

Isolasi dan Aktivitas Antikapang Bakteri Asam Laktat dari Tape Ketan Kemasan Plastik terhadap *Fusarium* sp.

Khoirin Nisa^a, Siti Nur Jannah^b dan MG. Isworo Rukmi^c

Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang

E-mail : khoirinnisa21@gmail.com, nurjannah.suroso@gmail.com, isworo.rukmi@gmail.com

Penulis korespondensi : Siti Nur Jannah

Abstrak

Fusarium sp. merupakan patogen tular tanah yang memiliki kemampuan bertahan dalam tanah selama bertahun-tahun, pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Bakteri asam laktat (BAL) diketahui menghasilkan senyawa antikapang yang dapat digunakan sebagai salah satu alternatif pengendalian *Fusarium* sp. yang ramah lingkungan. BAL dapat ditemukan dalam produk fermentasi, antara lain pada tape ketan kemasan plastik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat murni bakteri asam laktat (BAL) dari tape ketan kemasan plastik dan mengetahui aktivitas antikapang isolat BAL yang diperoleh dalam menghambat pertumbuhan kapang *Fusarium* sp. Penelitian ini menggunakan kultur BAL, supernatan BAL bebas sel (CFS) dan supernatan bebas sel BAL yang dinetralkan (CFSN). Uji aktifitas antikapang dilakukan dengan metode sumuran pada medium MRSA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari tape ketan kemasan plastik diperoleh enam isolat BAL (BTP₁, BTP₂, BTP₃, BTP₄, BTP₅, BTP₆). Lima isolat BAL (BTP₁, BTP₂, BTP₃, BTP₄, BTP₅) mampu menghambat pertumbuhan kapang *Fusarium* sp. dengan aktivitas antikapang fungistatik. Supernatan bebas sel BAL yang dinetralkan (CFSN) BTP₁ menunjukkan aktivitas antikapang yang paling besar dan berbeda nyata dengan isolat BAL lainnya.

Kata Kunci : *Fusarium* sp., bakteri asam laktat, tape ketan, uji antikapang

PENDAHULUAN

Pangan dan pakan merupakan bagian yang tidak dapat dipisahkan dari kehidupan manusia dan hewan. Penurunan kualitas bahan pangan dan pakan yang terjadi salah satunya disebabkan oleh kapang yang menyerang tanaman pangan yaitu *Fusarium* sp. Kapang ini dapat ditemukan di tanah dan menyerang tanaman pangan seperti cabai, jagung dan tomat. Kerugian ekonomi yang tinggi pada tanaman yang terserang menyebabkan perlunya perhatian, penanganan dan pengendalian khusus terhadap kapang ini. Tanaman yang terserang kapang ini ditandai dengan nekrosis pada jaringan tanaman dan diikuti dengan layunya daun akibat invasi patogen pada jaringan vaskular tanaman sehingga akan menyebabkan kematian tanaman dalam beberapa hari atau minggu. Genus ini memiliki banyak spesies yang memiliki kisaran inang yang luas di antaranya ialah *Fusarium oxysporum* (Fravel et al., 2003).

Pengendalian *Fusarium* sp. cukup sulit karena kapang ini merupakan patogen tular tanah, memiliki kemampuan bertahan dalam tanah selama bertahun-tahun meskipun kondisi lingkungan tidak menguntungkan dan tanpa tanaman inang masih dapat berkembang dengan cara membentuk spora tahan seperti kladospora. Upaya pengendalian yang telah dilakukan selama ini di antaranya penggunaan varietas tahan, eradikasi, dan aplikasi fungisida kimia. Penggunaan fungisida kimia mampu menurunkan serangan *Fusarium* sp., namun terdapat beberapa dampak negatif yang ditimbulkan, salah satunya yaitu tidak terjaminnya keamanan produk yang menjadi tuntutan konsumen saat ini. Residu fungisida kimia yang melekat pada produk pertanian dapat menjadi indikator penurunan kualitas produk sehingga harga lebih rendah (Cavaglieri et al., 2005).

Alternatif pengendalian penyakit layu *Fusarium* sp. yang ramah lingkungan adalah dengan menggunakan fungisida alami dari mikroba antagonis. Salah satunya yaitu dengan menggunakan bakteri asam laktat (BAL). Penelitian mengenai penggunaan bakteri asam laktat sebagai pengendali kapang patogen mulai dikembangkan. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari berbagai sumber, salah satunya dari makanan hasil fermentasi. Makanan hasil fermentasi banyak diproduksi di Indonesia, beberapa diantaranya yaitu tape ketan dan singkong, tempe, serta kecap. Tape adalah salah satu makanan tradisional yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dan merupakan hasil fermentasi singkong, ubi jalar,

sorgum, dan beras ketan. Menurut Magalhaes et al., (2011) Tape ketan merupakan salah satu sumber untuk isolasi bakteri asam laktat. Tape ketan mengandung mikroba yang didominasi oleh kapang, khamir dan bakteri asam laktat.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa BAL menghasilkan senyawa antikapang seperti asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, diasetil, CO₂, dan bakteriosin. Senyawa antikapang BAL merupakan produk metabolit sekunder (ekstraseluler) yang dihasilkan selama proses pertumbuhan BAL dalam medium fermentasi (Yang et al., 2010). Penelitian mengenai aktivitas antikapang oleh BAL dari berbagai sumber makanan fermentasi telah banyak dilakukan. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari kurma (Zebboudj et al., 2014) dan Ubi (Omodamiro et al., 2015) memiliki aktivitas antikapang yang dapat menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp. Hasil dari beberapa penelitian tersebut membuktikan bahwa BAL dari fermentasi berbagai sumber dapat menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp., maka tidak menutup kemungkinan BAL yang diisolasi dari tape ketan juga memiliki potensi sebagai antikapang *Fusarium* sp.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka dilakukan penelitian uji aktivitas antikapang bakteri asam laktat dari tape ketan terhadap *Fusarium* sp.

Tujuan penelitian ini yaitu mendapatkan isolat murni bakteri asam laktat (BAL) dari tape ketan kemasan plastik serta mengetahui aktivitas antikapang bakteri asam laktat yang terdapat dalam tape ketan kemasan plastik terhadap kapang *Fusarium* sp.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar air flow*, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, inkubator suhu 37⁰ C, mikropipet, mikropipet tip, *cork borer*, mikroskop, jangka sorong, dan *sentrifuge*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tape ketan, biakan murni kapang *Fusarium* sp. yang diperoleh dari Laboratorium Pengamatan Hama Penyakit (LPHP) Temanggung, Akuades, Alkohol 70%, MRSB, MRSA, tween 80, PDA, Dithane M45, NaOH, CaCO₃, Kristal violet (Gram A), larutan mordan (Gram B), Alkohol aseton (Gram C), Safranin (Gram D), dan H₂O₂ 3%.

Metode Penelitian

Isolasi BAL dari tape ketan

Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran. Sampel tape ketan dengan waktu inkubasi 24 jam, ditimbang sebanyak 10 gram, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer berisi 90 ml akuades steril pada erlenmeyer dan dihomogenkan. Sebanyak 1 ml suspensi diambil dan dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril digojok hingga homogen diperoleh pengenceran 10^{-2} , pengenceran dilanjutkan sampai 10^{-7} . Suspensi pada pengenceran 10^{-4} - 10^{-7} masing-masing diambil 100 μ l dan diinokulasikan secara *spread plate* pada medium MRSA CaCO_3 1% dalam cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Pertumbuhan BAL dikenali dengan adanya area bening di sekitar koloni, akibat terjadinya reaksi asam organik yang dihasilkan BAL dengan CaCO_3 pada medium MRSA. Koloni dimurnikan pada medium MRSA dengan goresan kuadran sampai didapatkan biakan yang murni.

Karakterisasi BAL

Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni (bentuk, warna, diameter, permukaan, konsistensi), pewarnaan Gram dan uji katalase.

Aktivitas Antikapang

Preparasi Spora kapang *Fusarium* sp.

Kapang uji yang digunakan yaitu *Fusarium* sp. ditumbuhkan pada medium PDA miring dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari hingga terjadi sporulasi. Spora dipanen dari medium dengan menambahkan akuades steril yang mengandung 0,1 % Tween 80 dan digojog perlahan. Konsentrasi spora kapang dihitung dengan menggunakan *counting chamber* sampai tercapai 10^6 spora/ml pelarut.

Preparasi kultur BAL

Isolat BAL ditumbuhkan pada MRSB selama 24 jam pada suhu 37°C , selanjutnya diinokulasikan kembali pada medium MRSB dan diinkubasi pada kondisi yang sama. Kultur isolat BAL dibandingkan dengan larutan Mc Farland 0,5, untuk mendapatkan konsentrasi 10^8 CFU/ml.

Preparasi supernatan bebas sel (CFS) BAL

Isolat BAL ditumbuhkan pada MRSB selama 24 jam pada suhu 37°C , selanjutnya diinokulasikan kembali pada medium MRSB dan diinkubasi pada kondisi yang sama. Kultur disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit, supernatan yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk pengujian CFS.

Preparasi supernatan bebas sel BAL yang dinetralkan (CFSN)

Isolat BAL ditumbuhkan pada MRSB selama 24 jam pada suhu 37°C , selanjutnya diinokulasikan kembali pada medium MRSB dan diinkubasi pada kondisi yang sama. Kultur disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit, Supernatan yang diperoleh ditambah dengan NaOH 1 N sampai mencapai pH 7 dan digunakan untuk pengujian CFSN.

Uji aktivitas antikapang

Pengujian aktivitas antikapang dilakukan menggunakan metode *agar well diffusion*. Suspensi spora (10^6 spora/mL) kapang *Fusarium* sp. yang berasal dari biakan berumur 5 hari, diinokulasikan pada permukaan MRSA dalam cawan petri dengan menggunakan *cotton swab* steril, selanjutnya dibuat sumuran dengan diameter 5 mm menggunakan alat *cork borer* steril. Pada setiap cawan petri dibuat 5 sumuran yang akan digunakan, untuk kontrol positif (Dithane M45), kontrol negatif (MRSB), kultur BAL, supernatan bebas sel BAL (CFS) dan supernatan bebas sel BAL yang dinetralkan (CFSN), masing-masing 40 μ L cawan petri diinkubasi pada suhu 28°C selama 72 jam. Diameter daerah bening yang terbentuk di sekitar sumuran diukur menggunakan jangka sorong. Pengujian aktivitas antikapang ini dilakukan dengan 3 kali ulangan.

Analisis Data

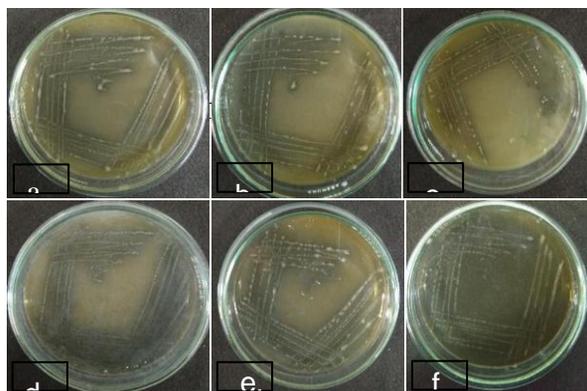
Data hasil pengujian aktivitas antikapang dianalisis secara statistik menggunakan metode *One-Way ANOVA* dengan program SPSS (*Statistical Product Services Solution*) 16.0 dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* ($P < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi BAL dari tape ketan

Isolat bakteri yang diduga merupakan bakteri asam laktat (BAL) berhasil diisolasi dari tape ketan dari pengenceran 10^{-4} - 10^{-7} , isolate tersebut menunjukkan adanya zona bening disekitar koloni setelah inkubasi selama 24 jam pada medium MRSA CaCO₃ 1 %. Asam laktat dan asam organik yang dihasilkan BAL bereaksi dengan CaCO₃ yang tidak larut di dalam medium sehingga membentuk kalsium laktat yang larut, dengan menunjukkan adanya zona bening disekitar koloni bakteri yang tumbuh (Kopermsub *et al.*, 2010).

Enam isolat yang diperoleh diberi kode BTP (Bakteri asam laktat tape plastik), berturut-turut adalah BTP₁, BTP₂, BTP₃, BTP₄, BTP₅, dan BTP₆ (Gambar 1.)



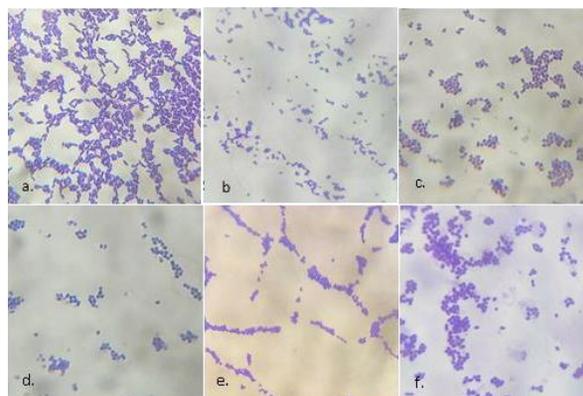
Gambar 1. Isolat Murni BAL dari tape ketan pada medium MRSA CaCO₃ 1%
Keterangan: a: BTP₁; b: BTP₂; c: BTP₃; d: BTP₄; e: BTP₅; f: BTP₆

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Hasil karakterisasi isolat BAL yang di peroleh dari tape ketan menunjukkan bahwa empat isolat berwarna putih dan dua isolat lainnya berwarna krem dengan diameter yang bervariasi dari 0,6 mm-1,7 mm. Karakteristik koloni isolat BAL yang diperoleh dalam penelitian ini sesuai dengan pernyataan Benson *et al.* (2002), bahwa isolat bakteri asam laktat yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam pada medium MRSA akan membentuk koloni berwarna putih, putih kekuningan, hingga coklat muda (krem) dengan ukuran 0,5-2 mm, berbentuk bulat, permukaan mengkilap, konsistensinya lengket seperti margarin (butyrous).

Hasil pengamatan sel isolat BAL

menunjukkan bahwa semua isolat bersifat Gram positif (Gambar 2.), satu isolat (BTP₁) berbentuk basil, sedangkan lima isolat lainnya berbentuk kokus. Semua isolat menunjukkan katalase negatif. König *et al.* (2009) menyatakan bahwa, BAL adalah kelompok bakteri Gram positif, selnya berbentuk bulat atau batang, dan bersifat katalase negatif.



Gambar 2. Pewarnaan Gram bakteri asam laktat dari tape ketan perbesaran 1000 kali

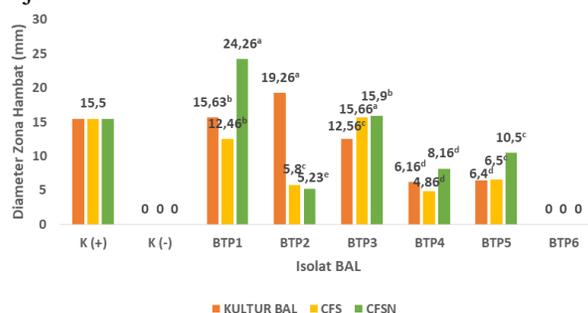
Uji Antikapang Bakteri Asam Laktat (BAL) terhadap *Fusarium* sp.

Aktivitas antikapang dari isolat BAL tape ketan yang diujikan terhadap kapang uji *Fusarium* sp. meliputi kultur BAL, supernatan bebas sel BAL (CFS) dan supernatan bebas sel BAL yang telah dinetralkan (CFSN), dengan kontrol positif Dithane M45 0,05 %.

Uji aktivitas antikapang BAL dari tape ketan menunjukkan, bahwa dari enam isolat terdapat lima isolat yaitu BTP₁, BTP₂, BTP₃, BTP₄, dan BTP₅ yang mampu menghambat pertumbuhan kapang *Fusarium* sp. Aktivitas penghambatan ini ditandai dengan menipisnya pertumbuhan *Fusarium* sp. di sekitar sumuran dengan diameter zona hambat yang bervariasi.

Aktivitas antikapang isolat BAL tape ketan terhadap *Fusarium* sp. baik dari kultur, supernatan bebas sel (CFS), dan supernatan bebas sel yang dinetralkan (CFSN) isolat BAL merupakan jenis penghambatan parsial, hal ini menunjukkan bahwa senyawa antikapang yang dihasilkan bersifat fungistatik. Penghambatan parsial atau aktivitas fungistatik ditandai dengan terjadinya penipisan pertumbuhan di sekitar sumuran, dan bukan zona bening. Poeloengan (2009) menyatakan bahwa, aktivitas penghambatan total adalah bila terjadi daerah jernih di sekitar sumuran yang menunjukkan bahwa senyawa bioaktif mampu membunuh kapang uji, sedangkan penghambatan ditandai dengan terjadinya daerah dengan

pertumbuhan kapang uji yang lebih sedikit/tipis di sekitar sumuran, yang menunjukkan senyawa bioaktif menghambat pertumbuhan mikroba uji.



Gambar 4. Diameter zona hambat isolat bakteri asam laktat dari tape ketan terhadap *Fusarium* sp. pada medium MRSA, inkubasi 72 jam.

Uji pendahuluan dilakukan menggunakan kultur BAL bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat sel BAL beserta hasil metabolitnya terhadap pertumbuhan kapang *Fusarium* sp. Hasilnya menunjukkan kultur isolat BTP₂ memiliki daya hambat paling besar diantara isolat-isolat lainnya dengan diameter hambatan 19,26 mm, sedangkan daya hambat paling kecil ditunjukkan oleh kultur isolat BTP₄ dengan diameter hambatan 6,16 mm. Kemampuan kultur BAL untuk menghambat pertumbuhan kapang *Fusarium* sp. dapat terjadi karena adanya persaingan untuk mendapatkan nutrisi pada media, serta adanya asam organik dan senyawa metabolit yang dihasilkan oleh BAL. Todar (2009) menyatakan bahwa, kemampuan bakteri dalam menekan dan mengontrol pertumbuhan mikroba patogen disebabkan oleh terjadinya kompetisi dalam memperebutkan nutrisi dan ruang. Bakteri asam laktat yang berpotensi menghambat kapang *Fusarium* sp. adalah bakteri asam laktat yang bersifat heterofermentatif, karena jenis bakteri ini selain menghasilkan asam laktat juga menghasilkan asam organik dan metabolit lain seperti diasetil, dan bakteriosin. Lahtinen *et al.*, (2012) menyatakan bahwa bakteri asam laktat dapat digolongkan menjadi 2, yaitu homofermentatif bila fermentasi hanya menghasilkan asam laktat, dan heterofermentatif bila disamping asam laktat juga menghasilkan produk lain seperti asam asetat, diasetil, gas CO₂, etanol dan bakteriosin.

Hasil uji antikapang dari supernatan bebas sel (CFS) menunjukkan bahwa isolat BTP₃ memiliki daya hambat paling besar dengan diameter hambat yaitu 15,66 mm, sementara daya hambat paling kecil terlihat pada CFS isolat BTP₄

dengan diameter 4,84 mm. Aktivitas antikapang dari CFS isolat BAL disebabkan oleh adanya asam laktat dan asam lainnya yang menyebabkan penurunan pH lingkungan, sehingga pertumbuhan kapang yang tidak tahan asam akan terhambat, selain itu juga adanya metabolit yang bersifat antikapang. Salminen *et al.* (2004) menyatakan bahwa penghambatan pertumbuhan kapang yang disebabkan oleh asam organik diakibatkan oleh terjadinya pelepasan H⁺ ke dalam sitoplasma, sehingga pH dalam membran sel menjadi sangat asam secara mendadak. Perubahan permeabilitas membran akan menghasilkan efek ganda, yaitu mengganggu transportasi nutrisi ke dalam sel dan menyebabkan metabolit internal keluar dari sel. Penurunan pH lingkungan akibat asam organik yang dihasilkan BAL menyebabkan terhambatnya pertumbuhan kapang *Fusarium* sp., tetapi BAL mampu bertahan pada kondisi asam. Halim *et al.* (2013) menyatakan bahwa, bakteri asam laktat mampu bertahan pada pH yang asam, karena mampu mentransport asam organik dan H⁺ yang dihasilkan ke bagian luar sel. BAL juga memiliki kemampuan untuk mempertahankan pH sitoplasma lebih alkali daripada pH ekstraseluler dan memiliki membran sel yang lebih tahan terhadap kebocoran sel akibat paparan asam.

Uji antikapang terhadap supernatan bebas sel BAL yang dinetralkan (CFSN), menunjukkan bahwa CFSN BTP₁ memiliki daya hambat paling besar dengan diameter hambat 24,26 mm, sementara daya hambat paling kecil terdapat pada CFSN BTP₂ dengan diameter 5,23 mm. Aktivitas penghambatan dari supernatan bebas sel yang dinetralkan (CFSN) terjadi karena adanya metabolit lain yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp., selain asam yang dihasilkan BAL. Senyawa metabolit dari BAL yang bersifat antikapang adalah asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, diasetil, CO₂, dan bakteriosin. Senyawa-senyawa antikapang tersebut merupakan produk metabolit ekstraseluler yang dihasilkan selama proses pertumbuhan BAL dalam medium fermentasi (Yang *et al.*, 2010).

Senyawa bakteriosin yang diduga mampu menghambat pertumbuhan kapang *Fusarium* sp. adalah reuterin (Salminen *et al.*, 2004). Sun *et al.* (2011) menyatakan bahwa, bakteri asam laktat selain menghasilkan asam juga menghasilkan senyawa lain yaitu bakteriosin. Bakteriosin merupakan antimikroba peptida yang paling terkenal yang dihasilkan dari bakteri asam laktat. Senyawa antikapang dengan berat molekul rendah

seperti reuterin dapat dihasilkan oleh bakteri *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. collinoides* dan *L. coryniformis*. Reuterin di produksi selama fase stasioner pertumbuhan *L. reuteri* dalam kondisi anaerob. Reuterin mempunyai spektrum antimikroba yang luas dan dapat menghambat bakteri Gram negatif dan Gram positif serta ragi, kapang, dan protozoa. Mekanisme aksi dari reuterin terjadi melalui penghambatan ribonukleotida reduktase, sehingga mengganggu sintesis DNA.

Senyawa antikapang lain dari berbagai spesies BAL antara lain adalah dipeptida siklik siklo, metilhidantoin, mevalonolakton dan asam fenilaktat, dari *L. plantarum*, *L. coryniformis* strain Si3, *P. pentosaceus*, dan *L. sakei* (Suskovic et al., 2010).

Berdasarkan hasil penelitian ini aktivitas antikapang dari supernatan bebas sel yang dinetralkan (CFSN) isolat BTP₁ termasuk kategori kuat dengan diameter 24,26 mm, sedangkan kultur BTP₂ dengan diameter 19,26 mm termasuk kategori sedang dan yang lainnya masuk kategori lemah karena diameternya kurang dari 15 mm. Aktivitas penghambatan antikapang dikategorikan lemah apabila < 15 mm, sedang apabila 16-20 mm, dan kuat bila > 20 mm (Vivoka et al., 2006).

KESIMPULAN

Hasil isolasi diperoleh enam isolat BAL (BTP₁, BTP₂, BTP₃, BTP₄, BTP₅, BTP₆). Lima isolat BAL (BTP₁, BTP₂, BTP₃, BTP₄, BTP₅) mampu menghambat pertumbuhan kapang *Fusarium* sp. baik pada kultur BAL, supernatan bebas sel (CFS), dan supernatan bebas sel yang dinetralkan (CFSN) dengan aktivitas antikapang yang bersifat fungistatik. Supernatan bebas sel BAL yang dinetralkan (CFSN) BTP₁ menunjukkan aktivitas antikapang yang paling tinggi terhadap *Fusarium* sp. dibandingkan isolat lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Endang Kusdiyantini di laboratorium Bioteknologi Universitas Diponegoro atas masukan dalam penulisan.

DAFTAR PUSTAKA

Benson, H.J. 2002. *Microbiology Application Laboratory Manual in General Microbiology*. Eight Ed. Mc Graw Hill Boston.

- Cavaglieri, L.R., J. Orlando, M.I Rodriguez, S. Chulze, & M. Etcheverry. 2005. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. *Res. Microbiol.* 156:748-754.
- Fravel, D., C. Olivain, & C. Alabouette. 2003. *Fusarium oxysporum* and its Biocontrol. *New phytologist.* 157: 493-502.
- Hathout, A.S., S.R. Mohameda, A.A. El-Nekeety, N.S. Hassan, S.E. Aly, & M.A.A. Wahhab. 2011. Ability of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus reuteri* to protect against oxidative stress in rats fed aflatoxins-contaminated diet. *Toxicon.* 58: 179-186.
- Konig, H & J. Frohlich, 2009. Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg* pp. 1-4.
- Kopermsub, P., & S. Yunchalard. 2010. Identification of lactic acid bacteria associated with the production of plaasom, a traditional fermented fish product from Thailand. *Inter Food Microbiol.* 138: 200-204.
- Lahtinen, S., A.C. Ouwehand, S. Salminen, & A.V. Wright. 2012. *Lactid Acid Bacteria: Microbiology and Fungtional Aspects*. 4th ed. CRC Press.
- Magalhaes, K.T., G.V.M. Pereira, C.R. Campos, G.D. Dragone & R.F. Schwan. 2011. Brazilian kefir: Structur, Microbial Communities and Chemical Composition. *Brazilian Journal Microbiol.* 42: 693-702.
- Omodamiro, R.M., P. C. Ojimekwe & R. Asiedu. 2015. *In vitro* Inhibition of *Fusarium* by Lactic Acid Bacteria (LAB): Implication of Yam Disease Control for Economic Growth in Nigeria. *British J. Appl. Sci. Tech.* 5(4): 409-416.
- Poeloengan, M. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Miana (*Coleus seutellarioides* (L.) Benth) terhadap Bakteri *Salmonella enteritidis* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biotika.* 7(2): 61-68.
- Salminen, S., A.V. Wright, & A. Ouwehand. 2004. *Lactid Acid Bacteria: Microbiological and Fungtional Aspects*. 4ed. New York: CRC Press.
- Sun, Y., Y. Li, H. Song, & Y. Zhu. 2011. Microbial fermentation for food preservation. In M. Rai, & M. Chikindas (Eds.), *Natural antimicrobials in food safety and quality*. Oxfordshire, UK: CAB International. p:77-94.

- Suskovic, J., B. Kos, J. Begavonic, A.L. Pavunic, K. Habjanic, & S. Matosic. 2010. Antimicrobial Activity- The Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria. *Food. Tech. Biotech.* 48(3):296- 307.
- Vivoka, E., V. Rada, P. Popelaoova, I. Trojanova & J. Killer. 2006. Antimicrobial Susceptibility of Bifidobacteria Isolated from Gastrointestinal Tract of Calves. *Livest Sci.* 105: 253-259.
- Yang, E.J., & H.C. Chang. 2010. Purification of a New Antifungal Compound Produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 Isolated from Kimchi. *Inter Food Microbiol.* 139: 56-63.
- Zebboudj, N., W. Yezli, N.H. Kadar, M. Kihal, & J.E Henni. 2014. Antifungal activity of lactic acid bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* isolated from diseased date palm in South Algeria. *Inter. Biosci.* 5(9): 99-106.

