

**IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN UJI POTENSI  
PROBIOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT  
ASAL PRODUK SAWI ASIN**

**Skripsi**

untuk memenuhi sebagian persyaratan  
guna mencapai gelar Sarjana Sains (S. Si.)



disusun oleh:

**Burhan Firmansyah**

**31091201**

**FAKULTAS BIOTEKNOLOGI  
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA  
YOGYAKARTA**

**2014**

## Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

### IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN UJI POTENSI PROBIOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL PRODUK SAWI ASIN

Telah diajukan dan dipertahankan oleh:

**BURHAN FIRMANSYAH**  
31091201

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Sains pada tanggal 07 Januari 2014

	Nama Dosen		Tanda Tangan
1.	Dr. Charis Amarantini, M.Si. Dosen Pembimbing/Ketua Tim	:	
2.	Dr. Dhira Satwika, M.Sc. Dosen Penguji II	:	
3.	Tri Yahya Budiarse, S.Si, MP. Dosen Penguji III	:	

**DUTA WACANA**

Yogyakarta, 24 Januari 2014

Disahkan Oleh:

Dekan,



(Drs. Kisworo, M. Sc.)

Ketua Program Studi,

(Dr. Charis Amarantini, M.Si.)

## LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Burhan Firmansyah

NIM : 31091201

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul, "*Identifikasi Molekuler dan Uji Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat Asal Produk Sawi Asin*" adalah hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam naskah dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Pernyataan ini dibuat dengan informasi yang benar secara sadar dan bertanggungjawab. Saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada sebelumnya.

Yogyakarta, 22 Januari 2014



Burhan Firmansyah

31 09 1201

## KATA PENGANTAR

Puji syukur alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkat, rahmat, taufik dan hidayah-Nya, penyusunan skripsi yang berjudul “*Identifikasi Molekuler dan Uji Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat Asal Produk Sawi Asin*” dapat diselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini banyak mengalami kendala, namun berkat bantuan, bimbingan, kerjasama dari berbagai pihak dan berkah dari Tuhan sehingga kendala-kendala yang dihadapi tersebut dapat diatasi. Untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan kepada Ibu Dr. Charis Amarantini, M.Si. selaku pembimbing yang telah dengan sabar, tekun, tulus dan ikhlas meluangkan waktu, tenaga dan pikiran memberikan bimbingan, motivasi, arahan, dan saran-saran yang sangat berharga kepada penulis selama menyusun skripsi. Selanjutnya ucapan terima kasih penulis sampaikan pula kepada:

1. Yayasan Arsari Djojohadikusumo sebagai pemberi beasiswa bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan jenjang S-1 di Universitas Kristen Duta Wacana.
2. Bapak drh. Djohan, MEM, Ph.D. selaku Rektor Universitas Kristen Duta Wacana.
3. Bapak Drs. Kisworo, M. Sc. selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.

4. Ibu Dra. Haryati Sutanto, M. Sc. selaku dosen wali mahasiswa Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Angkatan 2009.
5. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah memberi bekal ilmu pengetahuan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan menyelesaikan penulisan skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu laboran dan karyawan karyawan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah meluangkan banyak waktu dalam memberikan bantuan moral, spiritual dan material sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan penulisan skripsi ini.
7. Ibu Tri dari Laboratorium Mikrobiologi PAU UGM yang banyak membantu dalam pelaksanaan dan pengumpulan data penelitian.
8. Rekan-rekan Mahasiswa Program Studi Biologi UKDW 2009 yang telah banyak memberikan masukan kepada penulis baik selama dalam mengikuti perkuliahan maupun dalam penulisan skripsi ini.
9. Ibunda Fatimah yang sangat banyak memberikan bantuan moril, material, arahan, dan selalu mendoakan keberhasilan dan keselamatan selama menempuh pendidikan.
10. Keluarga Damiri yang telah memberikan bantuan moral, spiritual dan material sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan penulisan skripsi ini.
11. Keluarga Bang Mardi, Tante Cici, Mbak Ata, dan Om Surya yang sudah menjadi keluarga kedua.
12. Teman-teman Garda Depan angkatan 46 yang selalu bersedia memberikan back up shift ketika penulis harus melanjutkan penelitian di laboratorium,

selalu memberikan semangat dalam pelaksanaan penelitian hingga penulisan studi.

13. Teman-teman NCBoys yang memberikan hiburan ketika penulis sedang menghadapi kebosanan.
14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini.

Akhirnya, dengan segala kerendahan hati penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan-kekurangan, sehingga penulis mengharapkan adanya saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini.

Yogyakarta, Januari 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
LEMBAR PERNYATAAN .....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
ABSTRAK.....	xi
ABSTRACT.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	2
C. Tujuan.....	2
D. Manfaat .....	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
A. Sawi Asin.....	3
B. Bakteri Asam Laktat.....	5
C. Bakteri Asam Laktat sebagai Probiotik.....	6
D. Identifikasi Bakteri Asam Laktat.....	9
BAB III METODE PENELITIAN.....	12
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	12
B. Alat.....	12
C. Bahan.....	12
D. Metode.....	14
1. Uji seleksi bakteri asam laktat .....	14
a. Isolasi.....	14
b. Konfirmasi probiotik.....	15
1) Uji katalase .....	15
2) Uji motilitas .....	15
3) Uji produksi CO <sub>2</sub> .....	16
4) Pengecatan gram .....	16
5) Kemampuan tumbuh pada suhu 10°C dan 45°C.....	17
6) Kemampuan tumbuh pada pH 9,6.....	17
2. Uji penentuan isolat bakteri asam laktat sebagai probiotik .....	17
a. Uji ketahanan pH .....	17
b. Uji ketahanan garam empedu .....	18
c. Uji agregasi.....	18
d. Uji koagregasi .....	19
e. Uji antimikrobia .....	20
3. Identifikasi bakteri asam laktat secara molekuler .....	20
a. Ekstraksi DNA.....	20

b. PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ).....	22
c. <i>Sequencing</i> .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	23
A. Uji Seleksi Bakteri Asam Laktat.....	23
1. Isolasi bakteri asam laktat .....	23
2. Konfirmasi probiotik .....	25
a. Pengecatan gram .....	26
b. Uji katalase .....	27
c. Uji motilitas .....	28
d. Uji produksi CO <sub>2</sub> .....	29
B. Uji Penentuan Isolat Bakteri Asam Laktat sebagai Probiotik.....	30
1. Uji ketahanan pH .....	30
2. Uji ketahanan garam empedu .....	33
3. Uji agregasi .....	35
4. Uji koagregasi .....	36
5. Uji antimikrobia.....	38
C. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Secara Molekuler.....	40
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	44
A. Kesimpulan.....	44
B. Saran.....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	45
<b>LAMPIRAN</b> .....	48



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Perbedaan karakteristik genus bakteri asam laktat berdasarkan sifat morfologis dan fisiologis .....	6
Tabel 4.1.	Hasil isolasi bakteri asam laktat pada sampel sawi asin berdasarkan diameter zona terang yang terbentuk .....	24
Tabel 4.2 .	Hasil uji konfirmasi bakteri asam laktat berdasarkan pengamatan sifat-sifat morfologis dan fisiologisnya .....	26
Tabel 4.3.	Hasil uji ketahanan pH dan garam empedu ketiga isolat potensial probiotik .....	31
Tabel 4.4.	Hasil uji agregasi isolat potensi probiotik .....	35
Tabel 4.5.	Hasil uji antimikrobia isolat potensi probiotik terhadap <i>Salmonella</i> Typhi .....	39
Tabel 4.6.	Hasil uji antimikrobia dari antibiotik terhadap <i>Salmonella</i> Typhi .....	40
Tabel 4.7 .	Hasil Blast-N 3 isolat bakteri asam laktat pada NCBI .....	42

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1.	Isolat kandidat bakteri asam laktat yang membentuk zona terang paling luas .....	25
Gambar 4.2.	Hasil pengecatan Gram .....	26
Gambar 4.3.	Hasil uji motilitas .....	28
Gambar 4.4.	Hasil uji homo-heterofermentatif .....	30
Gambar 4.5.	Hasil uji pertumbuhan ketiga isolat potensi probiotik pada pH 2,5 .....	32
Gambar 4.6.	Hasil uji pertumbuhan ketiga isolat potensi probiotik pada garam empedu .....	34
Gambar 4.7.	Grafik hasil uji koagregasi antar bakteri asam laktat.....	36
Gambar 4.8.	Grafik hasil uji koagregasi antar bakteri asam laktat dengan <i>Salmonella Typhi</i> .....	37
Gambar 4.9.	Hasil amplifikasi isolat potensi probiotik pada 1,2% agarosa gel..	41

# IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN UJI POTENSI PROBIOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL PRODUK SAWI ASIN

Oleh:  
Burhan Firmansyah

## ABSTRAK

Sawi asin merupakan salah satu produk fermentasi spontan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) berkontribusi pada rasa dan tekstur produk fermentasi serta menghambat bakteri pembusuk dengan memproduksi zat penghambat pertumbuhan dan sejumlah besar asam laktat. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri asam laktat hasil isolasi dari produk pangan fermentasi sawi asin serta mengetahui potensinya sebagai probiotik.

Uji konfirmasi BAL secara fenotipik meliputi uji morfologi dan fisiologi berupa pewarnaan gram, bentuk, motilitas, produksi CO<sub>2</sub>, variasi suhu inkubasi dan kemampuan tumbuh pada pH 9,6. Identifikasi BAL dilakukan secara molekuler dengan mengamplifikasi gen 16S rRNA menggunakan primer universal 27f (5'-AGAGTTTAGTCCTGGCTCAG-3') dan 1492r (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3').

Total kandidat isolat BAL yang diperoleh sebanyak 47 isolat. Berdasarkan diameter zona terang yang terbentuk dipilih tiga isolat yaitu Sa<sub>36</sub>A, Sa<sub>46</sub>B, dan Sa<sub>55</sub>A. Tiga isolat BAL tersebut memiliki ketahanan terhadap pH rendah (pH 2,5), mampu tumbuh pada garam empedu 0,1% dan 0,5%, dapat beragregasi dan berkoagregasi antar sesama BAL maupun bakteri patogen *Salmonella* Typhi serta memiliki daya hambat terhadap *Salmonella* Typhi. Data tersebut mengindikasikan bahwa ketiga isolat terpilih merupakan kandidat potensial probiotik dengan kemampuan antimikrobia cukup kuat. Berdasarkan hasil sekuensing, isolat Sa<sub>36</sub>A teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* strain H2 dengan kemiripan 97%, Sa<sub>46</sub>B teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* strain WX211 dengan kemiripan 98%, dan Sa<sub>55</sub>A teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* strain PA4 dengan kemiripan 96%.

Kata kunci: Bakteri asam laktat, probiotik, antimikrobia, *Lactobacillus plantarum*

**MOLECULAR IDENTIFICATION AND PROBIOTICS  
POTENTIAL TEST OF LACTIC ACID BACTERIA  
FROM SALTED MUSTARD PRODUCT**

by:  
Burhan Firmansyah

**ABSTRACT**

Salted mustard is one of spontaneous fermentation product by lactic acid bacteria. Lactic acid bacteria contribute to the flavor and texture of the fermentation products inhibit the growth of spoilage bacteria by produce large amounts of lactic acid. This study aims to identify lactic acid bacteria isolated from salted mustard fermentation and knows its potential as probiotics.

Confirmation test of lactic acid bacteria was done based in phenotypic characters that includes morphological and physiological tests such as gram staining, shape, motility, production of CO<sub>2</sub>, incubation temperature variations and the ability to grow at pH 9,6. Identification of lactic acid bacteria carried by amplifying molecular identification 16S rRNA gene using universal primers 27f (5'-AGAGTTTAGTCCTGGCTCAG-3') dan 1492r (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3').

Based on phenotypic confirmation, there were 47 isolates candidates of lactic acid bacteria. Based on its ability to produce of the clear one, it was selected three isolates namely Sa<sub>36</sub>A, Sa<sub>46</sub>B, and Sa<sub>55</sub>A. these isolates are resistant to low pH (pH 2,5) and able to grow on 0,1% and 0,5% bile salt. They were able to aggregate and co-aggregate among themselves and against *Salmonella* Typhi. Based on molecular analysis, all of these isolates have 96-98% similarity to *Lactobacillus plantarum*.

Keywords: Lactic acid bacteria, probiotics, antimicrobial, *Lactobacillus plantarum*

# **BAB I PENDAHULUAN**

## **A. Latar Belakang**

Keterlibatan bakteri asam laktat pada berbagai jenis makanan fermentasi memberikan efek yang menguntungkan karena asam yang dihasilkan dapat mencegah pertumbuhan mikroba lain yang tidak dikehendaki selama proses fermentasi berlangsung (Rahayu dkk., 1996). Bakteri asam laktat juga dapat membantu meningkatkan kesehatan dan membantu proses penyembuhan penyakit karena termasuk mikroba aman. Beberapa galur digunakan dalam terapi proses penyembuhan penyakit seperti diare, konstipasi, infeksi saluran kemih, mencegah kanker, rematik arthritis, serta menurunkan kolesterol dalam darah (Reid, 1999).

Produk-produk yang difermentasi oleh bakteri asam laktat ini dikenal dengan istilah probiotik. Umumnya fermentasi makanan oleh bakteri asam laktat ini dapat menghasilkan rasa yang khas dan gizi yang siap cerna. Fermentasi sawi asin oleh bakteri asam laktat merupakan salah satu cara pengawetan alami tanpa penambahan bahan pengawet kimia. Sawi asin adalah suatu produk yang mempunyai cita rasa khas yang dihasilkan melalui fermentasi spontan bakteri asam laktat. Keberadaan bakteri asam laktat yang bersifat heterofermentatif dan homofermentatif selama fermentasi sawi asin dipengaruhi oleh kandungan nutrisi yang terdapat pada media yaitu karbohidrat, protein dan vitamin. Pada mulanya sawi asin dibuat dengan menggunakan media larutan gula dan garam. Selanjutnya pembuatan sawi asin berkembang dengan menggunakan media air kelapa atau menggunakan media dari air tajin.

Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi, identifikasi, dan uji antimikrobia bakteri asam laktat yang terkandung pada sawi asin yang dijual di pasar-pasar tradisional kota Yogyakarta.

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat Bakteri Asam Laktat dari produk pangan fermentasi sawi asin yang berpotensi sebagai probiotik?

## **C. Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri asam laktat hasil isolasi dari produk pangan fermentasi sawi asin serta mengetahui potensinya sebagai probiotik.

## **D. Manfaat**

Beberapa manfaat dari penelitian ini antara lain dapat memberi masukan pengetahuan maupun referensi untuk penelitian dan pengembangan berikutnya. Dalam hal ini temuan isolat dapat dimanfaatkan sebagai kultur *starter* pada industri pengembang produk pangan berprobiotik, meningkatkan nilai manfaat dari makanan fermentasi sawi asin.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Bakteri asam laktat hasil isolasi sampel sawi asin dari Pasar Pathuk, Pasar Kranggan, dan Pasar Demangan yaitu isolat Sa<sub>36</sub>A, Sa<sub>46</sub>B, dan Sa<sub>55</sub>A teridentifikasi sebagai spesies *Lactobacillus plantarum*. Ketiga isolat tersebut memiliki daya antimikrobia cukup kuat dengan kandidat unggulan yaitu isolat Sa<sub>36</sub>A karena satu-satunya isolat yang termasuk sebagai bakteri homofermentatif.

#### **B. Saran**

1. Isolat Sa<sub>36</sub>A berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai starter bakteri asam laktat terhadap proses pembuatan sawi asin sebagai upaya meningkatkan mutu yang baik dan konsisten.
2. Potensi probiotik dari penelitian ini dilakukan terhadap bakteri patogen Gram negatif, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai potensi probiotik terhadap bakteri pathogen Gram positif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Berrada N, Lemeland JF, Laroche G, Thouvenot P, Piaia M. 1991. *Bifidobacterium* from fermented milks: Survival during gastric transit. J Dairy Sci. 74:409-413.
- Bourlioux PB, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. 2003. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host; Report in Danone symposium the intelligent intestine. Am J Clin Nutr. 78:675-683
- Casida LE. 1968. Industrial Microbiology. John Wiley and Sons Inc. New York
- Chou LS, Weimer. 1999. Isolation and characterization of acid and bile tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. J Dairy Sci. 62:23-31
- Davis WW, Stout TR. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay: Factors influencing variability and error. Appl Microbiol. 22 (4):659-665
- Fardiaz S. 1992. Mikrobiologi pangan I. PT Gramedia. Jakarta
- Farida E. 2006. Seleksi dan Pengujian Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Hasil Isolat Lokal serta Kemampuannya dalam Menghambat Sekresi Interleukin-8 Dari Alur Sel Hct 116. Thesis. Institut Pertanian Bogor
- Fuller R. 1992. Probiotics, The Scientific Basis. Chapman & Hall. London
- Gilliland SE. 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. FEMS Microbiol Rev. 175-188
- Hong JW, Kim IH, Kwon OS, Kim JH, Min BJ, Lee WB. 2002. Effects of dietary probiotics supplementation on growth performance and fecal gas emission in nursing and finishing pigs. J Anim Sci Technol. (Kor.) 44:305-314
- Hutkins RW, Nannen NL. 1993. pH homeostasis in lactic acid bacteria. J. Dairy Sci. 76:2354-2365
- Jacobsen CN, Nielsen VR, Hayford AE, Moller PL, Michaelsen KF, Erregaard KF, Sandstrom B, Tvede M, Jakobsen M. 1999. Screening of probiotic activities of forty seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in human. Appl Environ Microbiol. 65:4949-4956



- Jankovic I, Ventura M, Meylan V, Elli, Zink R. 2003. Contribution of aggregation promoting factor to maintenance of cell shape in *Lactobacillus gasseri* 4B2. *J Bacteriol.* 185(11): 3288-3296
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Ali MA, Jalaludin S. 1996. Antagonistic effects of intestinal *Lactobacillus* isolates on pathogens of chicken. *Lett Appl Microbiol.* 23:67-71
- Kiers JL, Nout RM, Rombouts FM. 2000. In vitro digestibility of processed and fermented soya bean, cowpea and maize. *J Sci Food Agric.* 80:1325–1331
- Kolenbrander PE, Ganeshkumar N, Cassels FJ, Hughes CV. 1993. Coaggregation: Specific adherence among human oral plaque bacteria. *Faseb J.*7:406-413
- Kost BJ, Suskovic M, Simpraga J, Frece, Matosic. 2003. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *J Appl Microbiol.* 94:981-987
- Kozaki M, Uchimura Y, Okada S. 1992. Manual for isolation and identification of lactic acid bacteria. Asakura shoten. Tokyo
- Lay BW, Hastowo S. 1992. Mikrobiologi. Rajawali Press. Jakarta
- Lay BW. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Raja Grafindo Persada. Jakarta
- Lu, Walker. 2001. Pathologic and physiologic interactions of bacteria with the gastrointestinal epithelium. *Am J Clin Nutr Suppl.* 73:1124-1130
- Margono T, Suryati D, Hartinah S. 1993. Buku Panduan Teknologi Pangan. Pusat Informasi Wanita dalam Pembangunan PDII-LIPI bekerjasama dengan Swiss Development Cooperation. Jakarta
- Muladno. 2010. Teknologi rekayasa genetika. IPB Press. Bogor
- Ngatirah A, Harmayanti ES, Utami T. 2000. Seleksi bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik yang berpotensi menurunkan kolesterol. *Prosiding Seminar Nasional Industri Pangan. PATPI II:*63-70
- Noh DO, Gilliland SE. 1993. Influence of bile on cellular integrity and beta-galactosidase activity of *L. acidophilus*. *J Dairy Sci.* 76:1253-1259
- Palomares I, Perez-Morales R, Acedo-Felix E. 2007. Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus* isolated from small intestine of piglets. *Rev Latin Microbiol.* 49(3-4):46-54
- Pelczar MJ, Chan ECS. 2007. Dasar-Dasar Mikrobiologi I. Terjemahan: Hadioetomo RA, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Universitas Indonesia Press. Jakarta

- Pospiech A, Neumann B. 1995. A versatile quickprep of genomic DNA from Gram-positive bacteria. *Trends Genet.* 11:217-218
- Primrose SB, Twyman RM, Old RW. 2001. Principles of gene manipulation. Blackwell Science Ltd. Oxford
- Purwati E, Syukur S, Hidayat Z. 2005. *Lactobacillus* sp. Isolasi dari Biovicophitomega sebagai Probiotik. Proceeding Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta
- Rahayu ES, Djaafar TF, Wibowo D, Sudarmadji S. 1996. Lactic acid bacteria from indigenous fermented foods and their antimicrobial activity, *JIFNP*, 3(2):21-27
- Reid G. 2000. In vitro testing of *Lactobacillus acidophilus* NCFM™ as a possible probiotic for the urogenital tract. *Int Dairy J.* 10(5):415-419
- Salle AJ. 1961. Fundamental Principles of Bacteriology. McGraw-Hill. New York
- Sanders ME. 2000. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr.* 130:384-390
- Sari RA, Risa N, Puji A. 2012. Karakterisasi bakteri asam laktat genus *Leuconostoc* dari pekasam ale-ale hasil formulasi skala laboratorium. *J Kim Khatulistiwa.* 1(1):4-20
- Surono I S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. PT. Tri Cipta Karya. Jakarta
- Syahrurahman A. 1994. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi. Penerbit Binarupa Aksara
- Todar K. 2009. Lactic Acid Bacteria. Online Textbook of Bacteriology. <http://textbookofbacteriology.net/lactics.html>. Diakses tanggal 20 September 2013
- Wolfe SL. 1993. Molecular and Cellular Biology. Wadsworth Publishing Company. Belmont
- Zavaglia AG, Kociubinski G, Perez P, de Antoni G. 1998. Isolation and characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. *J Food Prot.* 61(7):865-873