

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat asal Feses Manusia sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Rosario Trijuliamos Manalu^{1*}, Saiful Bahri¹, Melisa¹, Siti Sarah¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional Jakarta

*Email korespondensi: rio@istn.ac.id

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat adalah bakteri anaerob fakultatif yang mampu hidup dalam habitat yang cukup luas di alam, salah satunya terdapat pada feses balita. Sampel yang digunakan adalah feses balita usia 3,5 tahun. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui sifat bakteriosin pada isolat bakteri yang ditemukan. Hasil isolasi diperoleh tujuh isolat dengan zona bening di sekitar koloni dengan morfologi berbeda yang diduga sebagai bakteri asam laktat. Kemudian dilakukan karakterisasi morfologi serta biokimia. Ketujuh isolat merupakan Gram positif, tidak membentuk spora, katalase negatif, Methyl Red positif, Voges Proskauer negatif, Indol negatif dan Sitrat negatif. Tujuh isolat yang memenuhi persyaratan Bakteri Asam Laktat. Pengujian antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cara sumuran dengan media *Nutrient Agar*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat Bakteri Asam Laktat FB 4 mampu menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* sebesar 12,65 mm dan terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 12 mm.

Kata kunci: agen probiotik, bakteri asam laktat, *Escherichia coli*, feses balita, *Staphylococcus aureus*

Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Human Feces as Antibacteria Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Lactic acid Bacteria are facultative anaerobe bacteria which can be able to live in a vast habitat of nature, one of them is faeces toddler. In this study, the sample used was faeces of children aged 3.5 years. The purpose of this study was to determine the nature of bacteriocin in bacterial isolates found. Seven isolates were obtained with a clear zone around the colony with a different morphology suspected as lactic acid bacteria. Then morphological and biochemical characterization was carried out. The seven isolates were Gram-positive, did not form spores, negative catalase, Methyl Red positive, Voges Proskauer negative, Indol negative and Citrate negative. Seven isolates that met Lactic Acid Bacteria requirements. Test of the antibacterial executed with bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* with use method diffusion of wells with media *Nutrient Agar*. The result of the research shows the isolate bacteria lactic acid can be able to produce activity antibacterial on *Escherichia coli* which value 12,65 mm and on *Staphylococcus aureus* which values 12 mm.

Keywords: *Escherichia coli*, lactic acid bacteria, probiotic agent, *Staphylococcus aureus*, toddler feces

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) didefinisikan sebagai kelompok bakteri yang membentuk asam laktat, baik sebagai satu-satunya produk maupun sebagai produk utama pada metabolisme karbohidrat (Hassan, 2006). Bakteri asam laktat adalah bakteri yang memiliki kontribusi yang besar dalam dunia pangan. Bakteri asam laktat termasuk dalam kelompok bakteri baik dan umumnya memenuhi status GRAS (*Generally Recognized as Safe*), yaitu aman bagi manusia (Surono I. S., 2004). Hal ini karena bakteri asam laktat dapat menghambat secara alami mikroba patogen.

Peranan bakteri asam laktat sebagai probiotik bagi kesehatan manusia dan hewan antara lain menurunkan kasus intoleransi laktosa, menurunkan kadar serum kolesterol, mengurangi frekuensi terjadinya penyakit diare, menstimulasi sistem imunitas tubuh, mengendalikan infeksi patogen, mampu berperan sebagai pengganti antibiotik, serta mampu menekan terjadinya tumor dan kanker sistem pencernaan dengan cara memelihara keseimbangan mikroba dalam sistem pencernaan (Scheinbach, 1998).

Komponen antimikroba dari bakteri asam laktat antara lain asam organik, hidrogen peroksida, karbondioksida, diasetil, reuterin, dan bakteriosin (Ouweland, 1998). Asam organik yang dihasilkan bakteri asam laktat mengakibatkan akumulasi produk akhir asam

dan turunnya pH yang menyebabkan penghambatan yang luas terhadap bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif. Bakteriosin merupakan salah satu yang digunakan sebagai antimikroba. Dilaporkan bahwa bakteriosin memegang peranan penting dalam menanggulangi infeksi akibat mikroorganisme. Selain itu, asam laktat yang diperoleh dari BAL dapat menurunkan pH lingkungan, pH yang rendah dapat menghambat kontaminasi mikroba pembusuk dan juga membunuh mikroba patogen terutama yang ada di dalam tubuh (Ibrahim et al., 2015).

Penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi bakteri asam laktat dari feses bayi berumur 1-2 bulan sebanyak 11 isolat, 8 isolat diidentifikasi sebagai *Lactobacillus acidophilus* dan 3 isolat lainnya merupakan *Lactobacillus reuteri* (Purwandhani, 1998). Hal ini dikarenakan bakteri asam laktat yang berasal dari bayi masih murni dan belum terkontaminasi oleh bakteri patogen atau bakteri asam laktat yang berasal dari luar. Oleh karena itu, isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari feses balita usia di atas satu tahun diperlukan untuk mengetahui potensi bakteri asam laktat dari feses balita tersebut.

Feses balita yang dipilih pada penelitian ini adalah feses balita yang tidak mengonsumsi susu formula, dimana bakteri asam laktat pada balita yang tidak mengonsumsi susu formula tidak memperoleh asupan prebiotik dari luar, dan susu formula adalah salah satu sumber prebiotik yang dibutuhkan bagi bakteri asam laktat di dalam saluran pencernaan balita. Dengan mengisolasi bakteri asam laktat dari feses balita yang tidak mengonsumsi susu formula, dapat diketahui potensi bakteri asam laktat dalam melawan patogen karena lingkungan saluran pencernaan yang telah terkontaminasi mikroba lainnya dan tidak mendapat asupan prebiotik dari luar. Bakteri asam laktat yang mampu bertahan hidup dalam lingkungan saluran pencernaan yang terkontaminasi adalah bakteri asam laktat yang berpotensi tinggi sebagai probiotik.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat. Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah tisu, kain kasa, kapas, masker, sarung tangan, kaca objek, jarum ose, batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, aluminium foil, kertas saring, pembakar spiritus, pipet tetes, beaker glass, cawan petri, erlemeyer, termometer, mikropipet, vortex, timbangan analitik, mikroskop cahaya, autoklaf digital, lemari pendingin, botol sampel, inkubator, dan oven.

Bahan. Bahan uji yang digunakan adalah feses balita usia 3,5 tahun, kalsium karbonat (CaCO_3), media MRS (deMan Rogosa Sharpe) Agar, Media MRVP (*Methyl Red Voges Proskauer*), Medium Sitrat, Media SIM (*Sulfide Indole Motility*), aquadest, NaCl 0,9% fisiologis, gentian violet, lugol, alkohol 96%, safranin, metil merah, alfa-naftol, KOH, H_2O_2 , minyak imersi, dan alkohol 70%.

Isolasi Bakteri Asam Laktat. Sebanyak 1 g sampel feses balita secara aseptis ditambahkan ke dalam 9 mL larutan

pengencer, yaitu NaCl fisiologis 0,9%, dan dihomogenkan (pengenceran ke-1). Kemudian, dilakukan pengenceran bertingkat sampai pengenceran ke-7. Sebanyak 0,1 mL cuplikan dari tiga seri pengenceran terakhir diambil dan dikulturkan pada media MRSA tersuplementasi CaCO_3 1% menggunakan metode *spread plate*. Diinkubasi selama 48 jam pada inkubator suhu 37°C. Koloni yang tumbuh dihitung, dan jumlah totalnya dihitung dengan metode *total plate count* (TPC).

Pemurnian. Koloni yang tumbuh dengan zona bening di sekelilingnya dilakukan pemurnian sel dengan menggoreskan pada media MRSA tersuplementasi CaCO_3 1% dengan metode kuadran diinkubasi selama 24 jam pada inkubator suhu 37°C agar diperoleh koloni tunggal untuk selanjutnya disubkultur kembali dengan media MRSA sebagai isolat tunggal murni.

Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat

- a. **Pewarnaan Gram.** Kaca objek ditetaskan NaCl fisiologis 0,9%, lalu isolat pada agar miring diambil satu ose dan isolat disebar di atas kaca objek kemudian difiksasi (preparat). Gentian violet ditetaskan di atas preparat dan didiamkan selama 1 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir, kemudian ditetesi dengan cairan lugol dan didiamkan lagi selama 1 menit. Preparat dicuci kembali dengan air mengalir dan ditetesi alkohol 96% kemudian didiamkan selama 30 detik. Preparat dicuci dengan air mengalir kemudian ditetesi safranin dan didiamkan selama 45-60 detik atau setengah kering. Preparat dicuci dan dikeringkan untuk diamati di bawah mikroskop. Bakteri Gram positif akan berwarna ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah.
- b. **Pewarnaan Endospora.** Preparat yang telah difiksasi diletakkan di atas penangas air lalu ditutup dengan kertas saring. Malakit hijau ditetaskan dan dibiarkan selama 5 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir. Dilakukan pewarnaan kembali dengan safranin kemudian biarkan selama 60 detik. Preparat dicuci, hasilnya diamati di bawah mikroskop. Endospora akan berwarna hijau, sedangkan sel vegetatif berwarna merah (Harley, 2005).
- c. **Uji Voges Proskauer (VP).** Isolat murni diambil sebanyak satu ose dimasukkan ke dalam media *Methyl Red Voges Proskauer* (MRVP) dan dihomogenkan. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian ditambah pereaksi α -naftol 5% dan KOH 40%, lalu diamati perubahan warna yang terjadi.
- d. **Uji Metil Red.** Isolat murni diambil sebanyak satu ose dimasukkan ke dalam medium *Methyl Red Voges Proskauer* (MRVP) dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan ditambahkan pereaksi *Methyl Red* (MR), lalu diamati perubahan warna yang terjadi.
- e. **Uji Sitrat.** Sebanyak satu ose isolat murni digoreskan pada medium Sitrat agar miring kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dan diamati perubahan warna yang terjadi.
- f. **Uji Indol.** Tabung reaksi yang berisi medium *Sulfide Indole Motility* (SIM) diinokulasi dengan satu ose

isolat murni, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, lalu ditambahkan reagen Kovac's.

- g. **Uji Katalase.** Kaca objek dibersihkan, lalu ditetaskan beberapa tetes H₂O₂ 3% di atas kaca tersebut. Sebanyak satu ose isolat diambil dan diusapkan di atas kaca objek yang terdapat H₂O₂ 3%. Pembentukan gelembung-gelembung O₂ di dalam tetesan H₂O₂ diamati.

Uji Aktivitas Antibakteri menggunakan Uji Diameter Daya Hambat Metode Difusi Sumuran. Media *Nutrient Agar* dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 mL, lalu didiamkan hingga memadat. Suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* 10⁶ dipipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri dan disebarakan merata menggunakan batang L. Setelah itu dibuat sumuran dengan diameter 5 mm. Masing-masing kontrol positif, kontrol negatif, dan kultur

isolat Bakteri Asam Laktat dimasukkan ke dalam sumur sebanyak masing-masing 5 µl, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Pada tahap awal isolasi, sampel berupa feses balita sebanyak 1 g diinokulasi pada media MRSA tersuplementasi CaCO₃ 1%. Hasil isolasi diperoleh data *total plate count* (TPC) keseluruhan bakteri asam laktat yang tumbuh sebanyak 1,741x10⁹ koloni/mL. Dari keseluruhan kultur bakteri yang tumbuh terpilih tujuh isolat bakteri asam laktat yang memiliki karakteristik secara makroskopik yang berbeda (Tabel 1).

Tabel 1. Morfologi koloni isolat

Isolat	Morfologi Koloni			
	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian
FB 1	Panjang	Putih	Rata	Tidak teratur
FB 2	Bulat	Krem	Cembung	Halus
FB 3	Bulat	Putih Susu	Rata	Halus
FB 4	Bulat	Krem	Raised	Halus
FB 5	Bulat	Krem	Rata	Halus
FB 6	Bulat	Putih Pucat	Cembung	Halus
FB 7	Bulat	Putih Pudar	Rata	Halus

Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat

Setelah didapatkan stok kultur, ketujuh isolat dikarakterisasi, dimana bakteri asam laktat memiliki ciri-ciri Gram positif, tidak membentuk spora dan katalase negatif (Surono, 2004). Pengamatan mikroskopik dilakukan terhadap struktur dan bentuk sel, salah satunya dengan pewarnaan Gram yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengelompokkan bakteri ke dalam bakteri Gram positif dan Gram negatif. Berdasarkan hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa ketujuh isolat merupakan Gram positif. Selain pengamatan mikroskopik, karakterisasi biokimia juga dilakukan. Hasil dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik isolat Bakteri Asam Laktat berdasarkan morfologi sel dan uji biokimia

Pengamatan	Isolat						
	FB 1	FB 2	FB 3	FB 4	FB 5	FB 6	FB 7
Mikroskopik Sel							
Pewarnaan Gram	+	+	+	+	+	+	+
Bentuk Sel	B	B	B	C	C	C	C
Pewarnaan Endospora	-	-	-	-	-	-	-
Biokimia							
Voges Proskauer	-	-	-	-	-	-	-
Metil Red	+	+	+	+	+	+	+
Sitrat	-	-	-	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-	-	-	-
Katalase	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

+ : menunjukkan hasil pewarnaan positif/adanya pertumbuhan bakteri

- : menunjukkan hasil pewarnaan negatif/tidak adanya pertumbuhan bakteri

B : Basil

C: kokus

Ketujuh isolat yang diuji, memiliki karakteristik yang tidak serupa, yaitu 3 isolat berbentuk basil, 4 isolat berbentuk kokus dan tidak membentuk spora. Pada pewarnaan Gram isolat yang diuji menunjukkan bahwa ketujuh bakteri tersebut adalah Gram positif. Hal tersebut

menunjukkan bahwa ketujuh bakteri yang diperoleh menunjukkan ciri bakteri asam laktat. Hasil uji pewarnaan endospora menunjukkan ketujuh isolat tidak membentuk spora.

Setelah pewarnaan Gram dan endospora dilakukan uji katalase pada ketujuh isolat bakteri. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim katalase serta toleransi isolat terhadap oksigen. Hasil uji katalase menunjukkan hasil yang negatif pada ketujuh isolat, dimana tidak terdapatnya gelembung gas yang terbentuk ketika isolat ditetesi dengan larutan H_2O_2 , dimana H_2O_2 yang diberikan tidak dipecah oleh ketujuh bakteri tersebut sehingga tidak menghasilkan oksigen. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Stamer, 1979) dan (Amaliah, Bahri, & Amelia, 2018) yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat termasuk bakteri dengan katalase negatif.

Hasil pengujian MR menunjukkan bahwa ketujuh isolat positif terhadap uji tersebut. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna media dari kuning menjadi merah/kemerahan setelah ditetesi indikator *Methyl Red*. Warna merah yang terbentuk pada media akibat penurunan pH media oleh produk asam dalam jumlah besar yang dihasilkan dari fermentasi glukosa (Nur, Hafsan, & Wahdiniar, 2015).

Uji VP (*Voges Preskauer*) digunakan untuk menentukan kemampuan bakteri menghasilkan produk akhir yang netral dari fermentasi glukosa melalui jalur butanediol. Hasil penelitian terhadap ketujuh bakteri menunjukkan hasil negatif, ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media setelah ditambahkan indikator.

Uji pembentukan indol bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim

triptofanase yang bisa mengkatalisasi penguraian asam amino triptofan menjadi indol. Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa ketujuh bakteri tersebut tidak dapat membentuk indol. Hal ini dapat dilihat dari tidak terbentuknya cincin merah setelah ditambahkan indikator Kovac's.

Uji sitrat adalah uji yang digunakan untuk melihat kemampuan organisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Pada penelitian yang dilakukan untuk ketujuh isolat media *Simmon's citrate agar* dengan biakan yang telah diinkubasi selama 24 jam, tidak menunjukkan perubahan pada warna medianya, yang menandakan bahwa uji sitrat negatif, dimana bakteri tidak mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energi.

Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Feses Balita Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Uji aktivitas antibakteri bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen menggunakan metode difusi sumur. Kelebihan metode difusi sumur yaitu semua metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat diproduksi selama uji antibakteri (Cardici & Citak, 2005). Bakteri patogen yang digunakan adalah *Escherichia coli* (Gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (Gram positif). Kedua bakteri tersebut merupakan bakteri penyebab gangguan pada saluran pencernaan. Hasil uji aktivitas terhadap kedua bakteri tersebut ditampilkan pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri isolat Bakteri Asam Laktat asal feses balita terhadap *Escherichia coli*

Ulangan	Kontrol (+)	Kontrol (-)	FB 1	FB 2	FB 4	FB 5	FB 6	FB 7
1.	28,42 mm	-	-	-	12,93 mm	-	-	-
2.	27,54 mm	-	-	-	12,38 mm	-	-	-
Rata-Rata	27,98 mm	-	-	-	12,65 mm	-	-	-

Keterangan :

(-) : Tidak memiliki aktivitas antibakteri

Kontrol (+) : Siprofloksasin

Kontrol (-) : NaCl

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat asal feses balita terhadap bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumur. Isolat FB 4 menunjukkan rata-rata zona hambat sebesar

12,65 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan rata-rata zona hambat pada antibiotik Siprofloksasin sebagai kontrol positif sebesar 27,98 mm dan NaCl sebagai kontrol negatif tidak memberikan zona hambat.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Feses Balita Terhadap *Staphylococcus aureus*

Ulangan	Kontrol (+)	Kontrol (-)	FB1	FB2	FB 4	FB5	FB6	FB7
1.	28,76 mm	-	-	-	11,14 mm	-	-	-
2.	27,58 mm	-	-	-	12,86 mm	-	-	-
Rata-Rata	28,17 mm	-	-	-	12 mm	-	-	-

Keterangan :

(-) : Tidak memiliki aktivitas antibakteri

Kontrol (+) : Tetrasiklin

Kontrol (-): NaCl

Hasil uji aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat asal feses balita terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumur. Isolat FB 4 menunjukkan zona hambat sebesar 12 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, rata-rata zona hambat pada antibiotik Tetrasiklin sebagai kontrol positif sebesar 2 mm, dan NaCl sebagai kontrol negatif tidak memberikan zona hambat. Diameter daya hambat dari isolat BAL FB 4 diduga dapat memproduksi senyawa aktif berupa kompleks protein, yaitu senyawa bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri uji. Daya hambat bakteriosin yang sempit menunjukkan kemampuan penghambatan yang bersifat spesifik untuk strain bakteri tertentu, sedangkan daya hambat yang luas menunjukkan kemampuan penghambatan terhadap berbagai strain bakteri patogen atau bakteri perusak (Jack et al., 1995)

Berdasarkan besaran zona penghambatan terhadap bakteri patogen Gram positif dan negatif, isolat FB 4 memenuhi kriteria sebagai probiotik. Bakteri probiotik yang merupakan bakteri asam laktat menghasilkan senyawa metabolit yang berfungsi sebagai antimikroba. Aktivitas penghambatan oleh senyawa antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekeliling sumuran. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Sutrisna (2013), isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus itik mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Asam laktat berdifusi masuk ke dalam media tumbuh bakteri uji yang dapat mengganggu keutuhan membran sel bakteri patogen. Kerusakan membran sel mengakibatkan nutrisi yang dibutuhkan bakteri uji untuk tumbuh tidak dapat diabsorpsi sehingga proses metabolisme tidak berjalan dan pertumbuhannya akan terhambat.

Diduga senyawa bakteriosin pada isolat Bakteri Asam Laktat menggunakan mekanisme kerja antibakteri dengan merusak membran sel plasma yaitu dengan menghalangi kemampuan membran sel dari *Escherichia coli*, sehingga senyawa bakteriosin dapat berdifusi ke dalam bakteri *Escherichia coli* dan dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

KESIMPULAN

Isolat bakteri asam laktat asal feses balita yaitu isolat FB 4 yang memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat sebesar 12,65 mm pada *Escherichia coli* dan zona hambat sebesar 12 mm pada *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaliah, Z. Z., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). Isolasi dan karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari limbah cair rendaman kacang kedelai. *Jurnal Fitokimia Indonesia*, 255-257.
- Cardici, B. & Citak, S. (2005). A comparison of two methods used for measuring antagonistic activity of Lactic Acid Bacteria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 237-241.

- Harley, J. P. (2005). *Laboratory exercises in microbiology*, 6th Ed. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Hassan, Z. H. (2006). Isolasi *Lactobacillus*, Bakteri Asam Laktat dari feses dan organ saluran pencernaan ayam. *Jurnal Widya Riset LIPI*, 9(1), 753-742.
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2015). Isolasi dan identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari buah mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 159-163.
- Jack, R.W., Tagg, J.R., & Ray, B. (1995). Bacteriocins of Gram-positive Bacteria. *Microbiol. Rev.*, 59, 171-200.
- 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*, 60-65.
- Purwandhani, S. N. (1998). Isolasi dan seleksi *Lactobacillus* yang berpotensi sebagai agensia probiotik. *Jurnal Agritech*, 216-455.
- Ouweland, A. (1998). *Antimicrobial component from Lactic Acid Bacteria*. In Salminen, S. & A. von Wright (eds). *Lactic Acid Bacteria, Microbiology and Functional Aspects*. New York: Second Edition. Marcel Dekker, Inc.
- Scheinbach, S. (1998). Probiotics: Functionality and commercial status. *Biotechnology Advances*, 16(3), 581-608.
- Stamer, J. (1979). The Lactic Acid Bacteria Microbes of Diversity. *Jurnal Food Technol*, 60-65.
- Surono, I. S. (2004). *Probiotik susu fermentasi dan kesehatan*. Jakarta: PT. Tri Cipta Karya.
- Sutrisna, R., Ekowati, N., & Rahmawati, D. (2013). Uji daya hambat isolasi Bakteri Asam Laktat usus itik (*Anas domestica*) pada bakteri Gram positif dan pola pertumbuhan isolat bakteri usus itik pada media MRS Broth. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 13(1), 52-59.