

Karakterisasi Fisikokimia dan Uji Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri Asam

Laktat Isolat 13 B Hasil Isolasi Kolon Sapi Bali

(*PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF BACTERIOCIN ACTIVITY ORIGINATED FROM LACTIC ACID BACTERIA ISOLATE 13 B FROM COLON'S BALI CATTLE*)

Ni Putu Iin Intan Pratiwi¹, I Wayan Suardana², I Nyoman Suarsana³

¹Mahasiswa Profesi Dokter Hewan

²Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner

³Laboratorium Biokimia Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl.P.B. Sudirman Denpasar Bali, Telp: 0361-223791

e-mail: iinintanpratiwi@yahoo.co.id

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah kelompok bakteri Gram positif, berbentuk kokus atau batang dan katalase negatif. Bakteri asam laktat mampu mengeksresikan senyawa antimikroba seperti bakteriosin. Bakteriosin memiliki sifat bakteriostatik atau bakterisidal terhadap bakteri patogen memiliki banyak kegunaan dalam kehidupan masyarakat contohnya sebagai antibiotik alami atau sebagai biopreservatif makanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik fisikokimia dan aktivitas antimikroba dari bakteriosin asal bakteri asam laktat isolat 13B hasil isolasi kolon sapi bali. Karakterisasi fisikokimia BAL diawali dengan melakukan uji pewarnaan gram dan uji katalase, selanjutnya isolasi dan pemurnian bakteriosin dari isolat 13B. Hasil dari pemurnian bakteriosin selanjutnya diuji secara kimiawi dengan uji Ninhidrin, uji Molisch, dan uji Lowry. Bakteriosin juga diuji potensi daya hambatnya terhadap bakteri *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Hasil dari penelitian menunjukkan bakteriosin asal bakteri asam laktat isolat 13B diketahui senyawa protein dengan berat molekul kurang dari 10 kDa dan mempunyai aktivitas antimikrobal terhadap bakteri *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*.

Kata Kunci: bakteri asam laktat, bakteriosin, fisiko-kimia.

ABSTRACT

Lactic Acid Bacteria (LAB) are a group of Gram-positive, bacteria which bacilli, or coccus shaped, and negative catalase. LAB produce antimicrobial compound like bacteriocin. That was known having bacteriostatic or bactericidal activity against pathogenic bacteria. According to its ability, it can be used as antibiotic or food biopreservative. The purpose of this study is to identify the characterisation of its physico chemical characteristics. The study was initiated by Gram staining and catalase test, followed isolating and purifying of bacteriocins by tested chemically on Ninhidrin, Molisch, and Lowry tests. Furthermore, bacteriocins were tested to identify its potency as a antibacterial compound against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. The result of study identified that bacteriocins isolated from isolates of 13B lactic acid categorized as a protein with molecular weight about 10 kDa. There were also known having antimicrobial activity against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*.

Keywords: Lactic acid bacteria, Bacteriocin, Physico-chemical.

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri Gram positif, tidak berspora, berbentuk bulat atau batang dan dapat mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Bakteri Asam Laktat mempunyai peranan penting hampir dalam semua proses fermentasi makanan dan minuman misalnya yogurt, yakult, susu asam dan keju (Korhonen, 2010).

Bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin, sehingga disebut sebagai *food grade microorganism* atau dikenal sebagai *Generally Recognized As Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan. Bakteri asam laktat bermanfaat untuk peningkatan kualitas hygiene dan keamanan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap flora berbahaya yang bersifat patogen. Bakteri asam laktat dapat berfungsi sebagai pengawet makanan karena mampu memproduksi asam organik, menurunkan pH lingkungannya dan mengeksresikan senyawa seperti H₂O₂, diasetil, CO₂, asetaldehid, d-isomer, asam amino dan bakteriosin (Kusmiati dan Malik, 2002).

Menurut Januarsyah (2007) bakteri asam laktat merupakan bakteri fakultatif anaerob yang hidup di berbagai habitat cukup luas di alam seperti pada tanaman, saluran pencernaan hewan maupun manusia. Bakteri asam laktat saat ini diketahui banyak memiliki kegunaan di antaranya dapat digunakan sebagai antibiotik, pengawet makanan, kultur fermentasi, dan pangan probiotik karena bakteri ini mempunyai aktivitas yang mampu melawan mikroorganisme patogen dan pembusuk makanan. Senyawa yang berperan dalam aktivitas tersebut adalah bakteriosin sebagai salah satu hasil metabolit bakteri tersebut.

Produk utama BAL pada fermentasi glukosa atau sukrosa adalah asam laktat, tetapi banyak laporan ilmiah yang membuktikan BAL ini mampu menghasilkan metabolit asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang bersifat sebagai antimikroba (Leroy, 2007). Senyawa antimikroba ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, termasuk bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Subtansi antimikroba yang dihasilkan oleh BAL ini dikenal dengan nama bakteriosin (Papagianni *et al.*, 2006; Diop *et al.*, 2007).

Bakteriosin adalah molekul protein yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau antimikrobia, karena sifat antimikrobia inilah bakteriosin sering digunakan sebagai biopreservatif makanan (Twomey *et al.*, 2002). Penggunaan bakteriosin

sebagai biopreservatif memiliki beberapa keuntungan, yaitu tidak bersifat toksik dan mudah mengalami biodegradasi karena bakteriosin ini adalah senyawa protein yang tidak membahayakan mikroflora usus, mudah dicerna oleh enzim-enzim dalam saluran pencernaan dan aman bagi lingkungan (Suardana *et al.*, 2007)

Bakteriosin secara alami dihasilkan oleh BAL, termasuk di antaranya bakteri yang digunakan dalam pembuatan yoghurt. Bakteriosin didefinisikan sebagai suatu senyawa protein yang memiliki bobot molekul kecil dan mempunyai aktivitas sebagai antibakterial atau bakteriostatik (Diop *et al.*, 2007). Bakteriosin bersifat stabil yaitu tahan terhadap proses pengolahan yang melibatkan asam dan basa, suhu panas dan dingin, dapat beradaptasi dengan baik pada lingkungannya, stabil saat disimpan, tidak mengubah cita rasa, dan mempunyai spektrum yang kecil terhadap aktivitas mikroorganisme (Jay dan James, 1992).

Pemilihan asal isolat dari hospes sapi bali, diharapkan dapat ditemukannya jenis species BAL yang memiliki karakteristik unik khususnya ditinjau dari potensi aktivitas bakteriosin yang dihasilkannya.

METODE PENELITIAN

Objek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat 13B asal BAL hasil isolasi kolon sapi bali. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini Antara lain isolasi BAL dari kolon sapi bali, ammonium sulfat, ninhidrin 0,1%, pereaksi Molisch, asam sulfat pekat, aquades, Na₂CO₃, NaOH, CuSO₄, sodium sitrat, pereaksi *folin ciocateu*, media MRS *broth*, *loading buffer 5x*, *sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis*, *coomassie brilliant blue*, larutan methanol, asam asetat glasial, larutan PBS, H₂O₂, lugol, Kristal violet 2%, Safranin, Antibiotik disc Amoxicilin, MRS agar. Alat alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya Sentrifugator, rak tabung, plate, tabung reaksi, cawan petri, jangka sorong, gelas beker, media MRS *broth*, gelas ukur, incubator, spektrofotometer, autoklaf, bunsen, tip, mikropipet, *fortex mixer*, *refrigerator*, *ependorf*, jarum ose, *tissue*, kertas label, *aluminium foil*, kapas, *magnetic stirrer*, penangas air, glas preparat, mikroskop, kertas *disc*.

Dalam prosedur penumbuhan isolat 13B terlebih dahulu disiapkan media MRS *broth* dalam ttabung enlenmeyer dan disiapkan isolat yang akan ditumbuhkan. Selanjutnya sebanyak 20 mikro isolat 13B diambil menggunakan mikropipet dan ditanam pada media MRS *broth* yang telah disimpan.

Pada pewarnaan Gram terlebih dahulu dibuat ulasan preparat isolat 13B, kemudian ulasan preparat yang telah kering diwarnai dengan Kristal violet 2% selama 1 menit, selanjutnya dicuci dibawah air mengalir. Langkah berikutnya ulas preparat ditetes dengan lugol selama 1 menit, kemudian dicuci dibawah air mengalir. Preparat isolat yang telah bersih ditetesi dengan alkohol aseton selama 1 menit, kemudian dicuci dibawah air mengalir. Setelah itu, preparat isolat diwarnai dengan Safranin selama 5 detik, kemudian dicuci kembali dibawah air mengalir. Selanjutnya preparat isolat 13B dilihat dibawah mikroskop.

Pada uji katalase dua tetes isolat 13B ditambahkan dua tetes H₂O₂ 10% selanjutnya amati reaksi yang terjadi. Apabila terdapat gelembung gas maka hasil uji katalase menunjukkan hasil positif. Sebaliknya, bila tidak terbentuk gelembung gas pada reaksi uji katalase, maka hasil uji menunjukkan hasil negatif. Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktifitas katalase pada bakteri yang diuji.

Pemurnian bakteriosin spesies BAL yang telah teridentifikasi melalui sistem API 50 HCL ditanam dalam 5 ml media MRS broth dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya biakan bakteri BAL disentrifugasi pada 7000 rpm selama 10 menit. Supernatant yang diperoleh dari hasil sentrifugasi selanjutnya dipresipitasi dengan amonium sulfat. Untuk mendapatkan presipitat bakteriosin tersebut supernatant bebas sel sebanyak yang dibutuhkan ditambah amonium sulfat sebanyak 9,05 gram dengan persen kejenuhan 70% secara perlahan-lahan sambil diaduk, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Endapan yang didapat kemudian dilarutkan dengan NaCl fisiologis pada perbandingan 1:1 (v/v). dan dimasukkan kedalam tabung dialisi untuk disterilkan dari garam-garam sulfat. Untuk membuka tabung dialisis, tabung dialisis direndam dalam air mendidih yang telah ditambah EDTA. Setelah larutan antibakteri dimasukkan kedalam tabung dialisis, tabung dialisis digantung pada penggantung dan dicelupkan kedalam larutan NaCl fisiologis selama 24 jam. Larutan bakteriosin murni yang diperoleh digunakan untuk uji berikutnya.

Hasil dari pemurnian bakteriosin selanjutnya diuji secara kimiawi dengan uji Ninhidrin, uji Molisch, dan uji Lowry. Uji Ninhidrin terlebih dahulu disiapkan sebanyak 1 ml larutan bakteriosin diberi dua tetes ninhidrin 0,1% (dalam aseton), kemudian dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 5 menit. Reaksi positif ditandai dengan terlihat warna ungu. Pada uji Molisch disiapkan sebanyak 1 ml larutan bakteriosin yang diuji dicampur dengan Reagent Molisch (α -naphthol yang terlarut dalam etanol) hingga homogen, kemudian H₂SO₄ pekat

perlahan-lahan dituangkan melalui dinding tabung reaksi agar tidak sampai bercampur dengan larutan atau hanya membentuk lapisan. Apabila dalam campuran tersebut positif terdapat karbohidrat maka muncul cincin ungu di permukaan antara lapisan asam dan lapisan larutan bakteriosin.

Metode Lowry Pereaksi yang diperlukan dalam uji lowry antara lain: Pereaksi A (2% Na₂CO₃ dalam 2 N NaOH) : 5 gr Na₂CO₃ dan 2 gr NaOH) dilarutkan dengan akuades hingga mencapai 250 ml. Pereaksi B (1,5% CuSO₄ dalam Natrium Kalium Tartat) :0,05 gr CuSO₄ dan 0,2 gr Natrium Kalium Tartat dilarutkan dalam 10 ml aquades. Pereaksi C (Pereaksi A : Pereaksi B = 50 : 1). Pereaksi D (Pereaksi Folin Ciocateu : aquades = 1:1. Standar protein Bovine Serum Albumin Fraksi V (BSA) ; 0,5 mg/ml.

Menentukan bobot molekul bakteriosin dengan terlebih dahulu dibuat gel *discontinuous* yang terdiri dari 12,5% resolving gel dan 4% stacking gel. Gel yang telah dibuat selanjutnya dimasukan kedalam cetakan menggunakan pipet, gel ditunggu hingga padat dan dibuat sumuran dengan menggunakan cetakan well. 10µl bakteriosin dan 30µl larutan loading buffer dimasukan ke dalam *ependorf*, di inkubasi pada suhu 90°C selama 5 menit. Tahap berikutnya marker protein memasukan kedalam sumuran. Marker yang digunakan *Bio Red Precision Plus Protein Standart* 10-250 kDa. Masukan bakteriosin kedalam sumuran sebanyak 5µl dan *dirunning* selama 1 jam. Setelah 1 jam gel diangkat dan diletakan dalam wadah yang telah berisi *commission brilliant blue* dan simpan pada suhu kamar selama 24 jam.

Berat molekul pita protein dalam gel dari setiap isolat ditentukan dengan mengukur mobilitas molekul protein dalam gel poliakrilamid berdasarkan kurva standar berat molekul protein acuan. Protein acuan (*marker*) yang diketahui berat molekulnya di elektroforesis bersama dengan protein isolat uji, kemudian mobilitasnya (retention factor / Rf) dihitung dengan menggunakan rumus

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna pelacak dari tempat awal}}$$

Kurva standar berat molekul protein acuan dengan persamaan regresi linear hubungan Antara *retention faktor* sebagai sumbu X dan logaritme berat molekul sebagai sumbu Y.

Bakteriosin isolat 13B yang telah diisolasi dan dimurnikan selanjutnya diuji kemampuannya dalam uji efektivitas hambatan antimikroba terhadap bakteri Gram positif. Uji ini dilakukan dengan metode difusi cakram. Larutan bakteriosin isolat 13B murni yang akan diuji disiapkan terlebih dahulu, selanjutnya sebanyak 20 buah kertas steril yang berbentuk *disc* dicelupkan kedalam larutan bakteriosin tersebut dan direndam selama 10 menit. Untuk kontrol positif digunakan antibiotik *disc* Amoxicilin 30 μ g, sedangkan untuk kontrol negatif digunakan kertas steril berbentuk *disc* yang dicelupkan dan direndam kedalam aquades steril. Selanjutnya, bakteri indikator yang telah disiapkan disebar pada permukaan MRS agar dengan cara mengusapkan bakteri tersebut menggunakan kapas steril yang sudah dicelupkan kedalam bakteri patogen secara merata. Kemudian antibiotik *disc* Amoxicilin 30 μ g sebagai kontrol positif diletakkan ditengah menggunakan pinset, diikuti dengan meletakkan kontrol negatif, dan 4 *disc* yang telah mengandung bakteriosin di sisi-sisi kontrol positif dengan jarak yang cukup berjauhan. Setelah itu, diinkubasikan dalam incubator pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Ukur zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

Penelitian sifat fisiko-kimia bakteriosin dilakukan dengan menggunakan rancangan deskriptif eksploratif. Sedangkan uji sensitivitasnya dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan bakteriosin dan kontrol sebagai perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 24 kali pengulangan. Data hasil penelitian berupa karakterisasi fisiko-kimia disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Data hasil uji sensitivitas dibandingkan terlebih dahulu dengan standar antibiotika menurut *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS) untuk selanjutnya diolah sesuai dengan prosedur Tangopo (2006).

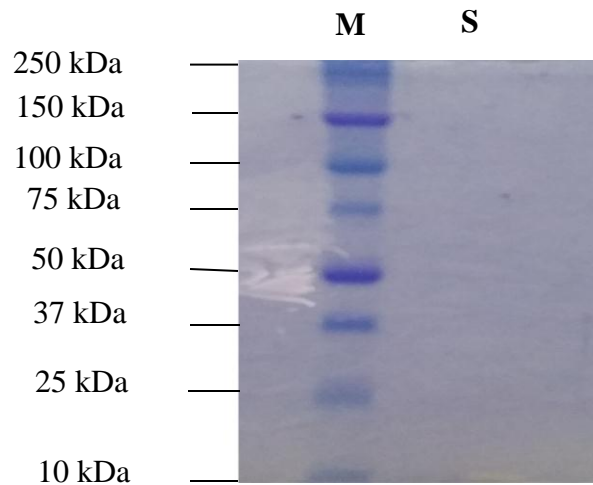
HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pewarnaan Gram terhadap isolat 13B, menunjukkan bahwa isolat 13B merupakan bakteri Gram positif, berbentuk *coccus* dan berwarna violet. Pengujian katalase menunjukkan hasil negatif sebab tidak ada gelembung-gelembung gas yang muncul dari reaksi uji katalase tersebut. Pada tahap isolasi dan ekstraksi bakteriosin dengan cara sentrifugasi, presipitasi amonium sulfat dan dialisis dihasilkan ekstrak bakteriosin murni yang bebas dari sel dan garam-garam. Hasil karakterisasi sifat kimiawi bakteriosin dari isolat 13B pada uji Ninhidrin hasil positif, uji Molisch hasil negatif dan uji Lowry didapatkan hasil kadar protein 0,11 μ g/ml seperti tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji karakterisasi kimiawi bakteriosin Isolat 13B

Uji	Keterangan
Ninhidrin	Positif (berwarna ungu)
Molisch	Negatif
Lowry	0,11 µg/ml

Karakterisasi sifat fisik untuk mengetahui bobot molekul bakteriosin dari isolat 13B dengan menggunakan *Elektroforesis gel Poliakrilamida-Sodium Dodesil Sulfat* (SDS PAGE). Hasil uji menunjukkan tidak terlihatnya pita protein pada gel hasil elektroforesis yang diduga bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh isolat 13B memiliki bobot molekul < 10 kDa, (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil uji SDS PAGE bakteriosin menggunakan pewarnaan *coomassie brilliant blue* (Ket : M = Marker protein; S = Sampel)

Uji aktivitas antimikroba bakteriosin terhadap beberapa bakteri indikator, menunjukkan bahwa bakteriosin memiliki rata-rata efektivitas hambatan sebesar 15,8 % terhadap pertumbuhan *B. cereus* FTCC 005, 27 % terhadap *Staphylococcus aureus*, dan 11,97 % terhadap *Eschericia coli* (Tabel 2).

Tabel 2. Uji daya hambat bakteriosin isolat 13B terhadap bakteri uji

Bakteri indikator	Ulangan	Diameter zona hambat (cm)	
		1	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0.51	0.65
	2	0.34	0.48
	3	0.45	0.51
	4	0.68	0.62
Rata-rata			0.53 cm
Kontrol positif (Streptomycin)			1.985 cm
Kontrol negative			-
Efektivitas hambatan (%)			27%
<i>Escherichia coli</i>	1	0.42	0.12
	2	0.28	0.61
	3	0.41	0.12
	4	0.26	0.15
Rata-rata			0.3 cm
Kontrol positif (Streptomycin)			2.505 cm
Kontrol negative			-
Efektivitas hambatan (%)			11.97%
<i>Bacillus cereus</i>	1	0.45	0.41
	2	0.41	0.56
	3	0.22	0.44
	4	0.37	0.49
Rata-rata			0.41 cm
Kontrol positif (Streptomycin)			2.505 cm
Kontrol negative			-
Efektivitas hambatan (%)			15.8%

Pada penelitian yang telah dilakukan terhadap isolat BAL 13B menunjukkan bahwa isolat 13B merupakan bakteri Gram positif dan bereaksi negatif terhadap uji katalase. Bakteri asam laktat didefinisikan sebagai kelompok bakteri yang membentuk asam laktat, baik sebagai satu-satunya produk maupun sebagai produk utama pada metabolisme karbohidrat. Hasil penelitian sesuai dengan karakteristik BAL seperti diungkapkan oleh Hasan (2006) yang menyatakan bahwa beberapa ciri yang dimiliki oleh bakteri asam laktat adalah termasuk dalam Gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk bulat atau batang, dan pada umumnya tidak memiliki enzim katalase.

Karakteristik kimiawi pada uji Ninhidrin menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya warna ungu pada larutan. Uji Molisch terhadap isolat 13 B didapat hasil yang negatif. Dari hasil yang negatif dari uji Molisch ini menunjukkan bahwa bakteriosin isolat 13B bukan merupakan senyawa karbohidrat. Dari hasil uji Lowry, dapat diketahui bahwa konsentrasi bakteriosin adalah sebesar 0,11 µg/ml.

Hasil uji potensi antimikroba bakteriosin isolat 13B terhadap bakteri indikator *Bacillus cereus* diperoleh hasil perhitungan zona hambat terendah 0,22 cm dan zona hambat tertinggi 0,56 cm dengan rata-rata efektivitas penghambatannya terhadap bakteri indikator ini sebesar 15,8% terhadap zona hambat kontrol. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Staphylococcus aureus* diperoleh hasil perhitungan zona hambat terendah 0,34 cm dan zona hambat tertinggi 0,68 cm dengan rata-rata efektivitas hambatannya sebesar 27% jika dibandingkan dengan zona hambat kontrol daya hambat bakteri indikator *E-coli* terendah 0,12 cm dan zona hambat tertinggi 0,61 cm dengan rata-rata efektivitas hambatannya sebesar 11,97%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteriosin hasil isolasi dan identifikasi yang secara fisiko kimiawi terbukti sebagai senyawa protein, diketahui memiliki aktivitas antibakteri sebagai salah satu ciri penting dari senyawa ini baik terhadap bakteri Gram positif maupun negatif sehingga senyawa ini layak untuk dikaji lebih jauh.

SIMPULAN

Bakteri asam laktat isolat 13B menghasilkan senyawa yang secara kimiawi merupakan protein dengan konsentrasi 0,11 µg/ml dengan bobot molekul diperkirakan kurang dari 10 kDa, yang selanjutnya dapat dinyatakan sebagai bakteriosin. Bakteriosin yang dihasilkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai karakteristik dan uji aplikasi senyawa bakteriosin hasil isolasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak Balai Besar Veteriner Denpasar dan Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Rumah Sakit Hewan Universitas Udayana atas segala fasilitas yang telah diberikan untuk membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Diop MB, Dubois-Dauphin R, Tine E, Ngom A, Destain J, Thonart, P. 2007. Bacteriocin producers from traditional food products. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 11(4): 275–281
- Hasan ZH. 2006. Isolasi *Lactobacillus*, Bakteri Asam Laktat Sari Feses dan Organ Saluran Pencernaan Ayam. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Januarsyah T. 2007. Kajian Aktivitas Hambat Bakteriosin Dari Bakteri Asam Laktat Galur SCG 1223. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Jay M, James. 1992. *Modern Food Microbiology*. 4th Edition. New York: Michigan Publishing.
- Korhonen J. 2010, *Forestry and Natural Sciences: Antibiotic Resistance of Lactid Acid Bacteria*, University of Eastern Finland.
- Kusmiati dan Malik A. 2002. Aktivitas Bakteriosin Dari Bakteri *Leuconostoc Mesenteroides* PbaL Pada Berbagai Media. *Makara, Kesehatan.* 6(1).
- Leroy LDVF. 2007. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 13:194–199
- Papagianni M, Avramidis N, Filioussis G, Dasiou D, Ambrosiadis, I. 2006. Determination of bacteriocin activity with bioassays carried out on solid and liquid substrates: assessing the factor “indicator microorganism”. *Microbial Cell Factories* 5:30-35.
- Suardana IW, Suarsana IN, Sujaya IN, Wiryawan KG. 2007. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Cairan Rumen Sapi Bali Sebagai Kandidat Biopreservatif. *Jurnal Veteriner* Vol.8 (4) : 155-159
- Twomey D, Ross RP, Ryan M, Meaney B, Hill C. 2002. Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications. *Antonie van Leeuwenhoek* 82: 165–185.