

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI USUS UDANG PENGHASIL BAKTERIOSIN SEBAGAI AGEN ANTIBAKTERIA PADA PRODUK-PRODUK HASIL PERIKANAN

Romadhon¹, Subagiyo², Sebastian Margino³

¹Staf Pengajar Program Studi Teknologi Hasil Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Program Studi Ilmu Kelautan Jurusan Kelautan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro

³Staf Pengajar Program Studi Mikrobiologi Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada

Masuk : 27 Juni 2012, diterima : 21 Juli 2012

ABSTRAK

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah besar. Ciri-ciri bakteri asam laktat secara umum adalah selnya bereaksi positif terhadap pewarnaan Gram, bereaksi negatif terhadap katalase dan tidak membentuk spora. Dan fermentasi glukosa akan dihasilkan asam laktat. Isolasi bakteri asam laktat dilakukan pada usus dari 3 jenis udang yaitu Udang Windu (*Penaeus monodon*), Udang Seker (*Metapenaopsis*), Usus udang Putih (*Penaeus merguensis*). Seleksi bakteri asam laktat penghasil bakteriosin secara kualitatif dan semi kuantitatif (sumuran) pada medium MRS. Isolat terpilih diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologi, biokimia, fisiologis, Sejumlah 209 isolat berhasil diisolasi dari 3 jenis udang. Hasil seleksi kualitatif yang menghasilkan bakteriosin ada 54 isolat. Hasil seleksi kuantitatif dari 54 isolat dihasilkan 24 isolat yang bagus. Dari 24 isolat ada 2 isolat unggulan yaitu SFE-7(33) dan P12A(25). Karakteristik isolat unggulan memiliki ciri-ciri secara morfologi bentuk bulat, susunan sel tetrad, gram positif, motilitas negatif. Sedangkan hasil pendekatan secara biokimia gram negatif, katalase negatif, homofermentatif (tidak ada gas pada fermentasi glukosa), dapat memfermentasi D-Galaktosa, D-Glukosa, D-mannosa, D-Laktose. Pada pendekatan fisiologis pertumbuhan terhadap isolat SFE-7(33) dan P12A(25) dapat dihasilkan bahwa kedua isolat mampu hidup pada kisaran suhu 4°C sampai 50°C, pada kisaran pH antara 4-10, dan mampu tumbuh pada kadar NaCl 5-10%. Berdasarkan ciri-ciri tersebut dapat disimpulkan isolat unggulan tersebut adalah *Pediococcus acidilactici*

Kata kunci : Bakteri Asam Laktat, usus udang, *Pediococcus acidilactici*

ABSTRACT

*Lactid Acid bacteria are capable of fermenting sugars or carbohydrates to produce lactic acid in large numbers. The characteristics of lactic acid bacteria in general are cells reacted positively to the Gram stain, catalase react negatively and do not form spores. And fermentation of glucose would result laktat acid. Isolation of lactic acid bacteria carried in the intestines of three species of shrimp that Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*), shrimp Seker (*Metapenaopsis sp.*), Guts White shrimp (*Penaeus merguensis*). Selection of bacteriocin-producing lactic acid bacteria were in a qualitative and semi-quantitative (pitting) in MRS medium. Selected isolates were identified by morphological characteristics, biochemical, physiological, A number of 209 isolates were isolated from three species of shrimp. The results of the qualitative selection there were 54 isolates produced bacteriocins. The results of the quantitative selection of 54 isolates produced 24 fine isolates. From the 24 isolates there are 2 isolates seed SFE-7 (33) and P12A (25). Characteristics of seed isolates had morphological characteristics of spherical shape, cell arrangement tetrad, gram positive, negative motility. While the results of the biochemical approach to gram-negative, catalase negative, homofermentative (no gas in the fermentation of glucose), can ferment D-Galactose, D-Glucose, D-mannose, D-lactose. Physiological approaches to isolate growth SFE-7 (33) and P12A (25) can be generated that both isolates able to live in the range of 4 ° C to 50 ° C, in the range of pH between 4-10, and able to grow at levels of 5-10% NaCl . Based on these characteristics can be inferred featured isolates was *Pediococcus acidilactici**

Key words: *Lactid Acid Bacteria, intestine of shrimp, Pediococcus acidilactici*

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah besar. Ciri-ciri bakteri asam laktat secara umum adalah selnya bereaksi positif terhadap pewarnaan Gram, bereaksi negatif terhadap katalase dan tidak membentuk spora. Dan fermentasi glukosa akan dihasilkan asam laktat. Tipe fermentasi bakteri asam laktat meliputi homofermentatif yaitu yang hasil fermentasinya hanya asam laktat dan heterofermentatif yang hasil fermentasinya di samping asam laktat ada asam organik lainnya seperti asetat, gas CO₂, dan etanol. Beberapa marga bakteri asam laktat adalah *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Leuconostoc*, dan *Lactococcus*. (Mitsuoka 1989; Widyastuti, 1999)

Bakteriosin sebagai agen biopreservatif sangat potensial digunakan untuk mengendalikan beberapa bakteri kontaminan, tetapi secara komersial ketersediaannya masih sedikit dan harganya mahal. Di lain pihak koleksi BAL di Indonesia dapat dimanfaatkan untuk produksi bakteriosin tersedia cukup banyak. Oleh karena itu penelitian produksi bakteriosin dari beberapa sumber BAL yang potensial perlu dilakukan. (Usmiati, 2007). Sebagai upaya untuk meningkatkan peran bakteriosin sebagai bahan pengawet maka perlu di cari sumber-sumber isolat BAL yang baru sebagai penghasil bakteriosin. Pada penelitian ini bakteriosin diisolasi dari usus udang yang berasal dari laut. Kelebihan bakteriosin dari usus udang karena udang mencari makan di dasar perairan (*benthic*) dan udang merupakan hewan pemakan segala macam bangkai (*omnivorous scavenger*) atau pemakan detritus dan karnivora yang memakan krustacea kecil, *amphipoda*, dan *polychaeta* sehingga dimungkinkan dalam ususnya banyak mengandung BAL. Menurut Buntin *et al*, 2008 mengatakan air tawar dan air laut merupakan sumber dari BAL sehingga usus udang dan binatang lain dalam air merupakan tempat penyimpanan (reservoir) alami bagi BAL.

Pada penelitian ini diharapkan bakteri asam laktat penghasil bakteriosin dapat diisolasi dari usus udang dan dapat diketahui karakteristik yang dihasilkan.

MATERI DAN METODE

1. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Udang

Isolasi

Bakteri asam laktat diisolasi dari saluran pencernaan udang (hasil tangkapan) menggunakan teknik pengenceran-taburan (dilution series-pour-plate) pada medium MRS. Persiapan sampel udang

dilakukan pertama-tama sterilisasi permukaan tubuh menggunakan 0,1 % *benzylkonium chloride* untuk menghilangkan bakteri yang ada. Kemudian Udang diiris dari dorsal ke anus dengan pisau steril, lalu untuk mengambil usus dilakukan dengan pinset steril. Usus udang kemudian diletakkan dalam cawan petri dan dicuci dengan aquadest steril. Usus yang sudah ditimbang seberat 1 gram dihancurkan dan disuspensikan ke dalam air pengenceran steril. Air untuk pengenceran menggunakan air laut dan aquadest steril dengan perbandingan 70% dan 30%. Selanjutnya dilakukan pengenceran 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ dan 10⁻⁴. Pada pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻⁴ ditanam dengan teknik *pour plate* dalam 20 mL MRS agar ditambah dengan CaCO₃ 1% dan Na azide 0,01%. Inkubasi dilakukan secara aerob selama 24-48 jam pada suhu 37°C. isolat yang menghasilkan zona jernih kemudian ditumbuhkan dalam MRSB lalu di pindah kedalam media miring untuk persiapan tahap selanjutnya. (Todorov and Dicks, 2004)

2. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Morfologi

a. Makroskopis

Karakteristik bakteri asam laktat secara morfologi dapat diamati secara makroskopis (mata telanjang) dan mikroskopik (menggunakan mikroskop). Secara visual dapat diamati karakteristik dari koloni bakteri asam laktat meliputi : bentuk koloni, elevasi, bentuk tepi, struktur dalam, pertumbuhan pada media miring, dan motilitas

b. Mikroskopis

Secara makroskopis bakteri asam laktat dapat kita amati : bentuk sel, susunan sel dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x.

Biokimia

a. Pengecatan Gram

Pengecatan Gram dilakukan pada kultur bakteri umur 24 jam yang ditumbuhkan pada media MRS padat. Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif akan memberikan warna ungu ketika di beri cat Gram. Warna ungu tersebut terjadi karena dinding sel bakteri mengikat cat kristal violet (Gram A) yang diperkuat oleh iodine (Gram B) dan kristal violet tersebut tidak akan hilang pada waktu diberi cat peluntur (Gram C), sehingga tidak terpengaruh pada saat diberi cat penutup (Gram D) yang berwarna merah. Dari hasil pengecatan gram ini juga dapat digunakan untuk melihat bentuk dan susunan sel bakteri asam laktat. Pengamatan dilakukan pada perbesaran 1000x. Hasil pengamatan dimikroskop didapatkan bakteri dengan bentuk batang dan kokus atau bulat. Sedangkan susunan selnya kebanyakan berantai dan menggerombol.

b. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan kurang lebih 2 tetes H₂O₂ 3% pada kultur yang berumur 24 jam. Reaksi positif uji katalase ditunjukkan dengan membentuk gelembung-gelembung yang berarti ada pembentukan gas Oksigen (O₂) sebagai hasil pemecahan H₂O₂ oleh enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri tersebut. Bakteri asam laktat termasuk bakteri katalase negatif sehingga hasil reaksi uji katalase tidak terbentuk gelembung udara yang berarti tidak terbentuk gas.

c. Tipe Fermentasi

Uji tipe fermentasi digunakan untuk menggolongkan bakteri asam laktat ke dalam kelompok homofermentatif atau kelompok heterofermentatif. Uji dilakukan dengan cara menumbuhkan kultur bakteri pada MRS cair dalam tabung reaksi yang berisi tabung Durham. Inkubasi selama 2 hari pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan melihat terbentuknya gelembung udara pada tabung Durham.

d. Fermentasi Gula

Sedangkan uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan menggunakan sumber karbon yaitu glukosa, D-galaktosa, gliserol, D-fruktosa, D-manosa, D-sorbitol, D-laktosa, D-saccharose. Masing-masing sumber karbon 5gr/l dicampur dengan MRSB. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi tabung Durham sebanyak 8 ml. lalu isolat berumur 24 jam dimasukkan ke dalam tabung dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 hari.

Fisiologis

Karakteristik secara fisiologis pada penelitian ini untuk mengamati pertumbuhan isolat bakteri asam laktat terhadap perbedaan suhu dan pH.

a. Suhu

Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan isolat penghasil bakteriosin dilakukan dengan cara inkubasi bakteri dalam MRS Broth pada suhu 4°C, 10°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, dan 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan ditandai adanya kekeruhan pada media MRS Broth.

b. pH

Pengaruh pH terhadap isolat dilakukan dengan menumbuhkan isolat dalam MRSB dengan variasi pH awal 2, 4, 6, 8,10 dengan penambahan 1 N NaOH atau 1 N HCL kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Pertumbuhan ditandai adanya kekeruhan pada media MRS Broth.

c. Kadar garam

Sedangkan pengaruh isolat penghasil bakteriosin terhadap kadar garam dengan cara isolat ditumbuhkan dalam MRSB dengan variasi kadar NaCl 5%, 8%, 10%, 18% selama 24 hari. Pengamatan pertumbuhan bakteri dilakukan dengan melihat kekeruhan yang nampak

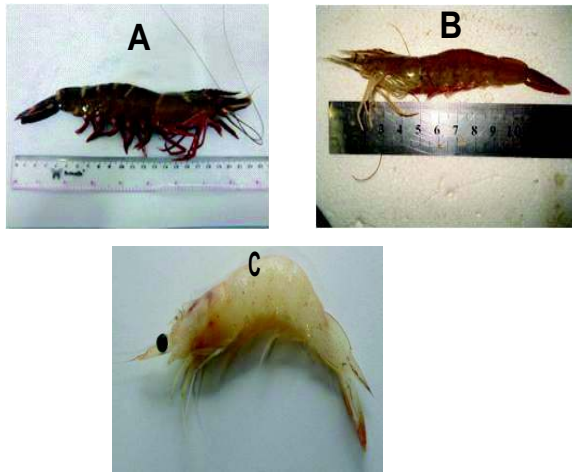
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Isolat bakteri asam laktat berasal dari usus udang yang di tangkap di laut. Sampel udang diperoleh di daerah Jepara dan Semarang. Persiapan sampel dilakukan dengan membersihkan udang dengan aquadest steril kemudian udang dibelah dengan pisau dan gunting steril, setelah diambil ususnya kemudian ditumbuk dengan mortal steril lalu ditimbang seberat 1 gram. Proses isolasi menggunakan metode pengenceran. Sampel yang diperoleh diencerkan hingga 10⁻⁶ kemudian ditumbuhkan pada media MRS agar dengan metode pour plate. Sampel diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37 °C. Isolat yang tumbuh segera dimurnikan dan dipindahkan pada medium MRS miring sebagai stok. Hasil isolasi disajikan pada tabel 1

Tabel 1. Isolasi bakteri asam laktat dari usus udang

Sumber isolasi	Kode sampel	Lokasi	Jumlah isolat
Usus Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i>)	W1A, W2A, W3-1, W3E6, W3E-1	Jepara	103
Usus Udang Seker (<i>Metapenaopsis</i>)	J, Q, SJ-1, SJ-2, SJE-5, SFE-7, SJE-1	Semarang	68
Usus udang Putih (<i>Penaeus merguensis</i>)	P12A, P12B	Semarang	38
Total			209



Gambar 1. a) Udang Windu (*Penaeus monodon*),
 b) Udang Seker (*Metapenaeopsis*),
 c) Udang Putih (*Penaeus merguensis*)

Beberapa penelitian tentang Bakteri Asam Laktat dari usus udang telah dilaporkan. Bakteri Asam Laktat jenis *Lactobacillus plantarum* dari usus udang Windu (*Penaeus monodon*) berhasil diisolasi oleh (Karthikeyan and Santosh, 2009). Kemudian Sebanyak 202 isolat Bakteri asam Laktat diisolasi dari usus udang antara lain jenis *Litopenaeus vannamei*, *Metapenaeus brevicornis* and *Penaeus merguensis* (Kongnum and Hongpattarakere, 2012).

2. Seleksi isolat penghasil bakteriosin

Isolat yang diperoleh hasil isolasi sebanyak 209 isolat kemudian di seleksi. Seleksi pada isolat dilakukan dengan metode *paper disk*. Setelah ditemukan zona jernih kemudian dilakukan seleksi lanjutan yaitu seleksi kualitatif berdasarkan aktivitas bakteriosin dan seleksi secara kuantitatif yang berdasarkan aktivitas bakteriosin pada pengenceran tertinggi. Uji kualitatif dan uji kuantitatif dilakukan dengan teknik sumuran yang menggunakan supernatan netral.

Pada proses seleksi ini menggunakan bakteri indikator yaitu *Pediococcus acidilactici* LB 42 dan menggunakan kontrol positif yaitu *Pediococcus acidilactici* F11. Seleksi untuk membuktikan isolat menghasilkan bakteriosin menggunakan bakteri indikator yang setipe atau keturunan.

Berdasarkan seleksi isolat menggunakan paper disk dari isolat stok sebanyak 209 isolat hanya 54 isolat yang mempunyai kemampuan membentuk zona jernih disekeliling koloni. Kemudian 54 isolat tersebut diambil supernatan netral dengan cara isolat dalam MRS broth disentrifuge 13000 rpm selama 10 menit kemudian supernatant diambil dan dipanaskan pada suhu 80°C selama 5 menit untuk mematikan

sel dan enzim proteolitik lalu di tambah 1 N NaOH untuk menetralkan pH sampai 7. Supernatan dari 54 isolat diseleksi secara kualitatif dengan metode sumuran. Dari 54 isolat tersebut dipilih yang memiliki aktivitas bakteriosin tertinggi ada 24 isolat. Kemudian dari 24 isolat tersebut dilakukan seleksi kuantitatif dengan metode sumuran. Dari 24 isolat tersebut ditemukan 8 isolat unggulan yang memiliki aktivitas bakteriosin bagus. Untuk memilih 1 isolat unggulan dilakukan lagi uji kuantitatif yang kedua kemudian hasilnya dirata-rata.

Tabel 2. Seleksi isolat Bakteri Asam Lakta penghasil Bakteriosin (kuantitatif)

No	Kode	Indikator	□ zona		luas		Pengen	Aktivitas
			sumur	bening	sumur	bening		
			(mm)	(mm)	(mm ²)	(mm ²)		(Au/ml)
1	SFE-7 (37)	LB 42	7	8.63	38.47	58.46	60	23,994
2	SJ-2 (3)	LB 42	7	8.13	38.47	51.89	100	26,850
3	SJE-5 (4)	LB 42	7	8.25	38.47	53.43	100	29,930
4	PI2A (25)	LB 42	7	9.00	38.47	63.59	100	50,250
5	W3E6 (27)	LB 42	7	8.00	38.47	50.24	70	16,485
6	W1A (32)	LB 42	7	9.38	38.47	69.07	50	30,605
7	W3-1 (16)	LB 42	7	9.50	38.47	70.85	80	51,816
8	W2A (4)	LB 42	7	7.50	38.47	44.16	100	11,390
9	W1A (21)	LB 42	7	8.00	38.47	50.24	100	23,550
10	W2A (15)	LB 42	7	10.00	38.47	78.5	70	56,049
11	Q 11 P12B	LB 42	7	9.75	38.47	74.62	50	36,155
12	(16)	LB 42	7	8.50	38.47	56.72	100	36,510
13	J 18	LB 42	7	9.75	38.47	74.62	60	43,386
14	W3-1 (5)	LB 42	7	8.00	38.47	50.24	100	23,550
15	W3E6 (38)	LB 42	7	7.75	38.47	47.15	90	15,633
16	W1A (2)	LB 42	7	7.75	38.47	47.15	90	15,633
17	W2A (3)	LB 42	7	9.00	38.47	63.59	90	45,225
18	W3-1 (22)	LB 42	7	7.50	38.47	44.16	50	5,695
19	SJ-1 (9)	LB 42	7	9.00	38.47	63.59	60	30,150
20	SJ-1 (45)	LB 42	7	7.50	38.47	44.16	50	5,695
21	SJ-1 (43)	LB 42	7	9.00	38.47	63.59	90	45,225
22	SJ-2 (11)	LB 42	7	8.00	38.47	50.24	100	23,550
23	SFE-7 (33)	LB 42	7	10.00	38.47	78.5	100	80,070
24	SJE-5 (29)	LB 42	7	8.00	38.47	50.24	100	23,550

Adanya aktivitas penghambatan terhadap bakteri indikator diketahui setelah inkubasi 1 hari yang ditandai timbulnya zona jernih di sekitar koloni yang tumbuh di media lapisan bawah. Zona jernih timbul karena bakteri indikator tidak dapat tumbuh, yang berarti bakteriosin dari *Pediococcus acidilactici*

LB 42 memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri indikator. Zona jernih yang timbul sangat bervariasi, menurut Rai (2009) bakteriosin menghasilkan zona jernih yang jelas, bulat, dan luas. Jika tidak demikian diperkirakan akibat aktivitas asam, hidrogen peroksida, atau diasetil. Kemampuan membentuk zona jernih berbeda-beda tergantung jenis bakteri, konsentrasi bakteriosin dan kandungan nutrisi dalam media.

Tabel 3. Isolat unggulan Bakteri Asam Laktat penghasil bakteriosin

No	Kode	Indikator	Aktivitas hambat (Au/ml)		
			1	2	Rata-rata
1	Q11	LB 42	36,155	36,500	36,328
2	W1A (21)	LB 42	23,550	80,060	51,805
3	W3-1 (22)	LB 42	5,695	96,160	50,928
4	SJ-2 (3)	LB 42	26,850	36,500	31,675
5	SJE-5 (27)	LB 42	29,930	50,240	40,085
6	P12A (25)	LB 42	50,250	80,060	65,155
7	P12B (16)	LB 42	36,510	76,320	56,415
8	W3-1 (5)	LB 42	23,550	36,500	30,025
9	SFE-7 (33)	LB 42	80,070	64,760	72,415

3. Identifikasi isolat unggulan

Identifikasi pada isolat unggulan bertujuan untuk mengetahui spesies apa yang menghasilkan bakteriosin. Pada identifikasi ini dilakukan pendekatan secara morfologi, biokimia, fermentasi gula, fisiologis,. Pada pendekatan secara fenotipik dan biokimia dilakukan pada dua isolat unggulan yaitu SFE-7(33) dan P12A(25). Berdasarkan tabel 4. dapat dilihat bahwa isolat unggulan SFE-7(33) dan P12A(25) memiliki ciri-ciri secara morfologi bentuk bulat, susunan sel tetrad, gram positif, motilitas negatif. Sedangkan hasil pendekatan secara biokimia gram negatif, katalase negatif, homofermentatif (tidak ada gas pada fermentasi glukosa), dapat memfermentasi D-Galaktosa, D-Glukosa, D-mannosa, D-Laktose. Pada pendekatan fisiologis pertumbuhan terhadap isolat SFE-7(33) dan P12A(25) dapat dihasilkan bahwa kedua isolat .mampu hidup pada kisaran suhu 4°C sampai 50°C, pada kisaran pH antara 4-10, dan mampu tumbuh pada kadar NaCl 5-10%. Berdasarkan karakteristik fenotipik jika dibandingkan dengan ciri-ciri BAL

pada isolat acuan isolat menunjukan *Pediococcus acidilactici*.

Tabel 4. Karakterisasi isolat bakteri asam laktat penghasil bakteriosin

	Kode strain		Isolat acuan	
	SFE-7 (33)	P12A (25)	<i>P. acidilactici</i>	<i>P. cellicola</i>
Morfologi				
Bentuk sel bulat	+	+	+	+
Susunan sel tetrad	+	+	+	+
Gram positif	+	+	+	+
Motilitas	-	-	-	-
Biokimia				
Katalase	-	-	-	-
Homofermentatif	+	+	+	+
Pembentukan gas dari glukosa	-	-	-	-
Fermentasi gula				
Gliserol	-	-		
D-Galactose	+	+	+	+
D-Glukosa	+	+	+	+
D-Fructose	+	+		
D-Mannose	+	+		
D-Sorbitol	-	-		
D-Lactose (Bovine Origin)	+	+	+	+
D-Saccharose	-	-		
Fisiologis				
Tumbuh pada suhu :				
4°C	+	+		
10°C	+	+		
30°C	+	+	+	+
40°C	+	+	+	+
45°C	+	+	+	-
50°C	+	+	+	-
pH				
4,0	+	+	+	+
8,0	+	+	+	+
8,5	+	+	+	+
9,0	+	+	-	-
NaCl				
5%	+	+	+	+
6,5%	+	+	+	+
10%	+	+	+	+
18%	-	-	-	-

DAFTAR PUSTAKA

- Buntin, N., Cahanthachum, S., Hongpattarakere, T. 2008. Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracts of marine fish for their potential use probiotics. *Sonklanakarin Journal Science Technology* vol. 30. 141-148
- Rai, A.K., Bhaskar, N., amani, P.M., Indirani, K., Suresh, P.V., Mahendrakar, N.S. 2009. Characterization and application of native lactic acid bacterium isolated from tannery fleshing for fermentative bioconversion of tannery fleshings. *Application Microbiology Biotechnology* 83. 757- 766
- Karthikeyan, V and Santosh,. S.W. 2009. Isolation and Partial Characterization of Bacteriocin Produced from *Lactobacillus plantarum*. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 3. 233-239
- Kongnum, K., and Hongpattarakere,. T. 2012. Effect of *Lactobacillus Plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and Survival of White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Cenged with *Vibrio harveyi*. *Fish and Shellfish Immunology Journal*. 170-177
- Widyastuti, Y., Sofarianawati, E., 1999. Karakter Bakteri Asam Laktat *Enterococcus* sp. Yang diisolasi dari saluran pencernaan Ternak. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 4. 50-53
- Todorov SD, Dicks LMT (2004). Comparison of two methods for purification of plantaricin ST31, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST31. *Enz. Microbiol. technol.* 36: 318-326.
- Usmiati, S., Marwati, T. 2007. Seleksi dan Optimasi Proses Produksi Bakteriosin dari *Laktobacillus* sp. *Jurnal Pascapanen* 4. 27-37