

Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari induk abalon (*Haliotis asinina*) yang berpotensi sebagai kandidat probiotik

SARKONO^{1,*}, FATURRAHMAN¹, YAYAN SOFYAN²

Sarkono, Faturrahman, Sofyan Y. 2010. Isolation and identification of lactic acid bacteria from abalone (Haliotis asinina) as a potential candidate of probiotic.

The purpose of this study was to isolate, select and characterize lactic acid bacteria (LAB) from abalone as a potential candidate probiotic in abalone cultivation system. Selective isolation of LAB performed using de Man Rogosa Sharpe medium. LAB isolate that potential as probiotics was screened. Selection was based on its ability to suppress the growth of pathogenic bacteria, bacterial resistance to acidic conditions and bacterial resistance to bile salts (bile). Further characterization and identification conducted to determine the species. The results showed that two of the ten isolates potential to be developed as probiotic bacteria that have the ability to inhibit several pathogenic bacteria such as *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*, able to grow at acidic condition and bile tolerance during the incubation for 24 hour. Based on the API test kit, the both of isolate identified as members of the species *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*.

Key word: lactic acid bacteria, isolation, identification, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*

Sarkono, Faturrahman, Sofyan Y. 2010. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari induk abalon (Haliotis asinina) yang berpotensi sebagai kandidat probiotik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi, menyeleksi dan mengkarakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari induk abalon yang berpotensi sebagai kandidat probiotik pada sistem budidaya abalon. Isolasi selektif BAL dilakukan menggunakan media de Man Rogosa Sharpe Agar. Isolat BAL yang berpotensi sebagai probiotik diskriming. Pemilihan ini didasarkan atas kemampuannya dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen, resistensi terhadap kondisi asam, resistensi terhadap *bile salt* (empedu). Selanjutnya dilakukan karakterisasi dan identifikasi untuk mengetahui spesiesnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 2 di antara 10 isolat yang berhasil diisolasi dari abalon berpotensi untuk dikembangkan menjadi bakteri probiotik karena mempunyai kemampuan menghambat beberapa bakteri patogen yaitu *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*, mampu tumbuh pada kondisi asam dan toleran terhadap cairan empedu selama inkubasi 24 jam. Berdasarkan uji API Kit, kedua isolat teridentifikasi sebagai anggota spesies *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*.

Kata kunci: bakteri asam laktat, isolasi, identifikasi, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*

♥ Alamat korespondensi:

¹ Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Jl. Majapahit 62 Mataram 83125, Nusa Tenggara Barat, Indonesia. Tel./Fax.: +62-370-646506
*email: sarkonobiologi@gmail.com

² Balai Budidaya Laut Grupuk, Sengkol, Pujut, Lombok Tengah kode pos 83511Nusa Tenggara Barat, Indonesia

Manuskrip diterima: 13 Desember 2009. Revisi disetujui: 15 Maret 2009.

♥♥

Edisi bahasa Indonesia dari: Sarkono, Faturrahman, Sofyan Y. 2010. *Isolation and identification of lactic acid bacteria from abalone (Haliotis asinina) as a potential candidate of probiotic.* Nusantra Bioscience 2: 38-42

PENDAHULUAN

Salah satu jenis kerang yang berpotensi dan bernilai ekonomis adalah kerang mata tujuh. Kerang mata tujuh (*Haliotis asinina*) disebut juga abalon, *awabi*, *mutton fish*, *sea ear* dan dalam bahasa daerah sasak (Lombok) disebut medau. Abalon termasuk jenis kerang univalve (Cholik *et al.* 2005) yang dagingnya mempunyai nilai gizi cukup tinggi dengan kandungan protein sebesar 71,99%, dan lemak 3,20%. Cangkangnya juga mempunyai nilai estetika yang dapat digunakan untuk perhiasan, pembuatan kancing baju dan berbagai bentuk barang kerajinan lainnya (Imai 1997).

Abalon banyak ditemui di Indonesia Bagian Timur (Bali, Lombok, Sumbawa, Sulawesi, Maluku dan Papua). Di Pulau Lombok abalon banyak dijumpai di perairan pantai selatan Lombok Tengah yaitu Pantai Kute dan sekitarnya. Selama ini abalon telah dieksploitasi oleh penduduk setempat secara tidak selektif sehingga mengakibatkan berkurangnya hasil tangkapan dan dalam jangka panjang dapat mengancam kelestariannya.

Upaya rekayasa teknologi budidaya abalon mulai dari domestikasi, uji coba pematangan gonad di bak terkontrol, pemijahan, pemeliharaan larva, dan penyiapan pakan larva sudah

dilakukan (Sofyan *et al.* 2005), namun kegiatan tersebut belum memberikan hasil yang memuaskan. Tingkat sintasan (kelulushidupan) larva abalon pada bak pemeliharaan larva sampai saat masih sangat rendah yaitu berkisar 1,0%. Mortalitas banyak terjadi pada stadia planktonis hingga saat penempelan pada substrat (minggu-minggu pertama). Sintasan larva yang rendah salah satunya disebabkan sistem filtrasi air yang kurang baik yang mengakibatkan munculnya protozoa, cacing dan berbagai jenis mikroorganisme patogen yang dapat menyebabkan kematian larva.

Salah satu upaya untuk mencegah terjadinya pergeseran populasi (*split population*) dan sekaligus menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen adalah dengan mempertahankan keseimbangan alami mikroorganisme dalam sistem pemeliharaan larva (Haryanti *et al.* 1997) melalui penambahan mikroorganisme probiotik (Fuller 1989). Pencegahan penyakit berlangsung dengan cara mengontrol pertumbuhan mikrobia patogen potensial pada saluran pencernaan (Strompfova *et al.* 2005; Iñiguez-Palomares *et al.* 2007) dan sejumlah efek positif bakteri probiotik termasuk immunomodulasi Wallace *et al.* 2003). Pengembangan probiotik untuk budidaya abalon akan lebih baik jika mikroba probiotik tersebut *indigenous* abalon itu sendiri, sehingga dapat dihindari permasalahan kemampuan adaptasi mikroba tersebut pada bak pemeliharaan larva dan saluran tubuh kerang mata tujuh pada saat diaplikasikan. Oleh karena itu sangat penting dilakukan kajian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri *indigenous* abalon yang berpotensi probiotik.

BAHAN DAN METODE

Isolasi strain BAL dari Kerang Mata Tujuh

Sebanyak 20 contoh induk jantan dan betina kerang mata tujuh yang sehat diperoleh dari Balai Budidaya Laut Lombok. Kemudian cairan dari saluran pencernaan kerang diambil secara steril sebanyak 1-10 g. Isolasi selektif BAL dilakukan dengan metode *Spread plate* yang dikembangkan oleh Brashear *et al.* (2003) dan Ray *et al.* (1997). Sebanyak 1 g contoh ditambahkan kedalam 10 ml deMan Rogosa Sharpe (MRS) broth steril dan dicampur hingga homogen. Suspensi kemudian disebarkan diatas media MRS pH 5,5 plus 0,1% Na-azida yang masing-masing ditambah kalsium karbonat 1%. Selanjutnya cawan-cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam dalam

inkubator dalam suasana mikro-aerofilik. Koloni-koloni tunggal yang tumbuh diambil dari masing masing cawan dan ditransfer kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml MRS broth. Kemudian diinkubasi pada 37°C selama 18-72 jam untuk mendapatkan pertumbuhan kultur yang maksimal. Kultur isolat digoreskan kembali diatas media MRS agar pada cawan petri dan diinkubasi pada 37°C selama 48 jam hingga diperoleh koloni tunggal/ kultur murni. Pada kultur murni ini dilakukan pewarnaan Gram untuk identifikasi awal. Kultur bakteri asam laktat yang diperoleh disimpan dengan suhu beku. Stok yang akan digunakan disiapkan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media cair MRS dan diinkubasi pada 37°C selama 24-48 jam (Rahayu *et al.* 2004).

Uji daya antibakteri strain BAL

Isolat-isolat BAL yang didapatkan selanjutnya diuji kemampuan antibakterinya terhadap mikroba patogen yaitu *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode sumuran (*well diffusion assay*). Masing-masing isolat diperlakukan dalam bentuk supernatan hasil fermentasi yang berisi metabolit ekstraselular, yang diperoleh dengan cara menginokulasi kultur cair isolat bakteri asam laktat sebanyak 2% ke dalam media cair deMan Rogosa Sharpe (pH 6.5) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 96 jam (Bar *et al.* 1987). Setelah inkubasi dilakukan pengukuran pH, selanjutnya kultur cair disentrifugasi menggunakan sentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh disterilisasi dengan filter bakteri (diameter porous 0,2 µm, Whatman) sehingga diperoleh metabolit ekstraseluler steril.

Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran (*well diffusion*) yang dikembangkan Djaafar *et al.* (1996) dan dimodifikasi Sarkono *et al.* (2006), yaitu dengan penanaman bakteri uji *E. coli*, *B. cereus* dan *S. aureus* pada cawan petri berbeda dengan media nutrisi agar keras yang sudah memadat, selanjutnya ditambah media nutrisi agar lunak di atasnya. Setelah didinginkan selama 1 jam dalam kamar pendingin, diberi sumuran dengan diameter 0,7 mm dan dimasukkan supernatan isolat bakteri, diinkubasikan pada 37°C selama 24-48 jam. Masing-masing isolat yang terdapat zona jernih diukur diameternya.

Uji toleransi terhadap asam dan empedu

Isolat BAL yang ekstensif menghambat pertumbuhan bakteri patogen diskruing

toleransinya terhadap asam dan empedu. Uji toleransi terhadap asam menggunakan metode Brashear *et al.* (2003). Kultur segar BAL dipanen dari MRS broth dengan sentrifugasi dan pelet yang diperoleh dicuci dan disuspensikan dengan fosfat buffer saline (PBS) steril. Masing masing strain ditambahkan 4 ml PBS steril dan pH disesuaikan pada pH 2, 4, 5 dan 7 (kontrol) dan diinkubasi untuk 2, 4 dan 24 jam dalam water bath pada suhu 37°C. Setelah tiap periode inkubasi, pertumbuhan strain dapat diketahui dengan mengukur absorbansi pada 620 nm.

Uji toleransi terhadap empedu menggunakan metode Gilliland *et al.* (1984). Kultur segar dari isolat BAL terpilih diinokulasikan kedalam tabung yang mengandung MRS broth 10 ml dengan kadar 0 (kontrol), 0.05, 0.15 dan 0.3 % oxgall. Tabung inokulasi diinkubasi pada suhu 37 °C dalam water bath. Pertumbuhan isolat diamati pada 2, 4, 6, dan 24 jam dengan mengukur absorbansi pada 600 nm.

Identifikasi awal isolat dengan API

Identifikasi awal dilakukan terhadap isolat BAL yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *E. coli*, *B. cereus* dan *S. aureus* serta toleransi mereka terhadap asam dan empedu. Isolat BAL terpilih diidentifikasi melalui pola fermentasi dengan uji standar analisis profile indeks dengan Kit API 50CHL (Biomerieux 2009).

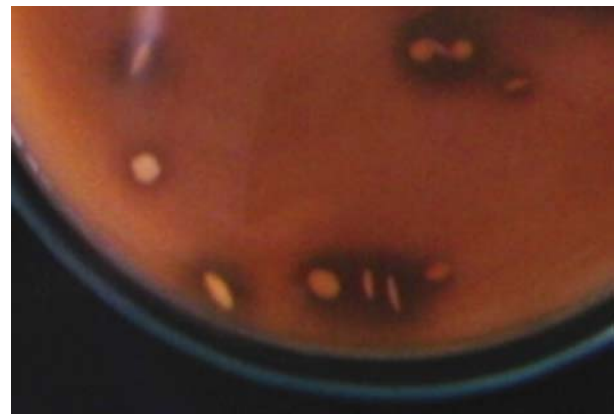
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi selektif Bakteri Asam Laktat dari Abalon

Dari proses isolasi dihasilkan 10 koloni yang diduga merupakan isolat Bakteri Asam Laktat

(BAL) karena menghasilkan zona jernih pada medium isolasi (Gambar 1), kemudian dilakukan uji penguatan dengan menumbuhkan ulang pada media MRS Agar ditambah CaCO₃ 1%. Dari uji konfirmasi dengan menumbuhkan ulang didapatkan hasil bahwa ke-10 isolat BAL mampu tumbuh dengan baik dan menghasilkan zona jernih di sekitar koloni. Hasil karakterisasi lebih lanjut membuktikan bahwa ke-10 isolat diduga kuat merupakan anggota bakteri asam laktat (Tabel 1).

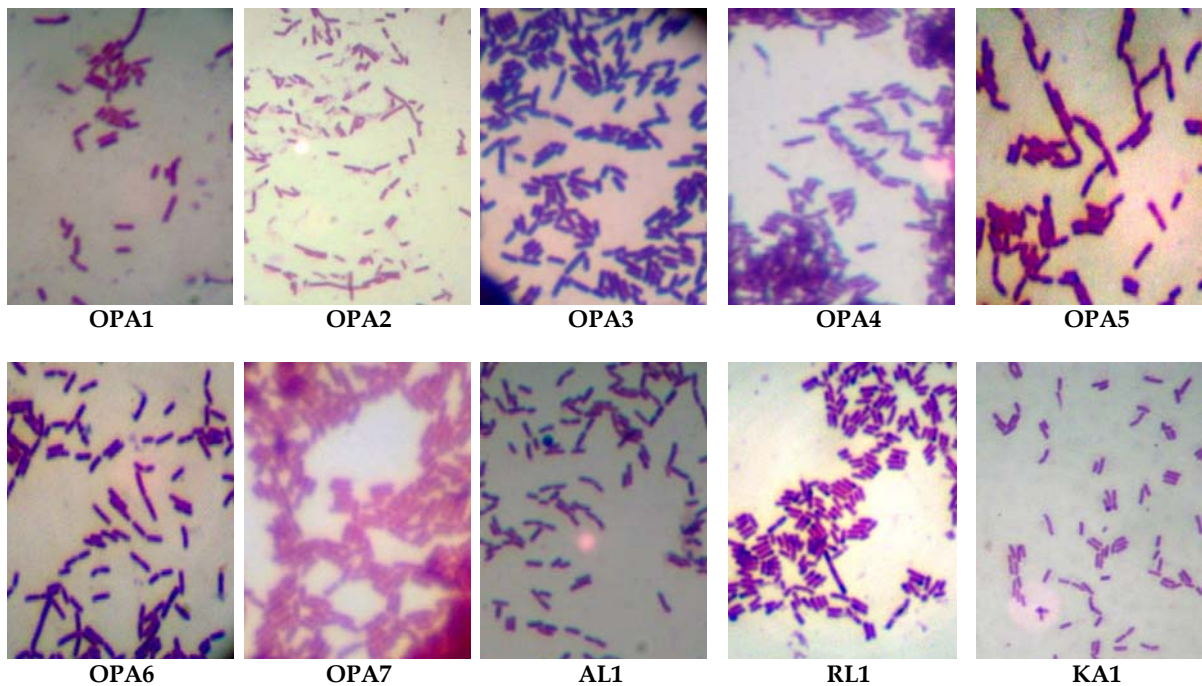
Hasil identifikasi pada tingkat genus menegaskan bahwa keempat isolat yang dikarakterisasi merupakan anggota genus *Lactobacillus*. Isolat-isolat tersebut mempunyai karakter fenotipik antara lain bentuk sel batang panjang, susunan sel berderet menyerupai pagar dan sendiri-sendiri berserakan, reaksi gram positif, tidak motil dan tidak membentuk endospora (Sneath *et al.* 1986). Gambar sel masing-masing isolat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Koloni yang diindikasikan sebagai BAL dengan zona jernih di sekitar koloni

Tabel 1. Hasil uji karakter penciri Bakteri Asam Laktat hasil isolasi dari abalon

Isolat	Sumber	Karakteristik penciri bakteri asam laktat				
		Bentuk sel	Reaksi Gram	Kata-ase	Motilitas	Endo-spore
OPA1	Organ pencernaan	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
OPA2	Organ pencernaan	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
OPA3	Organ pencernaan	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
OPA4	Organ pencernaan	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
OPA5	Organ pencernaan	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
OPA6	Organ pencernaan	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
OPA7	Organ pencernaan	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
AL1	Air laut	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
RL1	Rumput laut	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif
KA1	Kotoran abalon	Batang	Positif	Negatif	Negatif	Negatif



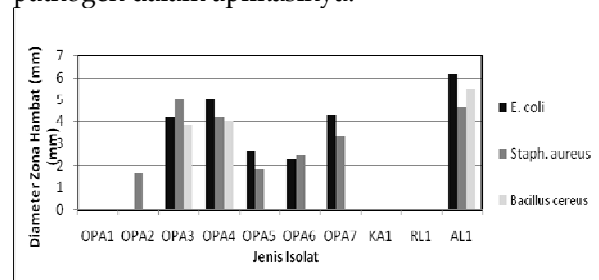
Gambar 2. Reaksi Gram dan bentuk sel isolat BAL yang diisolasi kerang mata tujuh (abalon) dan habitatnya

Uji daya antibakteri strain BAL terhadap bakteri patogen *E. coli*, *B. cereus* dan *S. aureus*

Hasil uji penghambatan pertumbuhan bakteri indikator dengan metode difusi sumuran menunjukkan bahwa tujuh diantara sepuluh isolat memperlihatkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri indikator, ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar sumuran dengan ukuran yang bervariasi. Tiga isolat memiliki kemampuan menghambat tiga bakteri indikator sekaligus yakni isolat OPA3, OPA4 dan AL1. Tiga isolate mampu menghambat pertumbuhan dua bakteri indikator yaitu isolat OPA5, OPA6 dan OPA7. Sementara itu hanya satu isolat yang hanya mampu menghambat pertumbuhan satu bakteri indikator yaitu isolat OPA1, sedangkan tiga isolat lainnya yakni OPA1, RL1 dan KA1 tidak mempunyai kemampuan menghambat satupun bakteri indikator (Gambar 4).

Berdasarkan karakter zona penghambatannya, sepuluh isolat yang diuji memperlihatkan karakter penghambatan yang berbeda, namun secara umum ada yang memperlihatkan zona hambatan dengan pinggiran kabur (tidak tegas) dan sebagian yang lain memperlihatkan zona hambatan dengan pinggiran tegas.. Pinggiran yang kabur menunjukkan bahwa metabolit aktif yang terdapat dalam supernatan bersifat

bakteriostatik, yang hanya bersifat menghambat pertumbuhan sel bakteri indikator tetapi tidak membunuh sel. Menurut Rahayu (2004), zona hambatan yang kabur kemungkinan merupakan aksi dari asam dan komponen antibakteri lainnya yang hanya bersifat bakteriostatik, karena sebagian bakteri uji (indikator) tetap hidup pada daerah zona jernih walaupun dengan pertumbuhan yang sangat lambat. Sementara itu zona hambatan dengan pinggiran yang tegas mengindikasikan isolate mempunyai kemampuan menghasilkan metabolit yang bersifat bakterisida, dimana metabolit dapat membunuh sel bakteri indikator. Hal ini merupakan salah satu kemampuan yang diharapkan dari bakteri probiotik sehingga lebih dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri pathogen dalam aplikasinya.



Gambar 4. Grafik uji antibakteri supernatan isolat BAL terhadap bakteri indikator *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus* dengan metode difusi sumuran (*well diffusion*)

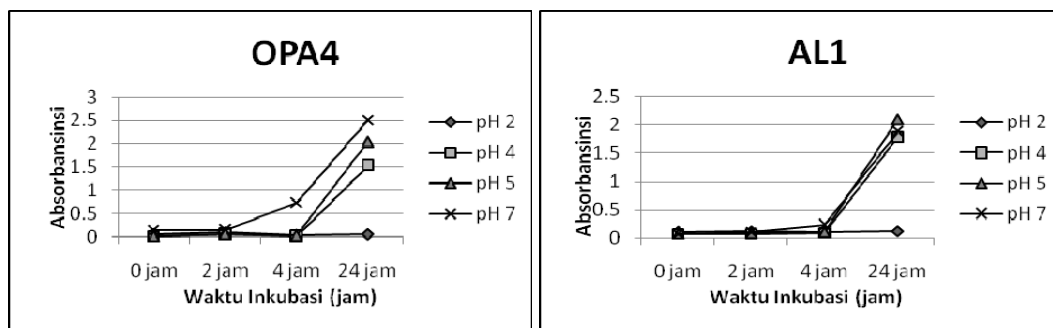
Uji toleransi terhadap asam dan empedu

Berdasarkan hasil uji kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen pada tahap penelitian sebelumnya kemudian diseleksi 2 isolat yang mempunyai daya hambat terbaik untuk kemudian dilanjutkan dengan uji pertumbuhan isolat dalam suasana asam dan empedu. Data yang didapatkan dari uji ini berupa data absorbansi dengan menggunakan alat spektrofotometer. Adanya penambahan nilai absorbansi seiring dengan penambahan waktu inkubasi menunjukkan adanya pertumbuhan isolat BAL yang diuji (Gambar 5).

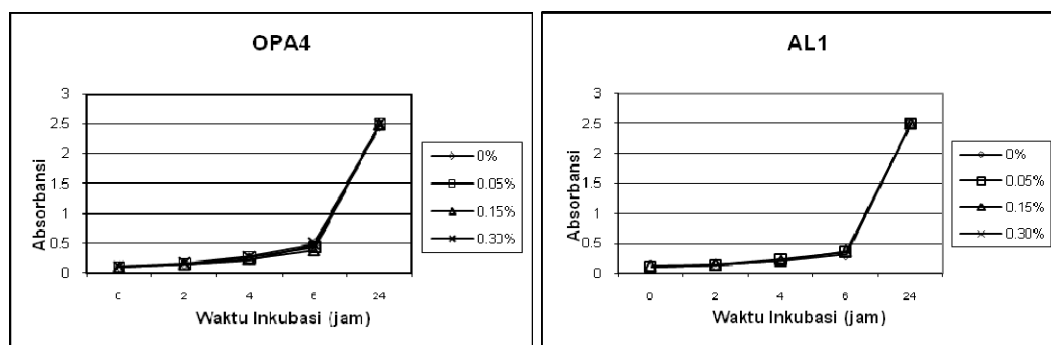
Gambar 5 memperlihatkan bahwa kedua isolat Bakteri Asam Laktat yang diuji menunjukkan kemampuan tumbuh dalam suasana asam yang relatif sama. Isolat OPA4 dan AL1 mempunyai kemampuan adaptasi yang sangat baik terhadap suasana asam, karena terjadi peningkatan pertumbuhan pada 3 level pH dalam periode 24 jam. Pada pH 2 kedua isolat tidak tumbuh, karena pH 2 merupakan pH

yang sangat ekstrim untuk pertumbuhan mikroorganisme, termasuk bakteri asam laktat yang secara umum teradaptasi untuk hidup dalam habitat dengan suasana pH yang cukup rendah. Pada pH 4, 5 dan 7 kedua isolat mampu tumbuh dengan baik, peningkatan pertumbuhan yang eksponensial terjadi pada pengamatan jam ke 24 karena adanya rentang waktu inkubasi yang cukup panjang dari jam ke 4 sampai jam ke 24 sehingga terjadi pembelahan sel yang sangat signifikan. Isolat OPA4 mencapai pertumbuhan terbaik pada pH 7 sedangkan isolat AL1 pada pH 5. Bakteri asam laktat pada umumnya menghendaki suasana pH sedikit dibawah pH netral untuk pertumbuhan terbaiknya (Axellson 1998).

Hasil uji ketahanan isolat terhadap cairan empedu menunjukkan bahwa keempat isolat mempunyai kemampuan yang amat sangat baik, karena terjadi peningkatan pertumbuhan pada keseluruhan level konsentrasi empedu (0,05%; 0,15%; dan 0,30%) dalam periode 24 jam (Gambar 6).



Gambar 5. Grafik uji pertumbuhan isolat terpilih dalam suasana asam selama waktu inkubasi 24 jam, (a) isolat OPA4 dan (b) isolat AL1



Gambar 6. Grafik uji pertumbuhan isolat terpilih dalam cairan empedu selama waktu inkubasi 24 jam

Kemampuan tumbuh dalam cairan empedu dari kedua isolat yaitu OPA4 dan AL1 belum dapat dibedakan satu sama lain, hal ini diduga karena konsentrasi empedu yang digunakan masih sangat rendah. Uji ketahanan terhadap cairan empedu ini menggunakan metode yang dikembangkan oleh Gilliland *et al.* (1984) yang menggunakan konsentrasi cairan empedu sebesar 0,05%; 0,15%; dan 0,30%. Sebagai bahan perbandingan, peneliti lain (Ljungh *et al.* 2002) menguji ketahanan isolat *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* F19 pada 20% cairan empedu dan masih menunjukkan adanya pertumbuhan pada waktu inkubasi 2 jam.

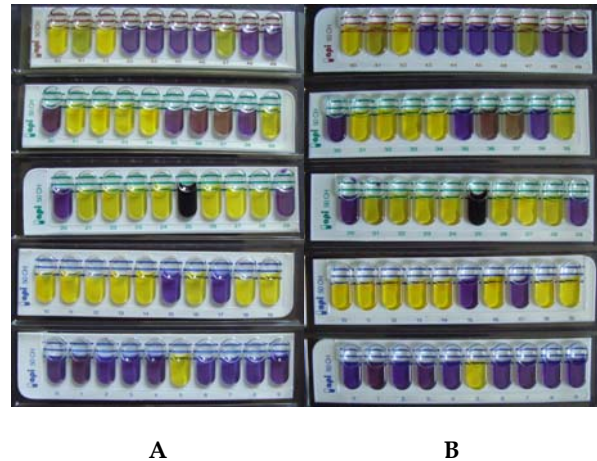
Identifikasi awal isolat dengan API

Uji biokimia dengan API Kit digunakan untuk mengetahui karakter biokimia dari isolat BAL yang diuji sehingga dapat digunakan untuk kepentingan identifikasi. Karena kedua isolat BAL yang diuji merupakan anggota genus *Lactobacillus*, maka hanya digunakan Kit API 50CHL yang isinya adalah 49 jenis gula beserta derivatnya ditambah dengan satu kontrol negatif sehingga keseluruhan ada 50 jenis uji (Biomerieux 2009). Secara visual Kit API 50CHL direpresentasikan oleh Gambar 7.

Uji fermentasi gula-gula merupakan salah satu proses karakterisasi yang sangat penting pada genus *Lactobacillus* untuk mengetahui keanekaragaman karakternya menuju identifikasi spesies (Holt *et al.* 1994). Hasil uji gula-gula dengan API kit terhadap 10 isolat hasil isolasi berupa karakter positif (+) dan negatif(-) yang keseluruhannya berjumlah 50 karakter, kemudian dianalisis dengan program komputer Apiweb™ Version 1.2.1 untuk mengidentifikasi nama spesies.

Hasil uji menunjukkan bahwa setelah inkubasi 48 jam isolat OPA4 dan AL1 memberikan hasil yang sama yaitu reaksi positif pada gula nomor 5, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 31, 32, 34, 39, 40, 41, 42 dan 47, selebihnya bereaksi negatif. Hal ini menunjukkan tingkat kesamaan karakter yang sangat tinggi antara kedua isolat, sehingga dimungkinkan mereka berasal dari strain yang sama, setidaknya merupakan anggota spesies yang sama. Hasil uji yang berupa profil fermentasi gula kemudian dianalisis dengan program Apiweb™ version 1.2.1, hasilnya adalah bahwa kedua isolat yang diuji merupakan anggota spesies yang sama yaitu *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei*. Spesies ini sangat dekat

hubungan kekerabatannya bahkan dianggap sebagai *neotype strain* dari spesies *Lactobacillus lactis* (Dellaglio *et al.* 2002). Menurut Vlieger *et al.* (2009) anggota spesies ini sudah diaplikasikan sebagai bakteri probiotik pada susu bayi bersama-sama dengan *Bifidobacterium*.



Gambar 7. Visualisasi hasil uji fermentasi gula dengan Kit API 50CHL (a) isolat AL1 48 jam dan (b) isolat OPA4 48 jam

KESIMPULAN DAN SARAN

Sebanyak sepuluh isolat bakteri asam laktat berhasil diisolasi induk Kerang Mata Tujuh dan habitatnya. Setelah dilakukan seleksi didapatkan dua isolat yang berpotensi untuk menjadi kandidat probiotik yaitu OPA4 dan AL1. Kedua isolat mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri enteropatogenik *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* dengan luas zona hambat yang bervariasi, mampu tumbuh pada kondisi asam dan toleran terhadap cairan empedu selama inkubasi 24 jam. Berdasarkan uji Kit API 50CHL dan dianalisis dengan software Apiweb™ Version 1.2.1, kedua isolat teridentifikasi sebagai anggota spesies *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei*.

Isolat-isolat hasil penelitian ini yang potensial untuk dijadikan kandidat probiotik pada sistem pemeliharaan larva kerang mata tujuh (*Haliotis asinina*) diharapkan dapat dipelajari lebih lanjut agar dapat diketahui potensinya dalam meningkatkan kelulushidupan larva kerang mata tujuh secara *in vitro* dan *in vivo*, sehingga dapat direkomendasikan sebagai bakteri probiotik khususnya pada sistem budidaya kerang mata tujuh di masa yang akan datang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ditjen Dikti yang telah mendanai penelitian ini melalui proyek Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2009 dengan Kontrak Nomor: 0234.0/023-04.2/XXI/2009, Tanggal 31 Desember 2008

DAFTAR PUSTAKA

- Axelsson L. 1998. Lactid acid bacteria: clasification and physiology. In: Salminen S,Wright AV (eds). Lactid acid bacteria: microbiology and functional aspects. Marcel Dekker, New York.
- Bar NA, Harns ND, Hill RI. 1987. Purification and properties of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus*. J Food Sci 52: 411-415.
- Biomerieux. 2009. API 50CHL medium for invitro diagnostic use. <http://www.biomerieux.com>.
- Brashears MM, Jaroni D, Trimble J. 2003. Isolation, selection and characterization of lactic acid bacteria for a competitive exclusion product to reduce shedding of *Eschericia coli* 0157:H7 in cattle. J Food Protect. 66 (3): 355-363.
- Cholik F, Ateng G, Jagatraya, Poernomo RP, Ahmad A. 2005. Akuakultur tumpuan harapan masa depan bangsa. Kerjasama Masyarakat Perikanan Nusantara dan Taman Akuarium Air Tawar, Taman Mini Indonesia Indah. Jakarta.
- Djaafar TF, ES Rahayu, D Wibowo and S Sudarmadji. 1996. Antimicrobial substance produced by *Lactobacillus* sp. TGR-2 isolated from growol. Food and Nutrition Development and Research Center, Gadjah Mada University. Yogyakarta.
- Dellaglio F, Felis GE, Torriani G. 2002. The status of the species *Lactobacillus casei* (Orla-Jensen 1916) Hansen and Lessel 1971 and *Lactobacillus paracasei* Collins *et al.* 1989. request for an opinion. Intl J Syst Evol Microbiol 52: 285-287.
- Fuller R. 1989. Probiotic in man and animal. J Applied Bacteriol 66: 365.
- Gilliland SE, Stanley TE, Bush LJ. 1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. J Dairy Sci 67: 3045-3051.
- Haryanti, Samuel, Tsumura S, 1997. Studi pendahuluan penggunaan bakteri *Flamimonas* By-9 sebagai probiotik dalam pemeliharaan larva udang windu. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.
- Holt G, Kreig NR, Sneath PHA, Stanley JT, Williams ST. 1994. Bergeys manual of determinative bacteriology. 9th ed. William and Wilkins, Baltimore.
- Imai T. 1997. Aquacultur in shallows seas; progress in shallow sea culture. Oxford and IBH. New Delhi.
- Itiguez-Palomares C, Pérez-Morales R, Acedo-Félix E. 2007. Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus* isolated from small intestine of piglets. Rev Latinoam Microbiol 49 (3-4): 46-54.
- Ljung A, Lan J, Yanagisawa N. 2002. Isolation, selection and characteristics of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19. Microb Ecol Health Disease 14 (3) Suppl. 3: 4-6.
- Rahayu ES, Wardani AK, Margino S. 2004. Skrining bakteri asam laktat dari daging dan hasil olahannya sebagai penghasil bakteriosin. Agritech. Yogyakarta.
- Ray B, Rahayu ES, Margino S. 1997. BAL: isolasi dan identifikasi. PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta 13-14 Juni 1997.
- Sarkono, Sembiring L, Rahayu ES. 2006. Isolasi, seleksi, karakterisasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) penghasil bakteriosin dari berbagai buah masak. Sains dan Sibernatika 19 (2):1-5.
- Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds). 1986. Bergey's manual of systematic bacteriology. William and Wilkins. Baltimore.
- Sofyan Y, Sukriadi, Ade Y. 2005. Perekayasaan produksi benih abalone (*H. asinina*) di Loka Budidaya Laut Lombok. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan. Mataram.
- Sofyan Y, Sukriadi, Ade Y, Bagja I, Dadan K. 2005. Pembenuhan abalon (*Haliotis asinina*) di Balai Budidaya Laut Lombok. Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan. Mataram.
- Strompfova V, Marcinakova M, Gancarcikova S, Jonecova Z, Scirankova L, Guba P, Boldizarova K, Laukova A. 2005. New probiotic strain *Lactobacillus fermentum* AD1 and its effect in Japanese quail. Vet Med Czech 50 (9): 415-420.
- Vlioger AM, Robroch A, Buuren SV, Kiers J, Rijkers G, Benninga MA, Biesebeke R. 2009. Tolerance and safety of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in combination with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in a prebiotic-containing infant formula: a randomised controlled trial. Br J Nutr 31: 1-7.
- Wallace TD, Bradley S, Buckley ND, Green-Johnson JM. 2003. Interaction of lactic acid bacteria with human intestinal epithelial cells: effect on cytokine production. J Food Protect 66 (3): 466-472.