

NICHE Journal of Tropical Biology

Available online: <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/niche>

Isolasi bakteri asam laktat dari tape ketan dan potensinya sebagai agen antikapang terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus*

Isolation of lactic acid bacterial from fermented sticky rice and its potency as agent of anti-fungus against *Aspergillus flavus* growth

Peni Koriasih^{a*}, Siti Nur Jannah^a, dan Budi Raharjo^a

^aLaboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

ABSTRACT

Food contaminated by pathogenic microbes is very dangerous to consume, especially if the microbes can produce toxins. *Aspergillus flavus* is one of the causes of food poisoning because it produce aflatoxin that can threaten food safety. The use of biological agents as an antifungal can be used as a solution to overcome this. Lactic acid bacteria (LAB) can produce compounds that are able to inhibit the growth of pathogenic organisms in food. The research aims to isolate LAB derived from *tape ketan* (fermented glutinous rice) and identify the morphologically and test the ability of antifungal activity against *Aspergillus flavus*. The isolation method uses multilevel dilution and spread plate on MRSA. Morphological characterization including macroscopic and microscopic. The antifungal test uses the agar well diffusion method. Seven isolates of LAB were isolated. The results of antifungal activity tests for cells and cell-free supernatant of LAB, all isolates showed inhibition of *Aspergillus flavus*, whereas for the neutralized cell-free supernatant test isolates BALTD5, BALTD6 and BALTD7 had no inhibition.

Keywords: lactic acid bacteria, tape ketan, antifungal, Aspergillus flavus

ABSTRAK

Pangan yang terkontaminasi oleh mikroba patogen sangat berbahaya untuk dikonsumsi apalagi jika mikroba tersebut dapat menghasilkan toksin. *Aspergillus flavus* merupakan salah satu penyebab keracunan pada makanan karena menghasilkan aflatoxin yang dapat mengancam keamanan pangan. Penggunaan agen biologis sebagai agen antikapang dapat dijadikan solusi untuk mengatasi hal ini. Bakteri asam laktat (BAL) dapat memproduksi senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan organisme patogen pada makanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BAL yang berasal dari *tape ketan* dan mengidentifikasi secara morfologis serta menguji kemampuan aktivitas antikapangnya terhadap *Aspergillus flavus*. Metode isolasi dilakukan dengan pengenceran bertingkat dan *spread plate* pada media MRSA. Identifikasi morfologi dilakukan secara makroskopis pada koloni BAL dan mikroskopis dengan pengamatan sel. Uji antikapang menggunakan metode sumuran. Hasil isolasi BAL diperoleh tujuh isolat. Hasil uji aktivitas antikapang untuk sel dan supernatan bebas sel BAL, semua isolat menunjukkan penghambatan terhadap *Aspergillus flavus*, sedangkan untuk uji supernatan yang dinetralkan isolat BALTD5, BALTD6 dan BALTD7 tidak ada penghambatan.

Kata kunci : bakteri asam laktat, tape ketan, antikapang, Aspergillus flavus

I. PENDAHULUAN

Pangan dapat menjadi beracun karena telah terkontaminasi oleh mikroba patogen. Kontaminasi pangan oleh bakteri, kapang dan khamir dapat mengubah karakter organoleptik, mengakibatkan perubahan nutrisi, bahkan berbahaya jika mikroba tersebut dapat menghasilkan toksin. Contohnya yaitu *Aspergillus flavus* yang dapat menghasilkan aflatoxin (BPOM, 2008). Berbagai teknik telah diterapkan untuk menghambat pertumbuhan kapang

*Corresponding author

E-mail addresses: nurjannah.suroso@gmail.com

Received 12 September 2019; Received in revised form 10 October 2019; Accepted 17 October 2019

Please cite this article as: Koriasih et al, NICHE J Trop Bio (2019) 2(2) 7-13

seperti penggunaan pengawet kimia: sorbates, propionate dan natamisin. Penggunaan bahan kimia menimbulkan efek negatif pada rasa, aroma dan kesehatan. Oleh karena itu, lebih baik untuk mengembangkan bahan pengawet alami untuk mengganti pengawet kimia (Cheong *et al.*, 2014). Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mencari pengendali kapang khususnya *Aspergillus flavus* yang lebih aman.

Bakteri asam laktat (BAL) termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena tidak menghasilkan toksin, atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan (Kusmiati dan Malik, 2002). BAL banyak digunakan untuk menghasilkan makanan fermentasi. Organisme ini juga sangat penting dalam industri fermentasi makanan karena mereka memproduksi peptida dan protein (bakteriosin) yang menghambat pertumbuhan organisme patogen (Glazer, 2007).

Tape ketan adalah makanan tradisional yang terbuat dari beras ketan dan difermentasi dengan ragi (Purnomo dkk, 2013). Tape ketan merupakan salah satu sumber untuk isolasi bakteri asam laktat. Penelitian yang dilakukan oleh Mustopa dan Fatimah (2014) menemukan bahwa di dalam tape terdapat *Lactobacillus plantarum*. Penelitian lain menurut Nur'Azizah dan Kumarawati (2016) dalam tape ketan terdapat beberapa spesies bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus villorum*, *Weissella Confusa*, *Weissella paramesenteroides*, *Enterococcus faecium* dan *Weissella kimchii*.

BAL dari tape ketan dimungkinkan dapat digunakan untuk pengendalian mikroba patogen, salah satunya sebagai agen antikapang untuk menghambat *Aspergillus flavus*. Menurut Sujaya (2008) BAL akan memfermentasikan bahan pangan dan menyebabkan terbentuknya asam laktat yang akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya. Hal ini berakibat menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme patogen. Olonisakin *et al* (2017) Bakteri asam laktat dapat memproduksi antimikroba seperti asam organik, *diacetyl*, hidrogen peroksida, dan senyawa lain.. Lavermicocca *et al* (2003) berhasil mengisolasi komponen antikapang dari BAL yaitu *phenyllactic acid* (PLA) dan 4- *hydroxyphenyllactic acid* dari *Lactobacillus plantarum*.

Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk memperoleh isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari tape ketan kemasan daun jambu dan menganalisis aktivitas antikapangnya terhadap *Aspergillus flavus*. Isolat ini nantinya diharapkan dapat diaplikasikan untuk menekan kontaminasi *A. flavus* pada bahan pangan.

II. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Sains dan Matematika serta Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro, Semarang. Isolasi BAL dilakukan pada April 2018 dan uji antikapang pada Oktober 2018.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam dalam penelitian ini adalah cawan petri, inkubator, mikropipet, mikropipet tip, tabung *Eppendorf*, neraca analitik, mikroskop, gelas obyek, gelas penutup, ose bulat, jarum ose, bunsen, tabung reaksi, pipet tetes, *cork borer*, *counting chamber* dan jangka sorong. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tape ketan kemasan daun jambu, *Aspergillus flavus* FNCC 6019 dari *Food and Nutrition Culture Collection* (FNCC) UGM, MRSB, MRSA, CaCO₃, Aquades, PDA, NaOH, Tween 80, pewarna Gram, *malachite green* 0,5 %, H₂O₂ 3%, ketokonazol.

Metode Penelitian

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Metode isolasi yang digunakan adalah metode pengenceran bertingkat yang dilanjutkan dengan inokulasi secara *spread plate* (metode sebaran). Sampel yang digunakan yaitu tape ketan kemasan daun jambu dengan waktu inkubasi 24 jam. Tape ketan ditimbang sebanyak 10 gram, kemudian diencerkan dalam 90 ml aquades steril. Pengenceran dilakukan hingga 10⁻⁷. Pengenceran 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ dan 10⁻⁷ di *spread* diatas media MRSA yang ditambah CaCO₃ 1%, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam. Bakteri yang menghasilkan zona bening di sekitar koloni dimurnikan pada medium MRSA CaCO₃ 1%.

Karakterisasi Bakteri

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

Uji Aktivitas Antikapang

Preparasi Larutan Spora Kapang

Kapang *Aspergillus flavus* ditumbuhkan pada PDA dengan suhu 30°C selama 5 hari hingga terjadi sporulasi. Spora dipanen dari media dengan menambahkan akuades steril yang mengandung 0.01 Tween 80 dan digojog perlahan. Konsentrasi spora kapang dihitung dengan menggunakan *counting chamber* dan dibuat konsentrasinya menjadi 10⁶ spora/ml pelarut.

Pengujian Aktivitas Antikapang

Pengujian dilakukan dengan menggunakan sel BAL, supernatan bebas sel tanpa penetralan/ *cell-free supernatant* (CFS) dan supernatan dengan penetralan/ *neutralized cell-free supernatant* (CFSN). Aktivitas antikapang dilakukan dengan menggunakan metode *agar well diffusion* Magnusson & Schnurer (2001). Permukaan MRSA di cawan petri diswab/dioleskan suspensi spora (10⁶ spora/mL) kapang *A. flavus*. Pembuatan sumuran media MRSA yang telah diinokulasi dengan kapang diameter 5 mm menggunakan *cork borer*, tiga kali ulangan dan 2 sumuran sebagai kontrol yaitu kontrol positif, kontrol negatif. Isolat BAL yang akan diuji ditumbuhkan terlebih dahulu pada MRSB kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pengujian Aktivitas Antikapang oleh Sel Bakteri Asam Laktat

Isolat BAL yang telah ditumbuhkan dipipet 40 µL dan dimasukkan dalam masing-masing sumur. Kontrol negatif diisi dengan 40 µL MRSB dan kontrol positif diisi 40 µL ketokonazol. Inkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Luas zona bening di sekitar sumuran diukur menggunakan jangka sorong.

Uji Aktivitas Antikapang supernatan bebas sel/*Cell-free Supernatant* (CFS) BAL

Bakteri asam laktat yang telah ditumbuhkan disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit. Supernatan bebas sel yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk uji. Supernatan tanpa penetralan langsung diujikan, sedangkan untuk supernatan dengan penetralan sebelum uji dilakukan pengukuran pH dan dinetralkan menggunakan NaOH 1 N hingga dicapai pH 7 untuk menghilangkan pengaruh asam organik yang dihasilkan BAL. Pengujian masing-masing dilakukan menggunakan tiga ulangan. Setiap sumuran ditetesi dengan 40 µL sampel. Kontrol positif menggunakan ketokonazol dan kontrol negatif menggunakan MRSB. Cawan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran diukur menggunakan jangka sorong.

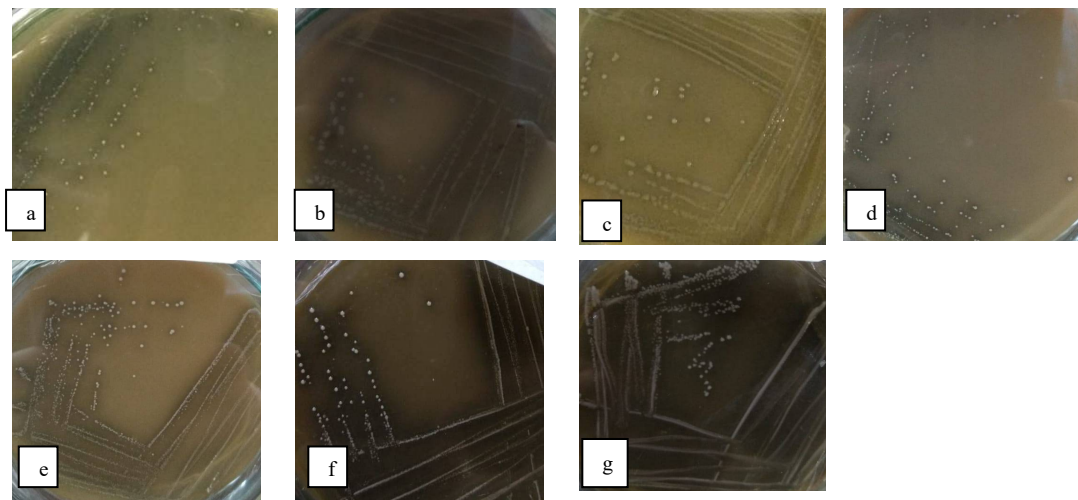
Analisis Data

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* ($P < 0,05$).

III. HASIL

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolasi bakteri asam laktat menggunakan metode pengenceran bertingkat hingga konsentrasi 10⁻⁷ kemudian ditumbuhkan pada media MRSA (*deMann Rogosa Sharpe Agar*) CaCO₃ 1% dengan metode *spread plate* (metode sebaran). Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Isolat bakteri dipilih berdasarkan terbentuknya zona bening disekitar koloni pada medium MRSA CaCO₃ 1%. BAL hasil isolasi dimurnikan pada media MRSA CaCO₃ 1% dengan metode gores kuadran sampai diperoleh isolat murni. Hasil isolasi diperoleh 7 isolat bakteri asam laktat yang diberi kode BALTD (Bakteri asam laktat tape daun) yaitu isolat BALTD1, BALTD2, BALTD3, BALTD4, BALTD5, BALTD6 dan BALTD7 (Gambar 1).

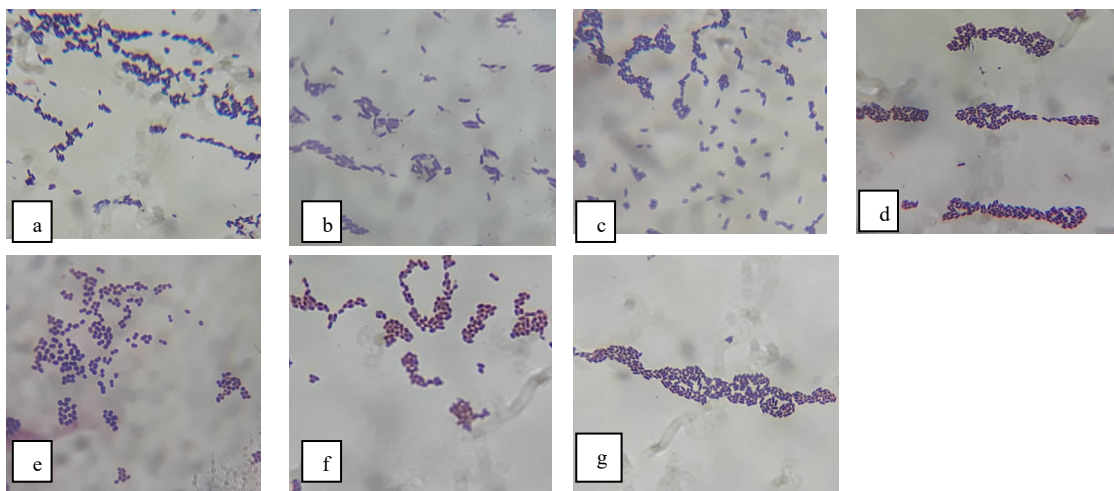


Keterangan : (a) BALTD1, (b) BALTD2, (c) BALTD3, (d) BALTD4, (e) BALTD5, (f) BALTD6, (g) BALTD7

Gambar 1. Isolat BAL dari tape ketan pada MRSA CaCO₃ 1 %

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Hasil karakterisasi bakteri asam laktat menunjukkan bahwa koloni isolat BAL memiliki bentuk bulat, berwarna putih kecuali isolat BALTD3 yang berwarna krem, semua isolat memiliki permukaan yang mengkilap dan halus. Diameter koloni berkisar antara 1.1-2.1 mm. Tekstur semua isolat BAL adalah empuk. Tepi koloni BALTD1 dan BALTD7 bergerigi sedangkan yang lainnya rata. Semua isolat merupakan gram positif, bentuk sel batang atau bulat, non endospora dan katalase negatif.



Keterangan : (a) BALTD1, (b) BALTD2, (c) BALTD3, (d) BALTD4, (e) BALTD5, (f) BALTD6, (g) BALTD7

Gambar 2. Pewarnaan Gram isolat BAL perbesaran 1000x

Uji Antikapang Bakteri Asam Laktat (BAL) terhadap *Aspergillus flavus*

Uji antikapang ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan BAL dalam menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus*. Metode uji yang digunakan adalah metode difusi agar sumuran menurut Magnusson & Schnurer (2001). Uji antikapang yang dilakukan meliputi uji sel BAL, uji supernatan bebas sel (CFS) dan uji supernatan bebas sel yang dinetralkan (CFSN). Pengujian pertama dilakukan menggunakan sel BAL. Uji ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat sel BAL beserta hasil metabolitnya terhadap pertumbuhan kapang *Aspergillus flavus*. Hasil uji menunjukkan semua isolat memiliki kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan *A. flavus* (Tabel 1). BALTD2 dan BALTD3 memiliki daya hambat paling besar dibanding isolat lainnya.

Uji antikapang supernatan bebas sel/*cell free supernatant* (CFS) bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikapang dari metabolit yang dihasilkan oleh BAL, baik asam organiknya maupun senyawa antagonisnya. Hasil uji menunjukkan bahwa semua CFS isolat BAL mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus* (Tabel 1). BALTD2, BALTD3 dan BALTD4 memiliki daya hambat paling besar dibanding isolat lainnya.

Uji supernatan bebas sel yang dinetralkan/*neutralized cell-free supernatant* (CFSN). Supernatan dinetralkan menggunakan NaOH 1 N hingga mencapai pH 7. Tujuan uji ini yaitu untuk mengetahui selain peran dari aktivitas sel, dan asam organik apakah ada peran dari senyawa lain yang mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Hasil uji menunjukkan CFSN isolat BALTD1, BALTD2, BALTD3 dan BALTD4 mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus*, sedangkan BALTD5, BALTD6 dan BALTD7 tidak memiliki daya hambat (Tabel 1).

Tabel 1. Diameter hambat hasil uji aktivitas antikapang BAL hasil isolasi tape ketan terhadap *Aspergillus flavus*

Kode Isolat	Diameter hambat (mm) ± SD		
	Sel BAL	CFS BAL	CFSN BAL
BALTD1	7.56 ± 0.75 ^{ab}	7.03 ± 0.73 ^{ab}	4.26 ± 0.75 ^b
BALTD2	7.80 ± 0.65 ^a	7.36 ± 0.73 ^a	7.10 ± 0.62 ^a
BALTD3	5.50 ± 0.70 ^d	7.63 ± 0.51 ^a	4.76 ± 0.50 ^b
BALTD4	6.86 ± 0.80 ^{ab}	7.2 ± 0.30 ^a	6.76 ± 0.70 ^a
BALTD5	6.00 ± 0.70 ^{cd}	6.60 ± 0.72 ^{ab}	0 ^c
BALTD6	6.53 ± 0.55 ^{bc}	5.73 ± 0.49 ^c	0 ^c
BALTD7	7.36 ± 0.30 ^{ab}	6.00 ± 0.40 ^{bc}	0 ^c
Kontrol positif	16.4 ± 0.0	16.4 ± 0.0	16.4 ± 0.0
Kontrol negatif	0	0	0

Keterangan : BALTD = Bakteri Asam Laktat Tape Daun. CFS (*cell-free supernatant*) = Supernatan bebas sel. CFSN (*neutralized cell-free supernatant*) = Supernatan bebas sel yang dinetralkan. SD = Standar Deviasi.

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada isolat BAL menunjukkan perbedaan tidak nyata.

IV. PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolat bakteri dipilih berdasarkan terbentuknya zona bening disekitar koloni pada medium MRSA CaCO₃ 1%. Bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat yang bereaksi dengan CaCO₃ yang tidak larut di dalam medium sehingga membentuk kalsium laktat yang larut, dengan menunjukkan zona bening disekitar koloni bakteri yang tumbuh (Djide dan Sartini, 2008). Hasil isolasi diperoleh 7 isolat bakteri asam laktat yang diberi kode BALTD (Bakteri asam laktat tape daun) yaitu isolat BALTD1, BALTD2, BALTD3, BALTD4, BALTD5, BALTD6 dan BALTD7.

Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Karakterisasi dilakukan dengan melakukan pengamatan morfologi koloni (bentuk, warna, diameter, permukaan, konsistensi), pewarnaan Gram, pewarnaan endospora dan uji katalase. Karakteristik dari BAL adalah gram positif, tidak membentuk spora, dapat berbentuk bulat atau batang dan bersifat katalase negatif (Magnusson, 2003). Menurut Salminen & Wright (1993) BAL yang memiliki bentuk sel batang yaitu termasuk dalam genus *Lactobacillus* dan *Carnobacterium*, sedangkan BAL yang memiliki bentuk sel bulat yaitu termasuk dalam genus *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus* dan *Leuconostoc*.

Bakteri asam laktat yang berhasil diisolasi dari tape ketan berdasarkan beberapa hasil penelitian yaitu *Lactobacillus* spp., *Weissella* spp., *Pediococcus pentosaceus*, dan *Enterococcus* spp (Sujaya et al. 2010), *Lactobacillus plantarum* (Mustopa dan Fatimah, 2014), *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus fermentum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus villorum*, *Weissella Confusa*, *Weissella paramesenteroides*, *Enterococcus faecium* dan *Weissella kimchii* (Nur'Azizah dan Kumarawati, 2016).

Uji Antikapang Bakteri Asam Laktat (BAL) terhadap *Aspergillus flavus*

Hasil uji menunjukkan BAL memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Penghambatan pada BAL terjadi karena adanya asam organik dan senyawa metabolit yang dihasilkan oleh BAL serta persaingan nutrisi pada media. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dalie et al. (2010), tiga mekanisme antikapang dari BAL yaitu menghasilkan asam organik, persaingan nutrisi dan produksi senyawa antagonis. Menurut Jannah (2005) kompetisi antara *A. flavus* dan BAL dalam mempergunakan substrat yang terbatas pada pH yang relatif rendah dapat menyebabkan penurunan populasi *A. flavus*. Studi Olonisakin et al (2017) mengungkapkan bahwa BAL dapat menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Efek antikapang BAL berasal dari biosintesis asam organik, diacetyl, hidrogen peroksida, dan senyawa lain. Bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan sebagai antikapang terhadap *A. flavus* berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan diantaranya adalah *Lactococcus lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CHD 28.3, *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum* dan *Lactobacillus plantarum* (Dalie et al., 2010) *Lactobacillus plantarum* pi28a, *Lactobacillus plantarum* sa28k (Jannah, 2005) *Lactobacillus brevis* (Oliviera et al., 2014).

BAL mampu menghasilkan asam organik, dimana asam laktat merupakan hasil metabolit utama. Sujaya (2008) menjelaskan bahwa BAL menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya. Menurut Dalie et al (2010) penurunan pH dapat menghambat mikroorganisme lain. Bentuk asam yang tidak terdisosiasi dan lebih hidrofobik berdifusi di atas membran sel dan berdisosiasi di dalam sel, melepaskan ion H⁺ yang mengasamkan sitoplasma dan menghentikan aktivitas metabolisme dari sel kapang. Asam organik yang dihasilkan BAL diantaranya asam laktat, asam asetat, asam propionat dan asam fenilaktat (PLA).

Aktivitas antikapang BAL juga dikaitkan dengan berbagai macam metabolit antagonis. Menurut penjelasan Dalie et al. (2010) Reuterin diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus*. Reuterin di hasilkan oleh *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus collinoides* dan *Lactobacillus coryniformis*. Senyawa antikapang dari berbagai spesies BAL berhasil diidentifikasi, beberapa diantaranya dalam penelitian Ström et al. (2002) dan Magnusson et al. (2003) yang memurnikan tiga zat antikapang dari BAL yaitu siklo (_L-Phe-_L-Pro), siklo (_L-Phe-trans-4-OH-_L-Pro) dan asam phenylacetic, dari *L. plantarum*, *L. coryniformis* strain Si3, *P. pentosaceus*, dan *L. sakei*. Lavermicocca et al. (2003) berhasil mengisolasi komponen antikapang, *phenyllactic acid* (PLA) dan 4- *hydroxyphenyllactic acid* dari *Lactobacillus plantarum*. *Phenyllactic acid* mampu menghambat pembentukan kitin dan β-glukan dalam sintesis dinding sel kapang.

Senyawa antikapang terhadap *A. flavus* telah diidentifikasi dari beberapa spesies BAL, yaitu asam fenilaktat diisolasi dari *Lactobacillus plantarum* 21B dapat menghambat *A. flavus* FTDC3226, *P. expansum* IDM / FS2, *A. niger* FTDC3227 dan IDM1 dan *F. graminearum* IDM623 pada konsentrasi sekitar 50 mg / ml. (Dalie et al., 2010). Senyawa C₁₂H₂₂N₂O₂, 3,6-bis(2-methylpropyl)-2,5-piperazinedon dengan BM 226 (Da) dari *Lactobacillus plantarum* yang mampu menghambat *Aspergillus falvus* ATCC 22546 dan *Aspergillus fumigatus* ATCC 96918 (Yang dan Chang, 2010).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Endang Kusdiyantini di Laboratorium Bioteknologi Universitas Diponegoro atas masukannya dalam penulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- BPOM. 2008. *Pengujian Mikrobiologi Pangan*. Pusat Pengujian Obat dan Makanan RI, Jakarta.
- Cheong, E.Y.L., A. Sandhu, J. Jayabalan, T. T. Kieu Le, N. T. Nhiep, H. T My Ho, J. Zwiehler, N. Bansal & M. S. Turner. 2014. Isolation of lactic acid bacteria with antifungal activity against the common cheese spoilage mould *Penicillium commune* and their potential as biopreservatives in cheese. *Food Control*.
- Dalié, D., Deschamps A., & Richard-Forget F. 2010. Lactic acid bacteria potential for control of mould growth and mycotoxins: a review. *Food Control* 21:370-380.
- Djide, M. N., & Wahyudin E. 2008. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu, dan Potensinya dalam Menurunkan Kadar Kolesterol secara In Vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 12(3).
- Glazer, Alexander N., & B.H. Nikaido. 2007. *Microbial Biotechnology : Fundamentals of Applied Microbiology, Second Edition*. Cambridge University Press. New York.
- Jannah, Siti Nur. 2005. Penghambatan Pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan Reduksi Aflatoksin oleh *Lactobacillus plantarum* pi28a selama Proses Pembuatan Oncom Hitam. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kusmiati & Malik, A. 2002. *Aktivitas bakteriosin dari bakteri Leuconostoc mesenteroides Phac1 pada berbagai media*. Makara Kesehatan 6 (1).
- Lavermicocca, P., F. Valerio & A. Visconti. 2003. Antifungal Activity of Phenyllactic Acid Againsts Molds Isolated from Bakery Products. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 69 No. 1 : 634 – 640.
- Magnusson, J., & J. Schnürer. 2001. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 1–5.
- _____, J., K. Strom, S. Roos, J. Sjogren, & J. Schnurer. 2003. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 219: 129-135.
- Mustopa, A.Z. & Fatimah. 2014. Diversity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Indonesian Traditional Fermented Foods. *Microbiology Indonesia* 8(2):48-57.
- Nur'Azizah, R. & Istiqomah S. K. 2016. Analysis Of Phylogenetic Lactic Acid Bacteria In Glutinous Rice “Tape Ketan” By Bioinformatic Tools In Relation With Its Bacteriocin Product. *Proceedings of 24th ISERD International Conference*. Seoul, South Korea.
- Oliveira, P.M, Zannini E. & Arendt E.K. 2014. Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated bioprotection: from crop farming to cereal products. *Food Microbiol* 37: 78-95.
- Olonisakin, O., Yemisi A.J., Clement O.O., & Bamidele J.A. 2017. Isolation of Antifungal Lactic Acid Bacteria (LAB) from “Kunu” against Toxigenic *Aspergillus flavus*. *Prev. Nutr. Food Sci.* 22(2):138-143.
- Purnomo, G.D., Lindayani & Laksmi H. 2013. Isolation and Identification of Microorganisms from Fermented Glutinous Rice Using Black Bamboo (*Gigantochloa atroviolacea*) and Sweet Bamboo (*Gigantochloa Atter*) . *The 4 th International Conference of Indonesian Society Lactic Acid Bacteria (ISLAB)*. Yogyakarta.
- Salminen, S. & A. Von Wright. 1993. *Lactic Acid Bacteria*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Ström, K., Sjogren, J., Broberg, A. & Schnurer, J., 2002. *Lactobacillus plantarum* MiLAB produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and cyclo (LPhe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Applied Environmental Microbiology* 68:4322–4327.
- Sujaya I.N., Y Ramona, N.P Widarini, N.P Suariani, N.M.U Dwipayanti, K.A Nocioanitri & N.W Nursini. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. *J Veteriner* 9 (2): 52-59.
- Yang, E.J. & Chang, H.C. 2010. Purification of a new Antifungal Compound Produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 Isolated from Kimchi. *International Journal of Food Microbiology* 139:56-63