.*, 2010; Kholif *et al.*, 2011), (6) mampu menstimulasi sistem immunitas intestinal (Wells, 2011).

Bakteri asam laktat merupakan *fastidious organisms*, tumbuh dengan baik pada medium kompleks (Moretro *et al.*, 2000). Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat sangat dipengaruhi oleh komposisi media pertumbuhan dan faktor lingkungannya. Asam laktat diproduksi sebagai metabolit primer (Moretro *et al.*, 2000), sehingga termasuk *growth-associated product*. Maka produksinya mempunyai hubungan linier dengan laju pertumbuhan. Diantara faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi asam laktat adalah pH dan suhu. Setiap spesies bahkan strain dapat memiliki nilai pH dan suhu terbaik yang berbeda untuk pertumbuhan dan produksi asam laktat. Hal ini ditunjukkan diantaranya oleh Abdel-Rahman *et al.* (2013) dan Aghababaie (2014). Demikian juga dengan salinitas (Neysens *et al.*, 2003). Pada penelitian ini dilakukan pengujian pengaruh pH, suhu dan salinitas terhadap pertumbuhan dan produksi asam laktat 3 jenis isolat bakteri asam laktat yang berasal dari intestinum udang penaeid dan telah diseleksi berdasarkan kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri vibrio. Melalui penelitian ini didapatkan informasi nilai pH, suhu dan salinitas terbaik untuk produksi sel bakteri asam laktat dan produksi asam laktat.

Materi dan Metode

Isolat dan Media

Isolat bakteri asam laktat (L12, L14 dan L21) yang digunakan berasal dari intestinum udang penaeid. Isolat bakteri ini diseleksi berdasarkan kemampuan menghambat pertumbuhan vibrio. Media pertumbuhan bakteri asam laktat adalah medium Rogosa and Sharpe (MRS) dengan komposisi Triptone (10.0 g.L⁻¹), ekstrak khamir (5.0 g.L⁻¹), Glukosa (20.0 g.L⁻¹), K₂HPO₄ (2.0 g.L⁻¹), sodium acetate (5.0 g.L⁻¹), MgSO₄·7H₂O (0.2 g.L⁻¹),

MnSO₄·H₂O (0.05 g.L⁻¹), ammonium sulfat (2.0 g.L⁻¹), Tween 80 (1ml.L⁻¹).

Preparasi inokulum

Satu ose biakan miring diinokulasikan ke dalam 20 mL medium MRS cair, pH 7 dalam 100 mL erlenmeyer. Inkubasi pada suhu kamar selama 20 jam, 0,5 % inokulum dipindahkan ke dalam 200 mL médium eksperimen dalam 1000 mL erlenmeyer. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar.

Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan

Medium MRS dalam erlenmeyer diinokulasi dengan starter isolat yang memberikan OD 0,01 pada panjang gelombang 600 nm. Inkubasi pada variasi suhu 25°C, 30°C, 35°C. Sedangkan untuk perlakuan pengaruh pH awal dan salinitas dilakukan dengan cara mengatur pH dan salinitas pada medium MRS masing-masing pada nilai pH 4,5 dan 6 serta salinitas 0,75%, 1,5% dan 3%. Setiap interval 6 jam dilakukan pengambilan sampel sebanyak 10 mL. Selanjutnya dilakukan pengukuran OD pada panjang gelombang 600 nm dan konsentrasi asam laktat

Pengukuran pertumbuhan

Pengukuran pertumbuhan bakteri asam laktat berdasarkan kepadatan sel dengan pendekatan pengukuran kepadatan optic (*optical density* = OD) pada panjang gelombang 600 nm (A₆₀₀). Selanjutnya data OD digunakan untuk menghitung laju pertumbuhan spesifik (μ) menggunakan rumus :

$$\mu = \frac{2,303 (\lg OD_2 - \lg OD_1)}{(t_2 - t_1)}$$

Produksi asam laktat

Kadar asam laktat dalam kultur BAL diukur menggunakan metode titrasi dengan NaOH 1 N sebagai titrannya. Kadar asam laktat (g.L⁻¹) dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{Vol. NaOH titrasi} \times \text{gram.eq.wt LA} \times \text{normalitas NaOH}}{\text{Vol. kultur yang dititrasi}}$$

Hasil dan Pembahasan

Hasil penghitungan laju pertumbuhan menunjukkan bahwa ketiga isolat memiliki nilai laju pertumbuhan spesifik terendah pada suhu 35 °C dan tertinggi pada suhu 30°C (Tabel 1). Hal ini

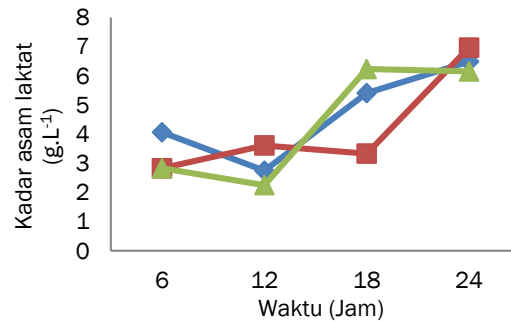
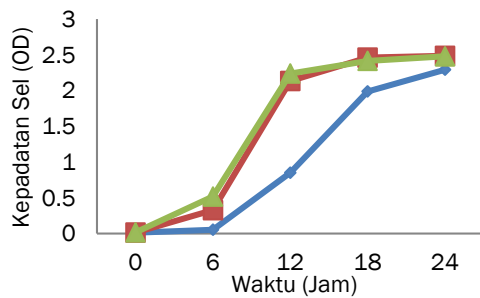
menunjukkan bahwa ke tiga isolat adalah bakteri mesofilik.

Tabel 1. Laju pertumbuhan spesifik (μ) ($OD \cdot jam^{-1}$) isolate pada berbagai suhu

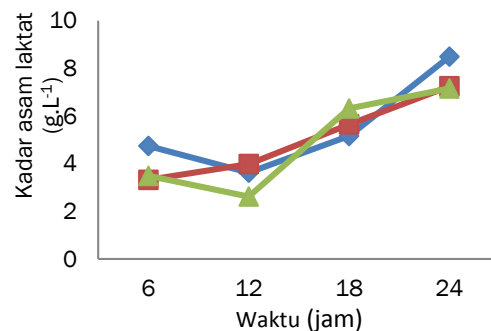
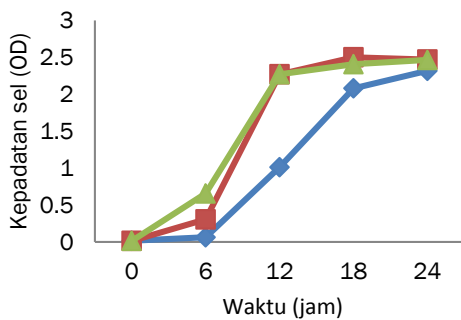
Nilai Suhu ($^{\circ}C$)	Jenis isolat		
	Isolat L12	Isolat L14	Isolat L21
25	0.303103	0.292802	0.302719
30	0.312858	0.334282	0.319467
35	0.244177	0.206946	0.267824

Berdasarkan kurve pertumbuhan (Gambar 1) tampak bahwa selama waktu 6 jam pertama ke tiga isolat masih berada pada fase lag. Selanjutnya masuk ke dalam fase eksponensial hingga jam ke 12 kecuali pada suhu $25^{\circ}C$ terjadi hingga jam ke 18. Kadar asam laktat pada pengamatan jam ke 12 terjadi sedikit penurunan yaitu pada kultur isolat

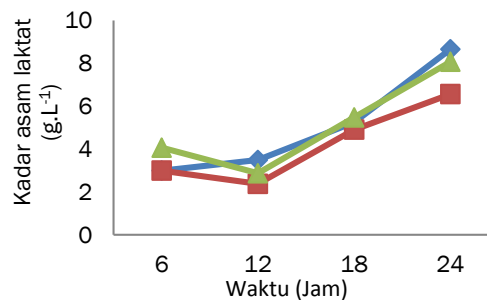
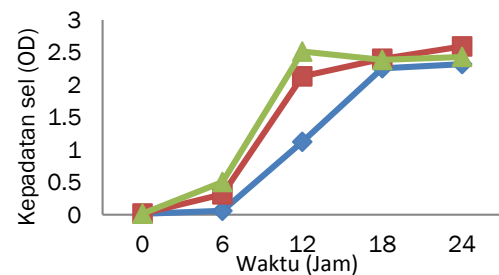
L12 dan isolat L 14 pada suhu $25^{\circ}C$ dan $35^{\circ}C$, dan isolat L21 pada suhu $30^{\circ}C$ dan $35^{\circ}C$. Setelah itu naik secara eksponensial hingga jam ke 24, kecuali pada isolat L12 pada suhu $30^{\circ}C$ yang cenderung konstan hingga jam ke 18. Hal ini menunjukkan bahwa suhu berpengaruh terhadap pertumbuhan sel. Menurut Elias *et al.* (2014) suhu merupakan faktor fisik yang berpengaruh pada laju pertumbuhan melalui pengaruhnya diantaranya terhadap reaksi kimia dan stabilitas struktur molekul protein. Reaksi kimia akan meningkat dengan meningkatnya suhu, karena peningkatan suhu menyebabkan peningkatan energi kinetik reaktan. Pertumbuhan pada hakekatnya adalah hasil metabolisme, suatu reaksi kimia terarah yang berlangsung di dalam sel yang dikatalisis oleh enzim. Maka peningkatan suhu akan menyebabkan peningkatan pertumbuhan hingga suatu saat peningkatan suhu tidak diikuti dengan meningkatnya pertumbuhan.



(a)



(b)



(c)

Gambar 1. Pertumbuhan dan kadar asam laktat isolat L12 (a), L 14 (b) dan L21 (c) pada medium MRS pada berbagai nilai suhu. Ket. : $25^{\circ}C$ = \blacklozenge , $30^{\circ}C$ = \blacksquare , $35^{\circ}C$ = \blacktriangle

Hal ini berkaitan dengan pengaruh suhu terhadap stabilitas konformasi struktur protein enzim. Selain itu juga diketahui bahwa pada proses metabolisme sel didukung oleh penyediaan nutrisi yang berasal dari luar sel. Proses yang terkait dengan *uptake* nutrisi dengan suhu adalah bahwa molekul-molekul yang berukuran besar harus dihidrolisis terlebih diluar sel. Proses ini dikatalisis oleh enzim ekstraseluler yang aktivitasnya juga dipengaruhi oleh suhu. Selain itu ada banyak protein membran dan protein dinding sel yang berperan dalam proses *uptake* nutrisi yang secara fungsional juga dipengaruhi oleh suhu terutama terkait dengan stabilitas strukturalnya. Selain itu menurut Nedwell (1999) pengaruh suhu terhadap *uptake* nutrisi terjadi melalui mekanisme perubahan afinitas mikroorganisme terhadap nutrisi. Perubahan ini terjadi karena pengaruh perubahan suhu terhadap karakteristik lipid penyusun membran sel, terutama fluiditas membran, dan sistem energetika transport aktif yang juga terdapat pada sistem membran sehingga akan menyebabkan gangguan pada transport aktif.

Produksi asam laktat antar isolat menunjukkan pola yang bervariasi. Pada isolat L12, L14 dan L21 kadar asam laktat tertinggi terjadi pada waktu fermentasi 24 jam masing-masing pada suhu 30°C, 25°C dan 30°C. Selisih kadar asam laktat antara suhu 30 dengan 25 dan 35 pada isolat L12 adalah 7,39% dan 13,29%. Sedangkan pada isolat L14 selisih kadar asam laktat antara suhu 25 dengan 30 dan 35 adalah 17,16% dan 18,65%. Pada isolat L21 selisih kadar asam laktat antara suhu 30 dengan 25 dan 35 adalah 31, 89% dan 7,25%. Pengaruh suhu terhadap produksi asam laktat juga ditunjukkan antara lain oleh Wang et al, (2015), Nagarjun (2015). Berdasarkan pola pertumbuhan dan kadar asam laktat tampak dimungkinkan kondisi terbaik untuk pertumbuhan dan produksi asam laktat tidak sama.

Berdasarkan kurve pertumbuhan pada berbagai nilai pH (Gambar 2) tampak bahwa ke tiga isolat menunjukkan lama fase lag yang sama yaitu hingga jam ke 6 selanjutnya masuk ke fase eksponensial hingga jam ke 18. Laju pertumbuhan spesifik tertinggi pada ketiga isolat terjadi pada pertumbuhan dengan pH awal 5 dan terendah pada pH awal 4 (Tabel 2). Grafik kadar asam laktat dari ketiga isolat (Gambar 2) menunjukkan terjadi penurunan pada pengamatan jam ke 12, kecuali isolat L12 pada pH awal 4 tidak mengalami penurunan. Selanjutnya meningkat secara eksponensial hingga jam ke 24.

Penentuan pengaruh pH awal penting untuk dilakukan karena pH awal kultur berpengaruh pada

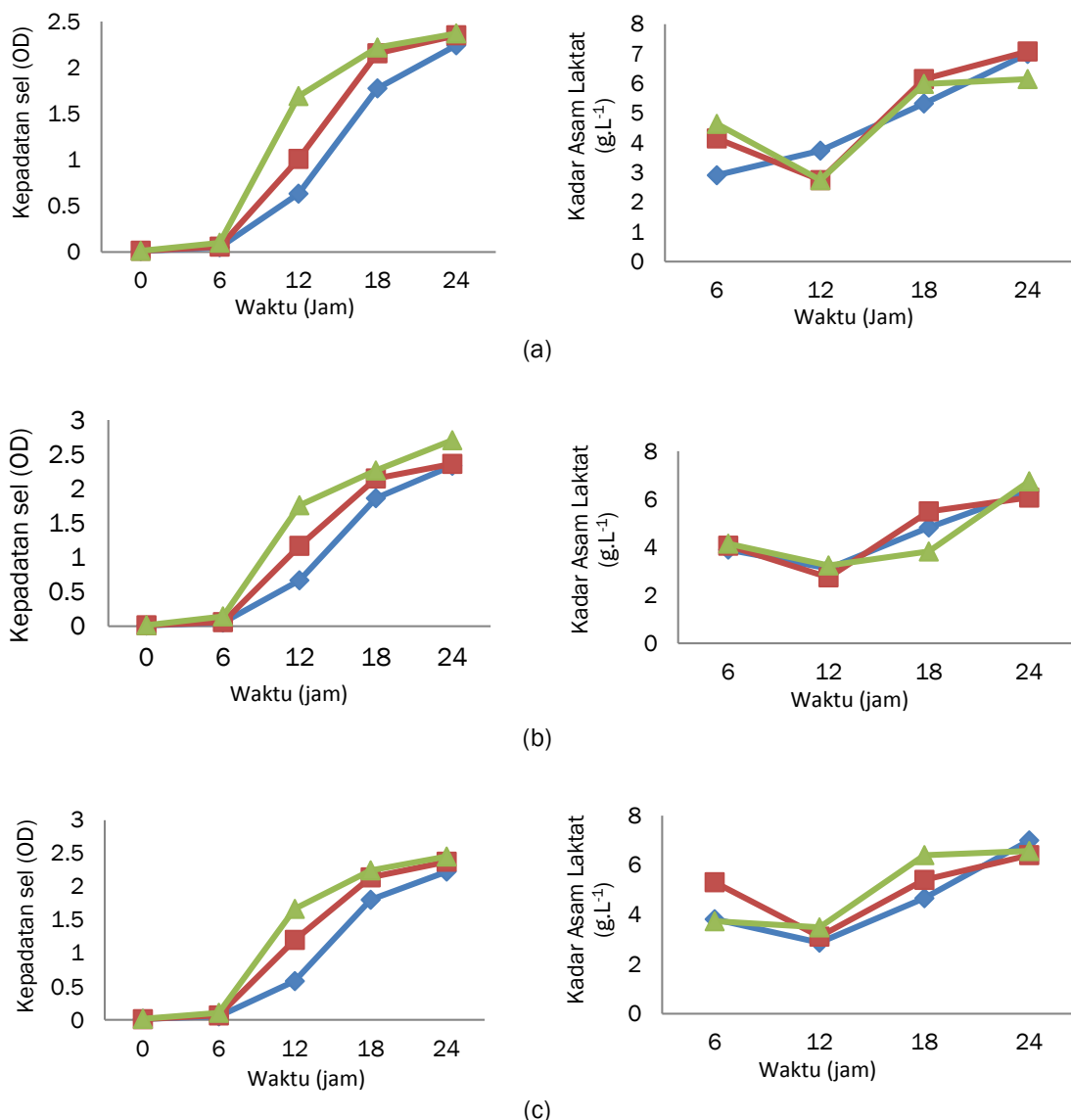
Tabel 2. Laju pertumbuhan spesifik (μ) (OD/jam) isolate pada berbagai nilai pH awal

Nilai pH	Jenis isolat		
	Isolat L12	Isolat L14	Isolat L21
4	0,41985	0,42321	0,399721
5	0,476461	0,499618	0,480158
6	0,470848	0,418708	0,45934

laju pertumbuhan spesifik. Pengaruh pH awal terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat ditunjukkan diantaranya oleh hasil penelitian Zhang et al., (2012), Okerentugba et al., (2015), dan Nagarjun, (2015). Hasil penelitian ini diperoleh bahwa pH awal 6 menghasilkan kepadatan sel yang paling tinggi sedangkan pH awal 4 menghasilkan kepadatan sel terendah pada waktu fermentasi 18 jam. Kepadatan sel isolat L12, L14 dan L24 menghasilkan kepadatan yang lebih tinggi dari pH 4 sebesar 24,98%, 21,65% dan 24,48% pada waktu 18 jam fermentasi dan sebesar 5,7%, 1,5% dan 1,02% pada waktu 24 jam fermentasi.

Pengaruh pH awal terhadap produksi asam laktat menunjukkan nilai yang bervariasi antar isolat dan antar waktu fermentasi. Pada isolat L12 kadar asam laktat tertinggi dihasilkan pada pH awal 5 pada lama waktu fermentasi 24 jam. Sedangkan pada isolat L14 kadar asam laktat tertinggi diperoleh pada pH awal 5 dengan lama waktu fermentasi 18 jam dan pada pH awal 6 dengan lama waktu fermentasi 24 jam. Pada isolat L21 kadar asam laktat tertinggi dicapai pada pH awal 4 dengan lama waktu fermentasi 24 jam, tetapi pada lama waktu fermentasi 18 jam produksi tertinggi ditunjukkan oleh pH awal 6. Nagarjun et al. (2015) melaporkan pH awal optimum untuk produksi asam laktat oleh bakteri *Lactobacillus amylovorus* NRRL B- 4542 adalah 8,5.

Pengaruh pH terhadap pertumbuhan dan produksi asam laktat terjadi diantaranya melalui 2 mekanisme yaitu (1) Penurunan nilai pH akibat akumulasi asam organik mengubah keadaan fisiologis sel. Pengasaman sitoplasmik menyebabkan penghambatan aktivitas enzim, akibatnya fluks katabolik melalui glikolisis berkurang sehingga laju sintesis energi biokimia menurun. Penurunan produksi energi bersamaan dengan peningkatan penggunaan energi untuk mengatasi pengasaman sitoplasma menyebabkan energi untuk sintesis biomassa menjadi terbatas. Dalam kondisi ini, laju pertumbuhan spesifik menurun secara progresif, dan pertumbuhan akhirnya berhenti. Respon seluler terhadap fenomena ini adalah mempertahankan mRNA gen-gen katabolik pada tingkat yang signifikan, melalui transkripsi gen



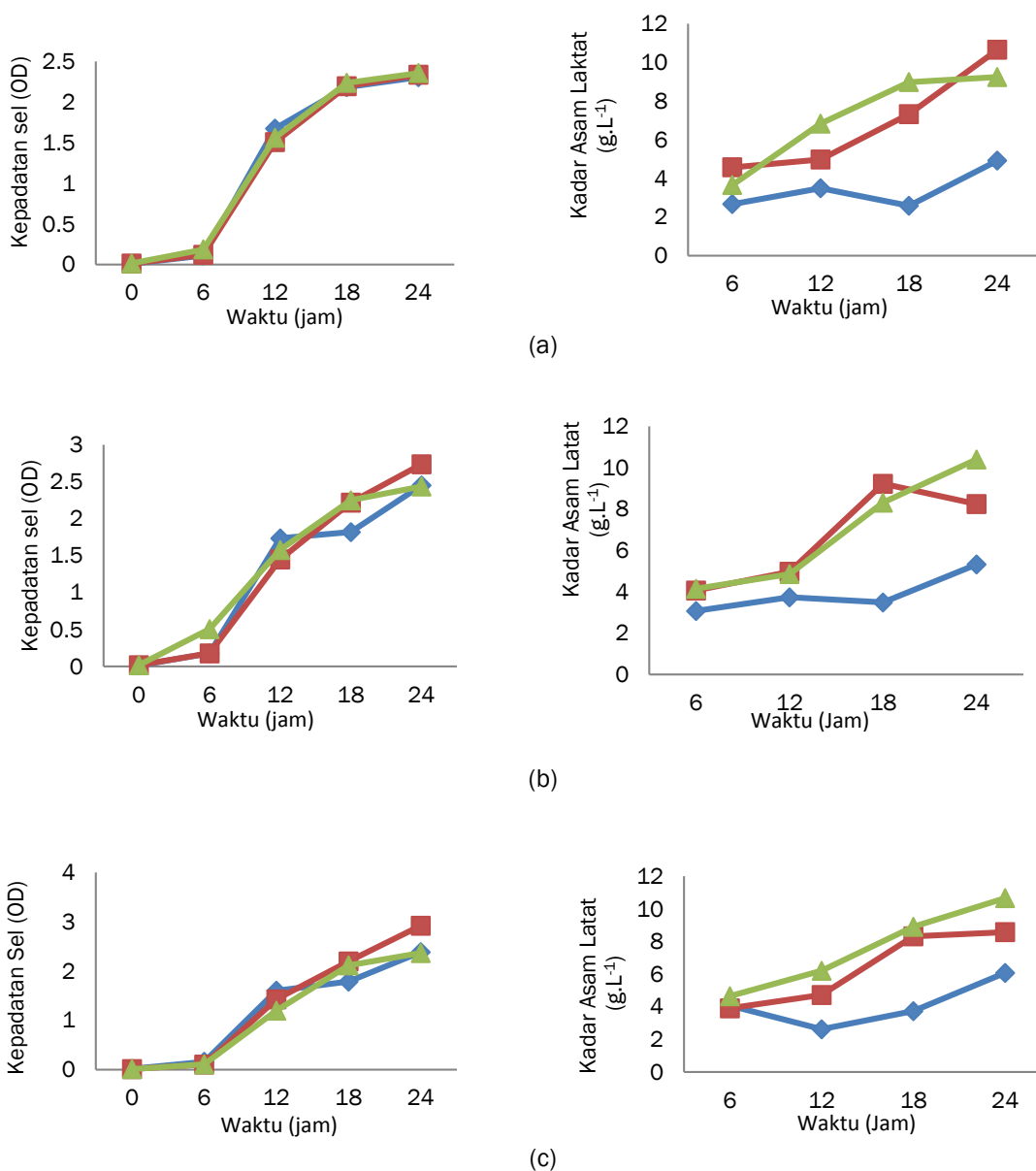
Gambar 2. Pertumbuhan dan kadar asam laktat isolat L12 (a), L 14 (b) dan L21 (c) pada medium MRS dengan penambahan berbagai nilai pH. Ket. pH 4 = ◆, pH 5= ■, pH 6 = ▲

dan meningkatkan stabilitas transkrip. Jadi translasi dipertahankan dan konsentrasi intraseluler enzim-enzim tertentu ditingkatkan, sebagai kompensasi secara parsial terhadap aktivitas penghambatan akibat penurunan pH (Even *et al.*, 2002). (2) Stres asam laktat mengubah profil ekspresi gen. Hasil penelitian Xie *et al.* (2004) menunjukkan terjadi perubahan ekspresi 50 gen akibat stress asam laktat, yaitu 24 gen yang diinduksi dan 26 gen yang lain ditekan

Kurve pertumbuhan bakteri asam laktat isolat L12, L14 dan L21 pada medium MRS dengan berbagai nilai salinitas (Gambar 3) menunjukkan bahwa ketiga isolat memasuki fase lag hingga jam ke 6, dan selanjutnya masuk ke fase eksponensial

hingga jam ke 18, kecuali isolat L 14 dan L21 fase eksponensial pada salinitas 1,5% teramati hingga jam ke 24.

Laju pertumbuhan spesifik tertinggi dari ketiga isolat bakteri asam laktat ini terjadi pada nilai salinitas yang berbeda (Tabel 9). Laju pertumbuhan spesifik tertinggi isolat L12, L14 dan L21 berturut-turut adalah 0,75%, 0,75% dan 3%. Sedangkan laju pertumbuhan spesifik terendah untuk masing-masing isolat adalah salinitas 3%, 3% dan 0,75%. Berdasarkan perubahan kadar asam laktat pada isolat L12, L14 dan L21 menunjukkan bahwa pertumbuhan pada salinitas 0,75 % menghasilkan asam laktat yang paling rendah.



Gambar 3. Kurve pertumbuhan dan kadar asam laktat isolat L12 (a), L 14 (b) dan L21 (c) pada medium MRS dengan penambahan berbagai nilai salinitas. Ket. sal 0,75% = ◆ , sal 1,5% = ■ , sal 3% = ▲

Salinitas berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini laju pertumbuhan tertinggi pada isolat L12 terjadi pada salinitas 0,75 %. Pada kondisi ini laju pertumbuhan spesifik L12 lebih tinggi 27,51% dari salinitas 3% dan lebih tinggi 3,00% dari salinitas 1,5%. Pada isolat L14 laju pertumbuhan spesifik tertinggi terjadi pada salinitas 0,75% . Laju pertumbuhan ini 100,40% lebih tinggi daripada laju pertumbuhan pada salinitas 3 % dan 2,99% lebih tinggi daripada salinitas 1,5%. Sedangkan isolat L21 laju pertumbuhan spesifik tertinggi terjadi pada salinitas 1,5%. Laju pertumbuhan spesifik pada kondisi ini 134% lebih

tinggi daripada salinitas 0,75 5 dan 8,60% lebih tinggi daripada salinitas 3%. Pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat ditunjukkan diantaranya oleh hasil penelitian Neysens *et al.* (2003) terhadap *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 dan -Okerentugba *et al.* (2015) terhadap *Lactobacillus plantarum* subsp *plantarum*

Salinitas selain berpengaruh kepada laju pertumbuhan juga berpengaruh pada produksi asam laktat. Pada penelitian ini produksi asam laktat tertinggi terjadi pada salinitas 1,5% , dan 3%. Pada isolat L12 produksi asam laktat pada salinitas

Tabel 3. Laju pertumbuhan spesifik (μ) (OD.jam⁻¹) isolat pada berbagai nilai salinitas

Salinitas (%)	Jenis isolat		
	Isolat L12	Isolat L14	Isolat L21
0,75	0,453227	0,380408	0,385087
1,5	0,423202	0,350438	0,437064
3	0,355447	0,189821	0,402437

1,5% lebih tinggi 116,79% daripada salinitas 0,75% dan 15,29% lebih tinggi daripada salinitas 3%. Produksi asam laktat tertinggi pada isolat L14 terjadi pada salinitas 3%. Produksi ini lebih tinggi 95,35% daripada salinitas 0,75% dan 26,21% lebih tinggi daripada salinitas 1,5%. Sedangkan produksi asam laktat pada isolat L21 tertinggi terjadi juga pada salinitas 3%. Jika dibandingkan dengan produksi asam laktat pada salinitas 0,75% dan 1,5% tampak bahwa produksi asam laktat pada salinitas 3% lebih tinggi 75,43% dibandingkan dengan salinitas 0,75% dan 24,32% lebih tinggi dibandingkan salinitas 1,5%.

Berdasarkan hasil pengamatan laju pertumbuhan dan produksi asam laktat tampak bahwa salinitas terbaik untuk pertumbuhan dapat berbeda dengan salinitas terbaik untuk produksi asam laktat. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Kobayashi *et al.* (2004) pertumbuhan tertinggi *Tetragenococcus halophilus* dalam medium MRS cair tertinggi terjadi pada penambahan NaCl 3 dan 7 %, sedangkan *T. muricatus* tumbuh paling baik pada NaCl 7%. Tetapi *T. muricatus* dan *T. halophilus* menghasilkan konsentrasi asam laktat tertinggi pada kadar NaCl 15%.

Kesimpulan

Suhu, pH dan salinitas berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi asam laktat 3 bakteri uji. Selain itu hasil pengamatan laju pertumbuhan dan produksi asam laktat tampak bahwa kondisi terbaik untuk pertumbuhan dapat berbeda dengan kondisi terbaik untuk produksi asam laktat

Daftar Pustaka

Abdel-Rahman M.A., Y. Tashiro & K. Sonomoto. 2013. Recent Advances In Lactic Acid Production By Microbial Fermentation Processes. *Biotechnol. Adv.* 31: 877-02.

Aghababaie, M., M. Beheshti & M. Khanahmadi. 2014. Effect of Temperature and pH on

Formulating the Kinetic Growth Parameters and Lactic Acid Production of *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Nutr. Food Sci.* 1:49-56

Elayaraja, S., N. Annamalai, P. Mayavu & T. Balasubramanian. 2014. Production, Purification And Characterization Of Bacteriocin From *Lactobacillus murinus* AU06 and Its Broad Antibacterial Spectrum. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 4:305-311. doi: 10.12980/APJTB.4.2014C537

Elias, M., G. Wieczorek, S. Rosenne & D. S. Tawfik, 2014. The universality of enzymatic rate temperature dependency. *Trends Biochem. Sci.* 39:1-7. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2013.11.001>

Even S, N.D. Lindley, P. Loubière & M. Coccagn-Bousquet. 2002 Dynamic Response Of Catabolic Pathways To Autoacidification In *Lactococcus lactis*: Transcript Profiling And Stability In Relation To Metabolic And Energi Constraints. *Mol. Microbiol.* 45:1143-52.

Ghaffar, T., M. Irshad, Z. Anwar, T. Aqil, Z. Zulifqar, A. Tariq, M. Kamran, N. Ehsan & S. Mehmood, 2014. Recent Trends In Lactic Acid Biotechnology: A Brief Review On Production To Purification. *J. Rad. Res. Appl. Sci.* 7: 222-229

Henning, C., P. Vijayakumar, R. Adhikari, B. Jagannathan, D. Gautam & P. M. Muriana, 2015. Isolation And Taxonomic Identity Of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria From Retail Foods And Animal Sources. *Microorganisms.* 3:80-93. doi: 10.3390/microorganisms3010080

Kholif, A.M., G.A. Mahran, M.A. El-Nawawy, A.A. Ismail & W.M. Zaky. 2011. Evaluation Of Proteolytic Activity Of Some Dairy *Lactobacilli*. *World J. Dairy Food Sci.* 6:21-26.

Kobayashi, T., M. Kajiwaru, M. Wahyuni, N. Hamada-Sato, C. Imada & E. Watanabe. 2004. Effect Of Culture Conditions On Lactic Acid Production of *Tetragenococcus* species. *J. Appl. Microbiol.* 96:1215-1221

Moretro, T., I.M. Aasen, I. Storro & L. Axelsson, 2000, Production Of Sakacin P by *Lactobacillus sakei* In A Completely Defined Medium. *J. Appl. Microbiol.* 88:536-545.

Nagarjun, P.A. 2015, Parametric Optimization Of Lactic Acid Production And Its Scale Up Using Free And Immobilized Cells Of *Lactobacillus amylovorus* NRRL B- 4542 , *Int. J. Pure Appl.*

- Biosci.* 3 :159-168, doi: <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.2124>
- Nandan, A., A. Gaurav, A. Pandey & K.M. Nampoothiri. 2010. Arginine Specific Aminopeptidase From *Lactobacillus brevis*. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 53:1443-1450.
- Nedwell, D.B. 1999. Effect Of Low Temperature On Microbial Growth: Lowered Affinity For Substrates Limits Growth At Low Temperature. *FEMS Microbiol. Ecol.* 30:101-111, doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6941.1999.tb00639.x> 101-111
- Neysens, P., W. Messens & L. De Vuyst. 2003. Effect of sodium chloride on growth and bacteriocin production by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471. *Int. J. Food. Microbiol.*, 88:29-39
- Okerentugba P.O., I.O. Ijeoma & N.A. Oranusi. 2015. *Lactobacillus plantarum* subsp *plantarum*: Influence Of Growth Parameter On Bacteriocin Production And Characterization. *Nat Sci.* 13:75-82. doi: 10.7537/marsnsj131215. 10
- Okorhi, B.F. 2014. Anti-Pseudomonas Activity Of Organic Acids Produced By Lactic Acid Bacteria. *Issues Biol. Sci. Pharma. Res.* 2:106-114. doi: <http://dx.doi.org/10.15739/ibspr.004>
- Ossowski, I., J. Reunanen, R. Satolari, S. Vesterlund, M. Kankainen, H. Huhtinen, S. Tynkkynnen, S. Salminen, W.M. De Vos & A. Palva. 2010. Mucocal Adhesion Properties Of The Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG SpaCBA and SpaFED pilin subunits. *App. Env. Microbiol.* 76:2049-2057.
- Quinto, E.J., P. Jiménez, I. Caro, J. Tejero, J. Mateo & T. Girbés, 2014, Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review. *Food Nutr. Sci.* 5:1765-1775. doi: <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2014.518190>
- Saravanakumari, P. & K. Mani, 2010, Structural Characterization Of A Novel Xylo lipid Biosurfactant From *Lactococcus lactis* And Analysis Of Antibacterial Activity Against Multi-Drug Resistant Pathogens, *Bioresour. Technol.*, 101:8851-8854.
- Suskovic J., B. Kos, J. Beganovic, A. L. Pavunc, K. Habjanic & S. Matosic. 2010. Antimicrobial Activity The Most Important Property Of Probiotic And Starter Lactic. *Food Technol. Biotechnol.* 48:296-307.
- Todar, K, 2012, Textbook of Bacteriology, www.textbookofbacteriology.net
- Wang, J., Q. Wang, Z. Xu, W. Zhang & J. Xiang, 2015. Effect of Fermentation Conditions on L-Lactic Acid Production from Soybean Straw Hydrolysate. *J. Microbiol. Biotechnol.* 25:26-32. doi: <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1405.05025>
- Wells. J.M. 2011. Immunomodulatory Mechanisms Of *Lactobacilli*. *Wells Microbial Cell Factories*, 10:1-17.
- Xie, Y., C. Lan-szu, A. Cutler & B. Weimer. 2004. DNA Macroarray Profiling Of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL1403 Gene Expression During Environmental Stresses. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:6738-6747
- Yang, F., C. Hou, X. Zeng, S. Qiao, 2015, Review ,The Use of Lactic Acid Bacteria as a Probiotic in Swine Diets. *Pathogens.* 4:34-45. doi: 10.3390/pathogens4010034
- Zhang J, Y. Zhang , S.N. Liu , Y. Han & Z.J. Zhou. 2012. Modelling Growth And Bacteriocin Production By *Pediococcus acidilactici* PA003 As A Function Of Temperature and pH value, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 166:1388-400. doi: 10.1007/s12010-011-9532-4