**Uji Viabilitas Bakteri Asam Laktat Dari Usus Itik (*Anas domesticus*) Pada Media Molases, Garam Fisiologis Dan Kombinasinya**

**Sebagai Probiotik**

Test The Viability Of Lactid Acid Bacteria From Duck’s Intestine On Molasses Medium, Salt Water, And It’s Combination As A Probiotic

**Rudy Sutrisna1, Christina Nugroho Ekowati2, Fatmawati Putri3,**

 *1Dosen Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung*

*E-mail:* *rudysutrisna65@yahoo.co.id*

***ABSTRACT***

Purpose of this research is to know the viability isolate of Lactic Acid Bacteria (LAB) on molasses medium, physiological salt, and combination of two mediums on incubation time until 4 weeks. This research used a mixture of lactic acid bacteria isolates from the duck’s intestine (B4, B7, and B8). The three bacterial isolates were inoculated into the three media specifically salt water, salt water + molasses and molasses. The study was arranged by Randomized Block Design Completely (RAKL) of 3 x 4 factorial treatment pattern (A x B). Factor A is 3 types of treatment media namely media I (salt water), media II (salt water + molasses), and media III (molases). Factor B is time variation used in each treatment medium devided by 1 week, 2 weeks, 3 weeks and 4 weeks. Each treatment was repeated 2 times. This research uses pour plate method with calculation of colony count which will be counted with colony counter. The data in this research are analyzed descriptively. The results showed that molases were able to maintain LAB viability for up to 2 weeks with a population of 2,99 x 106 CFU / ml (6,48 log10 CFU/ ml). In physiological saline medium LAB viability is only up to 1 week with a population of 2,25 x 107 CFU / ml (7,35 log10 CFU / ml). In physiological salts + molasses viability LAB survived for up to 4 weeks with a population of 3,12 x 106CFU / ml (6,50 log10 CFU / ml).

***Keywords:*** *Viability, Lactic Acid Bacteria, NaCl physiological, Molase*

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui viabilitas Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) pada media molase, garam fisiologis, dan kombinasi dua media pada waktu inkubasi sampai 4 minggu. Penelitian ini menggunakan campuran isolat BAL dari usus itik (B4, B7, dan B8. Tiga isolat bakteri diinokulasikan ke dalam tiga media khususnya NaCl fisiologis, NaCl fisiologis + molase dan molase saja. Penelitian ini disusun dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK, pola perlakuan faktorial 3x4(A x B). Faktor A adalah 3 jenis media inkubasi/penyimpanan yaitu media I (NaCl fisiologis), media II (NaCl fisiologis+molase/tetes tebu), dan media III (molase/tetes tebu). Faktor B adalah variasi waktu yang digunakan pada masing-masing medium perlakuan inkubasi 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu. Setiap perlakuan diulang 2 kali. Penelitian ini menggunakan metode pour plate dengan perhitungan jumlah koloni yang akan dihitung dengan koloni counter. Data dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa molase mampu mempertahankan viabilitas BAL hingga 2 minggu dengan populasi 2,99 x 106 CFU / ml (6,48 log10 CFU / ml). Pada media NaCl fisiologis viabilitas hanya sampai 1 minggu dengan populasi 2,25 x 107 CFU/ml (7,35 log10 CFU / ml). Pada NaCl fisiologis + molase viabilitas BAL bertahan hingga 4 minggu dengan populasi 3,12 x 106CFU / ml (6,50 log10 CFU/ml).

Kata kunci: Viabilitas, Bakteri Asam Laktat, NaCl fisiologis, Molase

**PENDAHULUAN**

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan bakteri yang biasa digunakan sebagai probiotik. Bakteri ini mempunyai sifat bakterisidal dan bakteriostatik yang dapat digunakan sebagai probiotik (Pennacchia *et al*., 2004). Syarat probiotik adalah tidak patogen, toleran terhadap asam dan garam empedu, mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanannya serta memiliki kemampuan memberi efek kesehatan yang sudah terbukti (Shortt, 1999).

Menurut Konig dan Frohlich (2009) menyebutkan BAL memerlukan nutrisi untuk dapat tumbuh, diantaranya karbohidrat, asam amino, dan vitamin. Nutrisi lain yang diperlukan yaitu karbon, nitrogen, sulfur, fosfor dan mineral untuk menunjang viabilitas bakteri asam laktat (Brooks, 2007).

Bakteri probiotik yang ditambahkan ke dalam ransum atau air minum ternak dapat mencegah infeksi dan kolonisasi patogen di dalam saluran pencernaan ternak (Hidayat, 2010). Media untuk mempertahankan daya hidup BAL dapat berupa larutan garam fisiologis dan molases yang memiliki kandungan nutrisi yang dibutuhkan oleh BAL.

Menurut Lestari (2014) larutan garam fisiologis merupakan media terbaik untuk menjaga ketahanan hidup isolat bakteri asam laktat, karena NaCl (larutan garam fisiologis yang terbuat dari garam NaCl dengan konsentrasi 0,9% b/v) berfungsi untuk menjaga keseimbangan ion sel mikroba. Molases masih mengandung cukup banyak zat penting yang dapat mendukung pertumbuhan mikrobia yaitu : sukrosa, glukosa, fruktosa, vitamin, dan mineral (Wardani, 2005). Menurut penelitian Sutrisna (2015) pemberian konsentrasi molases 1% pada medium tumbuh Bakteri Asam Laktat menjadikan daya hidup BAL lebih baik**.**

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada Januari – April 2017.

Bahan – bahan yang digunakan adalah campuran isolat bakteri asam laktat dari usus itik (B4, B7 dan B8) yang diperoleh dari koleksi (Sutrisna, 2013), media *deMan Rogosa and Sharpe* (MRS) Broth, NaCl steril, alkohol 70%, aquades, molases, dan media *deMan Rogosa and Sharpe* (MRS) Agar. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan digital, *mirkrotube*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, Erlenmeyer, *beaker glass*, cawan petri, bunsen, *stirrer heat*, *vortex mixer*, *mikropipet, mikrotipe*, autoklaf, *laminar airflow,* inkubator, dan oven.

Penelitian disusun dengan percobaan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) pola perlakuan faktorial 3 x 4 (A x B). Faktor A adalah 3 macam media perlakuan yaitu media I (molases), media II (garam fisiologis), dan media III (garam fisiologis + molases). Faktor B adalah variasi waktu yang digunakan pada masing–masing media perlakuan yaitu 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 2 kali.

**Prosedur kerja**

1. **Peremajaan isolat bakteri**

Sebanyak 1 ml suspensi campuran isolat Bakteri Asam Laktat dari usus itik yaitu B4, B7, dan B8 diambil dengan menggunakan mikropipet steril dan dimasukkan ke dalam 9 ml MRS Broth steril dalam tabung reaksi steril, kemudian diinkubasi pada inkubator selama 48 jam.

1. **Pembuatan inokulum**

Isolat yang telah berumur 48 jam diambil sebanyak 1 ml ke dalam 9 ml MRS Broth steril kemudian diinkubasi selama 48 jam dalam inkubator.

1. **Pembuatan kultur pada media uji**

Suspensi bakteri asam laktat dengan diinokulasikan ke dalam media perlakuan dengan diambil 1 ml menggunakan mikropipet kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml media uji yaitu molases, garam fisiologis, dan garam fisiologis + molases 1%. Masing-masing media perlakuan dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 4 minggu dengan interval waktu pengamatan 1 minggu sekali.

1. **Perhitungan sel bakteri** :

- Pengenceran media uji, pada masing-masing media perlakuan dilakukan pengenceran 10-1, 10-2, 10-3, 10-4, dan 10-5.

- Perhitungan jumlah koloni, Pengenceran 10-3, 10-4, dan 10-5 pada media perlakuan diambil 1 ml isolat kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang ditambahkan 20 ml MRS Agar. Cawan petri digoyang-goyangkan membentuk angka delapan agar suspensi dan media tercampur merata. Setelah itu didiamkan media hingga memadat, kemudian masukkan media ke dalam inkubator bakteri selama 48 jam. Dihitung jumlah koloni untuk mengetahui viabiltas bakteri asam laktat dari setiap cawan petri dengan menggunakan *colony counter.* Setelah didapat jumlah koloni BAL yang tumbuh, kemudian dihitung dengan rumus ALT sebagai berikut :

$N=\frac{ΣC}{\left(n1 x 1\right)+\left(n2 x 0,1 \right)} ×d $(Kristiyanti, 2015).

Keterangan:

N = Jumlah koloni / ml

ΣC = Total koloni yang dapat dihitung

n1 = Jumlah cawan petri pada pengenceran pertama yang dihitung

n2 = Jumlah cawan petri pada pengenceran kedua yang dihitung

d = Pengenceran pertama yang dihitung

**Analisis Data**

Data jumlah koloni BAL yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil perhitungan angka lempeng total pada masing-masing media tumbuh, terdapat hasil pertumbuhan yang baik pada media garam dengan penambahan molasis 1%. Pada media tumbuh molases BAL mengalami peningkatan dalam waktu penyimpanan 1 minggu dengan suhu ruang. Jumlah populasi BAL pada media molases dalam waktu penyimpanan 1 minggu sebesar 1,94 x 107 CFU/ml (7,29 log10 CFU/ml). Fase eksponensial pada BAL terjadi pada minggu pertama. Pada minggu ke-2 mulai mengalami penurunan jumlah populasi hingga 2,99 x 106 CFU/ml (6,48 log10 CFU/ml) hingga minggu ke-3 BAL mengalami penurunan daya tahan hidup atau memasuki fase kematian dengan jumlah populasi sebesar 1,47 x 106 CFU/ml (6,17 log10 CFU/ml) dan pada minggu ke-4 jumlah koloni BAL sebesar 8,61 x 104 CFU/ml(6,48 log10 CFU/ml). Fenomena ini mungkin karena terjadinya penumpukan produk beracun, selain itu dapat terjadi karena kandungan nutrien semakin sedikit (Hochfeld, 2006). Pada media garam fisiologis, BAL mengalami fase eksponensial pada minggu pertama dengan jumlah populasi sebesar 2,25 x 107 CFU/ml (7,35 log10 CFU/ml). Fase eksponensial terjadi pertumbuhan seimbang, sel membelah dengan kecepatan yang tetap dan maksimal. Namun, kemudian mengalami penurunan yang drastis pada minggu ke 2 dengan jumlah populasi hingga 7,103 x 104 CFU/ml (4,85 log10 CFU/ml). Pada minggu ke-3 dan ke-4 BAL memasuki fase kematian. Pada media tumbuh garam fisiologis + molases 1% mengalami peningkatan dalam waktu penyimpanan 1 minggu dengan suhu ruang. Jumlah populasi BAL pada media garam fisiologis + molases dalam waktu penyimpanan 1 minggu sebesar 2,20 x 107 CFU/ml (7,34 log10 CFU/ml). Fase eksponensial pada BAL terjadi selama jam ke-0 sampai 1 minggu sama halnya dengan media garam fisiologis dan molases, sedangkan pada minggu ke-2 BAL mengalami penurunan daya tahan hidup atau mengalami fase stationer setelah fase eksponensial dengan jumlah populasi hingga 7,34 x 106 CFU/ml(6,87 log10 CFU/ml). Pertumbuhan populasi koloni tetap stabil pada minggu ke-3 dan minggu ke-4.

Gambar 1. Grafik pertumbuan campuran isolat BAL

Pada media molases mengalami peningkatan pada minggu pertama dengan jumlah populasi sebesar 1,94 x 107 CFU/ml (7,29 log10 CFU/ml). Fase eksponensial pada BAL terjadi pada waktu penyimpanan 1 minggu dengan ciri yang ditunjukkan pada fase eksponensial yaitu sel bakteri masih membelah dengan laju yang konstan, aktivitas metabolik yang konstan, massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama, dan keadaan pertumbuhan yang seimbang (Pelczar dan Chan, 2008). Pada fase ini bakteri menyerap substrat yang terdapat pada molases yaitu karbon dan nitrogen untuk energi pertumbuhannya. Bakteri asam laktat menggunakan sumber karbon sebagai sumber energi dan bahan pembentuk asam laktat, sedangkan nitrogen digunakan sebagai bahan pembentuk biomassa sel. Tingginya kandungan gula dan mineral pada molases merupakan suatu potensi untuk dimanfaatkan sebagai substrat fermentasi oleh mikroorganisme (Wirioatmodjo, 1984). Secara umum substrat dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan biomassa, pemeliharaan sel dan menghasilkan produk. Kandungan karbohidrat terlarut yang terkandung dalam molases mampu menstimulir pertumbuhan BAL untuk membentuk asam laktat untuk mencapai kondisi asam. Selain itu terdapat juga protein pada molases, menurut Surono (2004) bahwa BAL akan menghidrolisis protein secara bertahap, yaitu tahap pertama melibatkan enzim proteinase menghasilkan peptida-peptida dan tahap kedua dilanjutkan oleh aktivitas peptidase, menghasilkan asam amino. Penelitian Ara *et al*. (2002) melaporkan penggunaan level protein tinggi menghasilkan jumlah koloni BAL yang lebih tinggi, sehingga hasil ALT pada BAL umur 1 minggu lebih tinggi. Pada minggu ke-2 BAL mengalami penurunan daya tahan hidup atau mengalami fase stationer setelah fase eksponensial. Pada minggu ke-3 dan ke-4 mengalami fase kematian. Hal tersebut diakibatkan oleh nutrisi pada molases telah berkurang. Kematian bakteri disebabkan karena zat makanan yang diperlukan berkurang (Dwijoseputro, 2003).

Dalam media garam fisiologis pertumbuhan BAL meningkat pada minggu pertamadengan jumlah koloni sebesar 2,25 x 107CFU/ml (7,35 log10 CFU/ml). Namun, kemudian mengalami penurunan yang drastis pada minggu ke 2 dengan jumlah populasi sekitar 7,10 x 105 CFU/ml (4,85 log10 CFU/ml). Pada minggu ke-2 BAL memasuki fase kematian ditandai dengan jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup karena nutrien semakin menurun (bahkan habis), energi cadangan di dalam sel juga habis dan terkumpulnya produk limbah. Pada minggu ke-3 dan ke-4.juga memasuki fase kematian. Vinderolla et al., (2002) menyatakan bahwa selama penyimpanan adanya akumulasi hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun dapat membahayakan bagi viabilitas mikroba starter.

Hal ini diduga karena dinding sel bakteri terganggu dan mengalami lisis ketika kondisi lingkungan sangat asam, sehingga pertumbuhannya terhambat bahkan tidak dapat tumbuh pada kondisi tersebut (Guerra *et al*., 2006). Hal yang menyebabkan pada media garam fisiologis tidak bertahan hingga minggu ke-2, 3, dan 4 yaitu tidak ada nutrisi yang cukup untuk mendukung pertumbuhan BAL, karena garam fisiologis hanya mempertahankan *figor* sel. Bakteri Asam Laktat memerlukan nutrisi untuk dapat tumbuh diantaranya karbohidrat, asam amino, dan vitamin (Konig dan Frohlich, 2009). Nutrisi lain yang diperlukan yaitu karbon, nitrogen, sulfur, fosfor dan mineral untuk menunjang viabilitas bakteri asam laktat (Brooks, 2007), sedangkan di media garam fisiologis hanya terdapat mineral saja sehingga terjadi penurunan pertumbuhan BAL secara drastis.

Pada media perlakuan garam fisiologis + molases menunjukkan ketahanan (viabilitas) yang stabil terhadap pertumbuhan BAL dibandingkan dengan media molases dan garam fisiologis. Berdasarkan hasil penelitian ini, daya tahan isolat BAL yang tumbuh dengan baik terhadap lama inkubasi dengan suhu ruang terdapat pada media garam fisiologis+molases. Ditunjukkan pada Gambar 1 fase*lag* menunjukkan pada 0 jam (awal inkubasi) campuran isolat BAL pada media garam fisiologis+molases jumlah selnya berkisar antara 1,02x 107 CFU/ml. Selanjutnya fase eksponensial ditunjukkan pada waktu inkubasi 1 minggu dengan jumlah koloni sebesar 2,20 x 107 CFU/ml (7,34 log10 CFU/ml). Fase eksponensial terjadi pertumbuhan seimbang, sel membelah dengan kecepatan yang tetap dan maksimal (Tarigan, 1988). Pada fase ini BAL menyerap glukosa, karbon, nitrogen serta asam amino yang terdapat pada molases dan pada garam fisiologis juga menjaga kesetimbangan osmotik dengan kata lain tekanan osmotik diperlukan untuk menghentikan osmosis, yaitu pergerakan molekul secara berlebihan melewati membran semipermeabel sehingga tidak terjadi kerusakan struktur membrane sel yang dapat membunuh sel mikroba (Lestari, 2014). Periode ini adalah keadaan pertumbuhan yang seimbang atau mantap dengan laju pertumbuhan spesifik / konstan, komposisi selular tetap, sedangkan komposisi kimiawi media biakan berubah akibat terjadinya sintesis produk dan penggunaan substrat (Sa’id, 1987; Judoamidjojo *et al*, 1990; Mangunwidjaja dan Suryani, 1994).

Proses pertumbuhan pada BAL sangat komplek, mencakup pemasukan nutrien dasar dari lingkungan ke dalam sel, konversi bahan-bahan nutrien menjadi energi dan berbagai konstituen vital sel serta perkembangbiakan (Judoamidjojo *et al*, 1989). Dalam hal ini penambahan molases dapat mempengaruhi pertumbuhan isolat BAL karena menurut Toharisman dan Santosa (1999) molasis merupakan media pertumbuhan yang kaya gula, terdiri dari sukrosa 30-40%, glukosa 4-9% dan fruktosa 4-9%. Menurut Kusmiati dan Malik (2002), glukosa merupakan gula yang disukai oleh bakteri sebagai sumber karbon. Bakteri asam laktat umumnya akan memecah glukosa untuk menghasilkan asam laktat. Glukosa yang telah diketahui mudah diserap sel sebagai sumber energi penghasil ATP (adenosin trifosfat).

Kemudian BAL pada media garam fisiologis+ molases memasuki fase stationer pada minggu ke-2 ditandai dengan penurunan kecepatan pertumbuhan (pembelahan bakteri berkurang), terjadi karena penumpukan limbah metabolisme, racun, kekurangan nutrien, dan perubahan kondisi pada lingkungan dengan jumlah koloni sebesar 7,34 x 106 CFU/ml (6,87 log10 CFU/ml). Pada minggu ke-3 jumlah koloni mengalami penurunan dengan jumlah populasi sebesar 3,91 x 106 CFU/ml (6,59 log10 CFU/ml). Jumlah sel ini tetap viable sampai dengan minggu ke-4 sebesar 3,12 x 106CFU/ml (6,50 log10 CFU/ml). Pada fase ini laju pertumbuhan akhirnya menurun yang biasanya disebabkan karena kekurangan faktor pertumbuhan seperti vitamin dan unsur mineral (Gaman dan Sherrington, 1994). Berhentinya pertumbuhan juga dapat disebabkan oleh berkurangnya beberapa nutrien esensial dalam media atau karena terjadinya akumulasi autotoksin dalam media atau kombinasi dari keduanya. Menurut Vinderolla et al. (2000) menyatakan bahwa probiotik yang dibawa oleh suatu medium minimal mengandung mikroba probiotik sebanyak 106-108 CFU/ml atau 106-108 CFU/g (preparat kering).

Pertumbuhan bakteri pada masing-masing media memiliki jumlah maks pada waktu yang berbeda, sesuai dengan pernyataan Yuliana (2008) bahwa bakteri akan menunjukkan perbedaan pola pertumbuhan, periode waktu yang dibutuhkan untuk tumbuh maupun beradaptasi, dan metabolit yang dihasilkan bergantung pada media pertumbuhannya.

Berdasarkan uji antagonis hasilnya diperoleh isolat BAL B4, B7, dan B8 dinyatakan tidak saling membunuh antar isolat satu dengan yang lain. Dijelaskan pada Gambar 1 bahwa pertumbuhan BAL mengalami fase eksponensial pada jam ke- 0 hingga 1 minggu pada ketiga media perlakuan. Selama fase tersebut adanya indikasi tidak berkompetisi antar bakteri untuk memperoleh nutrisi dalam media perlakuan. Sehingga BAL dengan kultur campuran dapat dimanfaatkan sebagai kultur yang baik sebagai probiotik. Ditunjukkan pada pertumbuhan BAL pada media molases jumlah sel bakteri yaitu sebanyak 1,94 x 107CFU/ml (7,29 log10 CFU/ml). Pada media garam fisiologis dengan campuran isolat BAL jumlah sel sebanyak 2,25 x 107CFU/ml (7,35 log10 CFU/ml) serta media kombinasinya yaitu garam fisiologis + molases jumlah sel sebanyak 2,20 x 107 CFU/ml (7,34 log10 CFU/ml). Penggunaan kultur starter campuran dapat meningkatkan laju pertumbuhan bakteri probiotik, sehingga lama fermentasi dapat direduksi (Jenie, 2003). Menurut Rahayu (1989), bahwa proses fermentasi pangan secara alami dilakukan oleh lebih dari satu jenis mikroorganisme yang bersifat sinergistik. Pertumbuhan mikroorganisme pada beberapa jenis makanan fermentasi bersifat suksesi, artinya proses perubahan yang terjadi selama fermentasi dilakukan oleh beberapa jenis mikroorganisme yang tumbuh secara bergantian. Hasil uji antagonis ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Uji antagonis isolat BAL dari usus itik

**KESIMPULAN**

Pada media molases mampu mempertahankan viabilitas BAL sampai dengan 2 minggu dengan jumlah populasi sebesar 2,99 x 106 CFU/ml (6,48 log10 CFU/ml). Pada media garam fisiologis viabilitas BAL hanya sampai 1 minggu dengan jumlah populasi 2,25 x 107 CFU/ml (7,35 log10 CFU/ml). Pada garam fisiologis + molases viabilitas BAL bertahan sampai 4 minggu dengan jumlah populasi 3,12 x 106CFU/ml (6,50 log10 CFU/ml).

**SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menambahkan konsentrasi molases lebih dari 1% pada media Garam Fisiologis + Molases agar jumlah populasi tetap meningkat sampai minggu ke-4 untuk mendapatkan nutrisi optimum bagi pertumbuhan BAL dan dapat dijadikan sebagai probiotik yang tahan lama.

**DAFTAR PUSTAKA**

Ara, K., Meguro, S., Hase, T., Tokimitsu, I., Otsuji, K., Kawai, S., Ito, S. and Iino, H., 2002. Effect of spore-bearing lactic acid-forming bacteria (*bacillus coagulans* SANK 70258) administration on the intestinal environment, defecation frequency, fecal characteristics and dermal characteristics in humans and rats. *Microbial Ecology in Health and Disease* 14: 4–13.

Brooks, G., KC. Carrol., J. Butel., M. Stephen., Jawetz, dan Melnick. 2007. 7 Adelberg’s *Medical Microbiology. 24th ed*. McGraw-Hil

Dwidjoseputro, D., 2003, *Dasar-dasar ikrobiologi*, Edisi 14, Djambatan, Jakarta.

Gaman, P.M. dan K.B. Sherrington. 1994. Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 317 hlm

Guerra, N.P., P.F . Bernardez., J. Mendez., P. Cachaldora., dan L.P . Castro., 2006. *Production of Four Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria and Their Evaluation as Feed Additives for Weaned Piglets, Animal Feed Science and Technology*, 134: 89-107.

Hidayat, M. N. 2010. Perlekatan Mikroba Probiotik Pada Saluran Pencernaanternak Unggas. *http:// www. lambung satu.blogspot2010.com*. Diakses tangal 6 November 2016. Pukul 18.25 WIB.

Hochfeld, W.L. 2006. *Producing Biomolecular Substances with Fermenters, Bioreactors, and Biomolecular Synthesizers*. Taylor & Francis Group. London New York.

Judoamidjojo, R. M., E. G. Said, dan L. Hartono., 1989, *Biokonversi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Judoamidjojo, M., A.A. Darwis, dan E.G. Sa’id. 1990. Teknolologi Fermentasi. Rajawali Pers. Jakarta

Jenie, B. S. L. 2003. Pangan Fungsional Penyusun Flora Usus yang Menguntungkan (makalah) didalam : Seminar Sehari Mikroflora Usus Bagi Kesehatan dan Kebugaran, Bogor

Kusmiati dan Malik, A. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 pada Berbagai Media.

Konig, H dan Frohlich, J., 2009. *Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg pp. 1-4

Kristiyanti M. P. 2015.Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Media Tumbuh yang Dimodifikasi dengan Tepung Ikan*. Skripsi.* Universitas Lampung. Lampung

Lestari. 2014. Uji Daya Hidup Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Probiotik Pada Beberapa Media Preparasi Air minum Unggas. *Skripsi.* Universitas Lampung. Bandar Lampung Priyono. 2009. *Molases [tesis]*. Semarang. FakultasPeternakan, Universitas Ponogoro.

Mangunwidjaja, D. dan A. Suryani. 1994. *Teknologi Bioproses*. Penerbit Swadaya. Jakarta.. 394 hlm.

Pelczar, Michael J., dan E.C.S. Chan. 2008. *Dasar - Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Pennacchia, C., D. Ercolini, G. Blaiotta, O. Pepe, G. Mauriello, dan F. Villani. 2004. Selection of Lactobacillus strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Journal. Meat Sci*. 67: 309-317

Rahayu, K.K. 1989. Fermentasi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.

Sa’id, E.G. 1987. *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. PT. Melton Putra. Jakarta. 317 hlm

Surono, I.S. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya. Jakarta.

Sutrisna, R. 2013. Karakterisasi isolat Bakteri AsamLaktat dari Usus Itik (*Anas domestica*) Terhadap

*Escherichia coli* dan *Salmonella pullorum*.*MakalahSeminar Nasional Sains & TeknologiV*, Lembaga Penelitian Universitas Lampung.

Sutrisna R, Ekowati C. N, Damayanti R. 2015. Uji Daya Hidup Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik Pada Media Tumbuh dengan Penambahan Variasi Konsentrasi Molases. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 16 (1): 40-44. Universitas Lampung. Lampung.

Shortt, C., 1999. The Probiotic Century: Historical and Current Perspectives. Trends in Food Science & Technology. 10: 411-417.

Tarigan, J. 1988. *Pengantar Mikrobiologi*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Jakarta.

Toharisman, A. dan H. Santoso. 1999. Mutu Bahan Baku dan Preparasi Medium. Dalam Pelatihan Teknologi Alkohol. Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia. Pasuruhan.

Wardani, F.O.K., 2005. Pola Pertumbuhan dan Produksi Asam Asetat oleh Acetobacter aceti Pada Substrat Air Kelap Dengan Variasi Kadar Alkohol*.* Naskah Skripsi S1, Fakultas Biologi UAJY, Yogyakarta. Tidak diterbitkan.

Wirioatmodjo BK, S,Adi., dan R, Soerjapoetra. 1984. Pergulaan di Indonesia dan Prospeknya di Masa Mendatang. Prosiding Simposium Pergulaan. Balai Penelitian Gula. Pasuruan

Vinderola, C. G., P. Mocchiutti and J. A. Reinheimer. 2002. Interaction Among Lactic Acid Starter and Probiotic Bacteria Used For Fermented Dairy Products. *J.Dairy Sci. 85 : 721-729.*

Vinderolla, C.G., W. Prosello., D. Ghiberto., J. A. Reinheimer. 2000. Viability of Probiotic (Bifidobacterium, Lactobacillus acidophilus casei) and Non Probiotic Microflora in Argentinian Fresco. *J. of Dairy science 83: 1905-1911.*

Yuliana, N., 2008, Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 yang Berasal dari Tempoyak. *J. Teknologi Industri dan Hasil Pertanian.* 13(2):108-116