

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROFLORA *INDIGENOUS* DALAM BUDU

Isolation and Identification of Indigenous Microflora in Budu

Yusra¹, Fauzan Azima¹, Novelina¹, Periadnadi²

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang 25163

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Andalas, Padang, 25163

Email: yusra@bunghatta.ac.id

ABSTRAK

Budu merupakan produk fermentasi ikan yang diproduksi di daerah pesisir Kabupaten Padang Pariaman, Agam dan Pasaman. Budu biasanya terbuat dari ikan pelagis yang berukuran besar dan memiliki daging putih, seperti ikan Tenggiri (*Scomberomorus guttatus*). Penelitian ini bertujuan mengetahui jenis mikroflora *indigenus* yang terdapat pada budu. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan budu yang berasal dari tiga pengolah yakni Sungai Sirah dan Gasan Gadang yang terletak di Kabupaten Padang Pariaman dan dari daerah Sasak Kabupaten Pasaman Propinsi Sumatera Barat. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Identifikasi yang dilakukan meliputi karakteristik morfologi dan biokimia bakteri. Ditemukan sebanyak 138 koloni bakteri yang secara morfologi dan biokimia dikelompokkan ke dalam dua genus yakni *Bacillus* dan *Micrococcus* (*Bacillus sphaericus*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pantothenicus* dan *Micrococcus lactis*).

Kata kunci: Isolasi, identifikasi, mikroflora *indigenus*, fermentasi, budu

ABSTRACT

Budu from is a fermented fish product mainly found in the coastal areas such a Pariaman, Tiku and Pasaman, West Sumatera. Budu is normally made from bigger sized marine fish such as Spanish mackerel (*Scomberomorus guttatus*). The aims of this research were to determine the type of indigenous microflora contained in budu. The material used in this study was budu derived from small scale domestic factory in West Sumatera (Sirah river and Gasan district Padang Pariaman and Sasak district Pasaman). Experimental method was used and was descriptively analyzed. Identification was conducted on the morphological and biochemical characteristics of bacteria. It was found 138 bacteria colonies as morphologically and biochemical grouped into two genus namely *Bacillus* and *Micrococcus* (*Bacillus sphaericus*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pantothenicus* and *Micrococcus lactis*).

Keywords: Isolation, identification, indigenous microflora, fermentation, budu

PENDAHULUAN

Budu yang berasal dari Sumatera Barat bukan merupakan nama jenis ikan, namun merupakan bentuk produk fermentasi yang diproduksi di daerah pesisir Kabupaten Padang Pariaman, Agam dan Pasaman. Budu biasanya terbuat dari ikan pelagis yang berukuran besar dan memiliki daging putih seperti ikan Tenggiri (*Scomberomorus guttatus*) dan ikan talang-talang (*Chorinemus tala*). Ikan budu yang dibuat dari jenis ikan tenggiri memiliki kadar protein (31,63%-45,12%), lemak (3,43%-4,39%), air (34,05%-45,12%), abu (3,80%-11,39%), karbohidrat (3,44%-16,02%) (Darwis, 2011), kadar

garam 8,17%, pH 6,56 (Yusra, 2012), dan mempunyai nilai ekonomis tinggi. Ikan budu dengan berat 5 kg memiliki harga jual Rp 400.000 - Rp 500.000 per ekor. Selain dikonsumsi oleh penduduk lokal ikan budu juga dijual sampai ke negara tetangga Malaysia (Huda, 2004).

Fermentasi ikan merupakan suatu proses autolitik. Pendegradasian protein ikan menjadi produk dengan menggunakan bantuan bakteri asam laktat menghasilkan cairan ataupun pasta. Bakteri asam laktat memiliki peranan sentral dalam proses fermentasi protein ikan. Secara lebih luas dinyatakan bahwa fermentasi merupakan salah satu proses biopreservasi yang bertujuan untuk memperpanjang

masa simpan produk (Hwanhlem dkk., 2011) dengan menggunakan proses metabolisme mikrobia ataupun enzimatis dan menyebabkan perubahan signifikan dalam struktur biokimiawinya (Campbell-Platt, 1994). Proses penguraian senyawa-senyawa protein ikan pada proses fermentasi berlangsung dengan bantuan enzim (dalam otot dan pencernaan) sebagaimana mikroflora indigenous yang memang sudah terdapat dalam otot ikan. Dalam tahapan ini, beberapa proses *autolisis* baik secara fermentasi enzimatis dan khemis terjadi dalam otot ikan, sebagaimana juga perkembangan mikroflora (bakteri) indigenous dalam otot ikan dapat terjadi bersamaan atau berkelanjutan. Dalam fermentasinya secara anaerob mikroflora menghasilkan gas dan senyawa-senyawa kimia diantaranya asam-asam organik seperti asam laktat dan proses ini terus berkelanjutan dengan penguraian secara kimiawi.

Pemahaman tentang jenis-jenis mikroorganisme yang dominan terdapat pada produk fermentasi ikan sangat penting. Hal ini disebabkan karena organisme yang ditemukan dalam produk fermentasi ikan biasanya berhubungan erat dengan proses degradasi protein dan pengembangan rasa dan aroma untuk produk akhir. Menurut Lopetcharat dkk. (2001) bakteri yang terlibat dalam sebagian besar kecap ikan dapat diklasifikasikan kedalam dua kelompok besar, kelompok pertama adalah bakteri yang menghasilkan enzim proteolitik seperti *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, *Micrococcus* sp, *Staphylococcus* sp, *Halococcus* sp, *Halobacterium salinarum*, dan *Halobacterium cutirubrum*, sementara kelompok kedua terdiri dari bakteri yang terkait dengan pengembangan rasa dan aroma saus ikan seperti *Bacillus* sp dan *Staphylococcus* sp. Sim dkk. (2009) menemukan bakteri halophilik indigenous yang terdapat pada ikan budu yang berasal dari Malaysia adalah *Micrococcus luteus* dan *Staphylococcus arlettae*. Disamping itu juga ditemukan jenis bakteri yang lain seperti *Lactobacillus plantarum* LP1, LP2, *Staphylococcus arlettae* SA1, *Saccharomyces cerevisiae* SC3, dan *Candida glabrata* CG2.

Penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri yang berasal dari produk fermentasi ikan sudah banyak dilakukan seperti: bekasam dan bakasang dari Indonesia (Wikandari dkk., 2012; Lawalata dkk., 2010), plaa-som dan nam-pla dari Thailand (Kopermsub and Yunchalard, 2010; Hwanhlem dkk., 2011; Tanasupawat dkk., 2009), budu dari Malaysia (Liasi dkk., 2009), tungtap dari Bangladesh (Rapsang dan Joshi, 2012), dan shidol dari India (Kakati dan Goswami, 2013), namun yang berasal dari ikan budu belum pernah dilakukan. Bertitik tolak dari budu merupakan produk fermentasi, maka sangatlah mungkin bahwa budu mengandung banyak bakteri indigenous. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri indigenous yang terdapat pada ikan Tenggiri (*Scomberomorus guttatus*) budu.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah ikan tenggiri (*Scomberomorus guttatus*) budu yang dibeli dari nelayan pengolah di tiga daerah yakni Sungai Sirah dan Gasan Gadang Kabupaten Padang Pariaman dan Sasak Kabupaten Pasaman Propinsi Sumatera Barat.

Bahan-bahan kimia yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah: bacto agar (Oxoid), glukosa, tripton, CaCO_3 , aquades steril, alkohol, spiritus. Untuk pewarnaan Gram dibutuhkan zat warna crystal violet, lugol, alkohol 96%, 70%, safranin, H_2O_2 3%, pewarna malacyst green. Uji-biokimia digunakan KOH 1%, NaCl, potasium kromat, perak nitrat, fenofalein, p-aminodimetilanilin oksalat 1%, NaOH 0,1N, minyak immersi, bromthymol blue, pereaksi kovacs dan asam sulfanilat.

Media yang digunakan adalah *Glukosa Tripton Agar* (GTA) + CaCO_3 , *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Broth (Merck), TSA (*trypticase soy agar*), trypton broth, sulfat agar, nitrat broth, TSIA (*triple sugar iron agar*), *Baird Parker Agar* (BPA), *brain heart infusion* (BHI) dan *Simmons citrate*.

Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dimulai dengan proses penghancuran 10 g daging ikan budu, kemudian dimasukkan ke dalam erlemeyer steril, dicukupkan dengan aquades hingga volumenya 100 ml dan dihomogenkan (pengenceran 10^{-1}). Untuk pengenceran 10^{-2} diambil 1 ml suspensi contoh kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril dan dikocok sampai homogen. Pengenceran selanjutnya dilakukan dengan cara yang sama sampai diperoleh tingkat pengenceran 10^{-8} .

Selanjutnya dari masing-masing pengenceran dipipet 1 ml suspensi contoh dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian dituangkan medium agar cair *Glucose Tripton Agar* (GTA) + CaCO_3 1% (Periadnadi, 2003). Cawan petri berisi biakan mikroba diinkubasi pada suhu kamar selama 2-3 kali 24 jam. Jika terbentuk zona bening di sekeliling koloni, maka koloni ini diduga bakteri penghasil asam. Koloni kemudian ditumbuhkan ke dalam agar miring yang berisi medium GTA dan diinkubasi selama 2 hari, selanjutnya untuk memperoleh isolat murni koloni ini kemudian dipindahkan ke dalam medium MRS agar (Djide dkk, 2008).

Identifikasi Bakteri

Identifikasi isolat bakteri meliputi karakteristik morfologi dan biokimia bakteri yakni: pewarnaan Gram, pewarnaan spora, motilitas, uji TSIA, pembentukan gas, katalase, oksidase, motilitas, indol, urea, sitrat, laktosa,

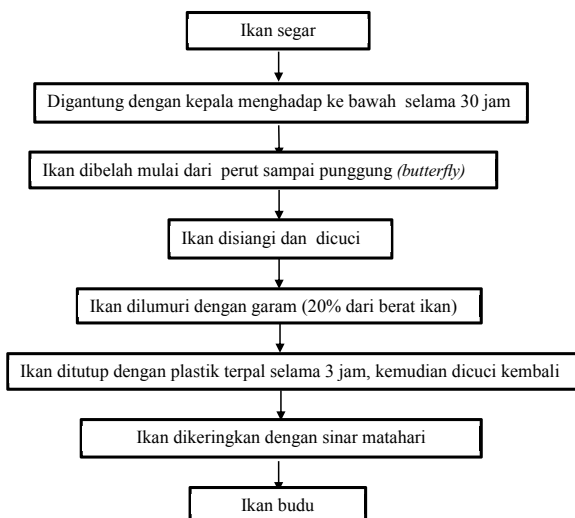
glukosa, sukrosa, MR dan VP, OF test, reduksi nitrat dan gelatin (Fardiaz, 1989; Hadioetomo, 1985; Lay, 1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Budu yang berasal dari Sumatera Barat bukan merupakan nama jenis ikan, namun merupakan bentuk produk olahan ikan fermentasi. Ikan budu (Gambar 1) diproduksi di daerah pesisir Kabupaten Padang Pariaman, Agam dan Pasaman. Budu biasanya terbuat dari ikan pelagis yang berukuran besar dan memiliki daging putih, seperti ikan tenggiri (*Scomberomorus guttatus*), ikan talang-talang (*Chorinemus tala*) dan jenis ikan berdaging putih lainnya seperti ikan Tete (*Charanx* sp), sehingga penamaannya sesuai dengan jenis ikan yang digunakan yakni budu tenggiri dan budu talang. Prosedur pengolahan budu dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Ikan budu

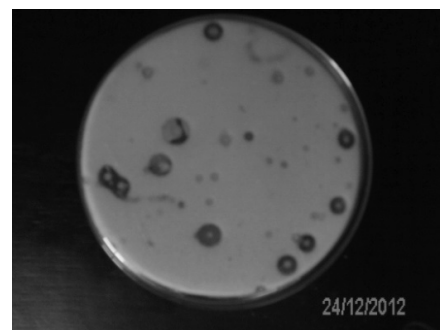


Gambar 2. Prosedur pembuatan ikan budu

Prosedur pembuatan ikan budu adalah sebagai berikut: mula-mula ikan digantung dengan kepala menghadap ke bawah selama 30 jam sambil kadang-kadang darah yang keluar dari mulut ikan disiram dengan air. Setelah ikan menggebung,

ikan kemudian disiangi dengan cara membelah mulai dari perut sampai punggung (*butterfly*), membuang insang serta isi perutnya dan dicuci kembali untuk membersihkan sisa darah. Kadang-kadang juga dilakukan pemisahan daging dengan tulang dan siripnya. Permukaan tubuh ikan kemudian dilumuri dengan garam sebanyak 20% dari berat ikan dan ditutup dengan plastik terpal selama 3 jam dan kemudian ikan dicuci kembali, selanjutnya ikan dikeringkan dengan sinar matahari.

Isolasi dan identifikasi bakteri *indigenous* diawali dengan isolasi bakteri menggunakan medium GTA + CaCO₃. Ditemukan sebanyak 138 koloni bakteri dari ikan budu berdasarkan zona bening disekeliling bakteri (Gambar 3).

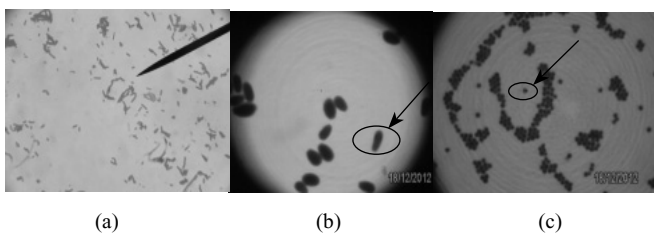


Gambar 3. Koloni bakteri pada media GTA+CaCO₃

Penelitian tentang isolasi bakteri dari produk fermentasi ikan juga dilakukan oleh Lawalata dkk. (2010) terhadap ikan bakasang, ditemukan 98 isolat bakteri asam laktat. Selain itu Khairina dan Khotimah (2006) menemukan 27 isolat bakteri yang berasal dari produk fermentasi wadi. Hwanhlem dkk. (2011) menemukan 138 isolat bakteri asam laktat yang berasal dari plasom, produk fermentasi ikan yang berasal dari Thailand. Prihantono dkk. (2013) yang melakukan penelitian tentang aktivitas proteolitik dan fibrinolitik dari produk fermentasi terasi dan jambal roti menemukan 74 isolat bakteri asam laktat. Untuk mengetahui genus dan menduga spesies bakteri, terhadap seluruh isolat selanjutnya dilakukan identifikasi berdasarkan karakteristik morfologi dan biokimiawi (Tabel 1).

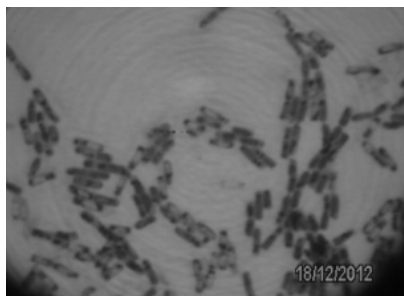
Identifikasi yang pertama dilakukan untuk mengelompokkan bakteri apakah termasuk gram positif atau gram negatif adalah dengan melakukan uji pewarnaan gram. Hasil uji yang dilakukan memperlihatkan bahwa ke-138 isolat bakteri tergolong kedalam bakteri gram positif, hal ini ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri akibat penambahan kristal violet. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar dan Chan (1986) pengamatan secara mikroskopik terhadap bakteri gram positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri. Hal tersebut disebabkan karena bakteri ini mempunyai kandungan lipid yang lebih rendah,

sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah terdehidrasi akibat perlakuan dengan alkohol. Dinding sel yang terdehidrasi menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi kecil dan daya permeabilitasnya berkurang sehingga zat warna ungu kristal yang merupakan zat warna utama tidak dapat keluar dari sel dan sel akan tetap berwarna ungu. Sedangkan bakteri gram negatif terlihat berwarna merah karena bakteri ini kehilangan pewarna kristal violet pada waktu pembilasan dengan alkohol namun mampu menyerap pewarna tandingan yaitu safranin. Berdasarkan bentuk sel diketahui bahwa 131 isolat bakteri berbentuk batang (basil) dan 7 isolat berbentuk bulat (kokkus). Hasil pengujian terhadap pewarnaan gram dan bentuk sel bakteri hasil isolasi dari ikan budu dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pewarnaan Gram (a) dan bentuk sel bakteri batang (b) dan kokkus (c)

Setelah uji pewarnaan gram, tahap identifikasi selanjutnya adalah melakukan uji pewarnaan spora menggunakan zat warna *malacyte green* untuk menentukan ada atau tidaknya spora dalam bakteri. Hasil pengujian terhadap pewarnaan spora bakteri dapat dilihat pada Gambar 5 di bawah ini.

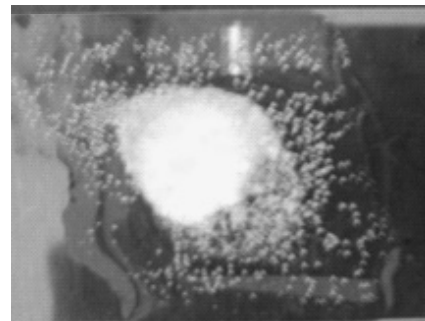


Gambar 5. Pewarnaan spora bakteri

Berdasarkan hasil uji pewarnaan spora terlihat bahwa seluruh isolat bakteri dari ikan budu yang berbentuk batang terlihat memiliki spora (endospora). Berdasarkan kunci identifikasi disimpulkan bahwa bakteri yang memiliki ciri-ciri gram positif, berbentuk batang dan memiliki spora diduga termasuk kedalam genus *Bacillus* atau *Clostridium*.

Identifikasi selanjutnya untuk bakteri dengan sel yang berbentuk bulat (kokkus) adalah uji katalase. Uji katalase digunakan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada isolat bakteri. Enzim ini terdapat pada sel-sel bakteri yang mempunyai metabolisme aerobik. Katalase adalah enzim yang dapat mengkatalisasi penguraian hidrogen peroksida

(H_2O_2). Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini dapat menginaktivasi enzim dalam sel. Uji ini penting dilakukan untuk mengetahui sifat bakteri terhadap kebutuhannya akan oksigen (Lay, 1994). Penentuan adanya enzim katalase terhadap sel bakteri dilakukan dengan menggunakan larutan H_2O_2 3% pada koloni yang terpisah. Bakteri yang bersifat katalase positif akan terlihat pembentukan gelembung udara di sekitar koloni (Gambar 6).



Gambar 6. Hasil uji katalase bakteri

Berdasarkan hasil uji katalase terlihat bahwa terbentuk gelembung udara (gas) pada objek glass. Ini berarti ada oksigen yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Bila terbentuk gas pada uji katalase maka dapat diartikan adanya enzim katalase pada isolat bakteri tersebut. Berdasarkan kunci identifikasi disimpulkan bahwa bakteri yang memiliki ciri-ciri gram positif, berbentuk bulat dan bersifat katalase diduga termasuk kedalam genus *Micrococcus* atau *Staphylococcus*.

Berdasarkan uji biokimia kelompok A dan jika dihubungkan dengan kunci identifikasi dari Cowan dan Steel (1975), maka isolat bakteri kelompok ini merupakan bakteri dari genus *Bacillus* dengan spesies *Bacillus sphaericus*. Karakteristik bakteri yang ditemukan pada penelitian ini sama dengan yang ditemukan oleh Feliatra dkk. (2004) yang melakukan isolasi dan identifikasi bakteri dari ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) ditemukan koloni bakteri yang berwarna putih susu atau agak krem, bentuk koloni bulat, tersusun dalam bentuk berpasangan atau rantai dengan ujung bundar, hasil pewarnaan sel gram positif dan bakteri bersifat motil. Hal yang sama juga ditemukan pada penelitian Sumpavapol dkk. (2010) yang melakukan isolasi dan identifikasi bakteri dari Kepiting (*poo-kem*) yang berasal dari Thailand menemukan bakteri gram positif, memiliki spora dan berbentuk batang. Begitu juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Noguchi dkk. (2004) yang melakukan isolasi bakteri dari saus ikan yang berasal dari Vietnam menemukan lima strain bakteri yang memiliki ciri-ciri: gram positif, berbentuk batang, memiliki endospora dan bersifat aerob. Isolat bakteri kelompok B, C, dan D jika dihubungkan dengan kunci identifikasi maka isolat bakteri kelompok ini merupakan jenis bakteri dari genus *Bacillus* yakni dengan

spesies *Bacillus polymyxa*, *Bacillus cereus* dan *Bacillus pantothenicus*.

Tabel 1. Karakteristik koloni bakteri hasil isolasi dari ikan budu berdasarkan uji biokimia

Karakteristik	Kelompok Isolat Bakteri				
	A	B	C	D	E
Motilitas	+	+	+	+	-
Oksidase	-	-	-	-	-
Aerob/anaerob	A	A	A	A	A
Indol	-	-	-	-	-
Reduksi nitrat	-	+	-	-	-
TSIA	K/K	K/K	K/K	K/K	K/K
Glukosa	-	+	-	-	+
Laktosa	-	-	+	-	+
Sukrosa	+	+	+	+	+
Gas	-	-	+	-	-
Sitrat	-	+	-	-	-
Agar darah	+	+	+	+	+
Pigmentasi	Abu-abu	Abu-abu	Abu-abu	Abu-abu	Abu-abu
Hemolisis	+	+	+	+	-
Urea	+	+	-	-	-
Mannitol	-	-	+	-	+
MR	+	-	+	+	+
VP	-	+	+	-	-
OF	-	-	-	-	-
Gelatin	+	+	+	+	+

Menurut Holt dkk. (1994) *Bacillus* sp. memiliki sifat gram positif dan biasanya motil oleh *flagel peritrichous*. Endospora oval, kadang-kadang bundar atau silinder dan sangat resisten pada kondisi yang tidak menguntungkan. Mereka tidak lebih dari satu spora per sel dan sporulasi tidak tahan pada udara terbuka. Bakteri ini bersifat aerobik atau fakultatif anaerobik. Kemampuan fisiologi beragam, sangat peka terhadap panas, pH dan salinitas, kemoorganotrof dengan metabolisme fermentasi atau pernapasan. Biasanya bersifat katalase dan oksidase positif, tersebar luas pada bermacam-macam habitat dan bersifat patogen terhadap vertebrata atau invertebrata.

Isolat bakteri kelompok E memiliki ciri-ciri: tidak motil, uji oksidase negatif yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna medium, bersifat aerob, tidak terbentuk warna merah pada uji indol, tidak mereduksi nitrat, uji terhadap gula laktosa, glukosa dan sukrosa positif, tidak terbentuk gas pada permukaan medium, uji sitrat negatif, tumbuh pada media agar darah, uji hidrolisis urea negatif, uji manitol positif, dan uji MR positif, uji VP negatif, uji OF negatif, dan uji gelatin positif yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan medium nutrisi gelatin setelah proses inkubasi. Berdasarkan hasil pengujian sifat fisiologis bakteri pada kelompok ini serta dihubungkan dengan kunci identifikasi dari Cowan dan Steel's (1975), isolat bakteri kelompok ini merupakan jenis bakteri dari genus *Micrococcus* dengan spesies *Micrococcus lactis*.

Majumdar dan Basu (2010) melakukan karakterisasi dari produk fermentasi ikan lona ilish yang berasal dari daerah Timur Laut India. Dari keseluruhan bakteri yang terdapat pada produk fermentasi ini 60% merupakan bakteri *Micrococcus* sp. dan 40% bakteri *Bacillus* sp. Anihouvi dkk. (2006), dari 25 sampel fermentasi ikan (*lanhouin*) yang berasal dari Vietnam ditemukan jenis bakteri yang dominan adalah bakteri *Bacillus* sp dan *Micrococcus* sp. Tarom dan Sarojnalini (2012) meneliti tentang pengaruh suhu terhadap kualitas biokimia dan mikrobiologi ngari, menemukan bakteri *Bacillus* sp. dan *Micrococcus* spp. dominan terdapat dalam produk tersebut.

KESIMPULAN

Pada ikan budu terdapat bakteri *indigenus* yang secara morfologi dan uji biokimia dikelompokkan ke dalam dua genus yakni *Bacillus* dan *Micrococcus* (*Bacillus sphaericus*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pantothenicus* dan *Micrococcus lactis*).

DAFTAR PUSTAKA

- Anihouvi, V.B., Ayernor. G.S., Hounhouigan. J.D. dan Dawson, E.S. (2006). Quality and characteristics of lanhouin : a traditionally processed fermented fish product in the Republic of Benin. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development* **6**(1): 1-15.
- Campbell-Platt, G. (1994). Fermented foods - a world perspective. *Food Research International* **27**: 253-257.
- Cowan, S.T. dan Steel, K.J. (1975). Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press, London.
- Darwis, D.P. (2011). *Karakterisasi Mutu Ikan Budu di beberapa Daerah di Sumatera Barat*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Bung Hatta, Padang.
- Djide, Natsir dan Sartini. (2008). Isolasi, identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari kol (*Brassica oleracea*L.) dan potensinya sebagai antagonis *Vibrio harveyi*. *Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan* **18**(3): 211-216.
- Fardiaz, S. (1989). *Mikrobiologi Pangan Penuntun Praktek Laboratorium*. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Feliatra, E., Irwan dan Edwar. S. (2004). Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik dari ikan Kerapu (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam upaya efisiensi pakan ikan. *Jurnal Natur Indonesia* **6**(2): 75-80.

- Hadioetomo (1985). *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. PT. Gramedia, Jakarta.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. dan Williams, S.T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Williams and Wilkins, Maryland.
- Huda, N. (2004). *Laut dan Bahan Makanan Kita*. Penerbit Unri Press, Riau.
- Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanachant, S. dan Benjakul, S. (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (plasom) and production of plasom from selected strains. *Food Control* **22**: 401-407.
- Kakati, B.K. dan Goswami, U.C. (2013). Microorganisms and the nutritive value of traditional fermented fish products of Northeast India. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology* **2**(1): 124-127.
- Khairina, R. dan Khotimah, I.K. (2006). Studi komposisi asam amino dan mikroflora pada wadi ikan betok. *Jurnal Teknologi Pertanian* **7**(2): 120-126.
- Kopermsub, P. dan Yunchalard, S. (2010). Identification of lactic acid bacteria associated with the production of plaa-som, a traditional fermented fish product of Thailand. *International Journal of Food Microbiology* **138**: 200-204.
- Lawalata, H.J., Sembiring, L. dan Rahayu, E.S. (2010). Bakteri asam laktat pada bakasang dan aktivitas penghambatannya terhadap bakteri patogen dan pembusuk. *Disampaikan dalam Seminar Nasional Biologi di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 24-25 September*.
- Lay, B.W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Persada, Jakarta.
- Liasi, S.A., Azmi, T.I., Hassan, M., Shuhaimi, M., Rosfarizan, M. dan Ariff, A.B. (2009). Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolate of lactic acid bacteria from fermented fish product, *budu*. *Malaysian Journal of Microbiology* **5**(1): 33-37.
- Lopetcharat, K., Choi, Y.J., Park, J.W. dan Daeschel, M.A. (2001). Fish sauce products and manufacturing. A review. *Food Research International* **17**: 65-68.
- Majumdar, R.K. dan Basu, S. (2010). Characterization of the traditional fermented fish product lona ilish of North East India. *Indian Journal Traditional Knowledge* **9**(3): 435-458.
- Noguchi, H., Uchino, M., Shida, O., Takano, K., Nakamura, L.K. dan Komagata, K. (2004). *Bacillus vietnamensis* sp. nov., a moderately halotolerant, aerobic, endospore-forming bacterium isolated from Vietnamese fish sauce. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **54**: 2117-2120.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. (1986). *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Terjemahan: R.S. Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L. Angka. UI Press, Jakarta.
- Periadnadi (2003). *Vorkommen und Stoffwechsellistungen von Bakterien der Gattungen Acetobacter und Gluconobacter Während der Weinbereitung unter Berücksichtigung des Zucker_Säure_Stoffwechsels*. Disertasi. Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt aM.
- Prihantono, A., Darius, A. dan Firdaus, M. (2013). Proteolytic dan fibrinolytic activities of halophilic lactic acid bacteria from two Indonesia fermented foods. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* **2**(5): 2291-2293.
- Rapsang, G.F. dan Joshi, S.R. (2012). Bacterial diversity associated with tungtap, an ethnic traditionally fermented fish product of Meghalaya. *Indian Journal of Traditional Knowledge* **11**(1): 134-138.
- Sim, K.Y., Yee, C.F. dan Anton, A. (2009). Microbiological characterization of budu, an indigenous Malaysian fish sauce. *Borneo Science* **24**: 25-35.
- Sumpavapol, P., Tongyongk, L., Tanasupawat, S., Chokesajawatee, Luxananil, P. dan Visessanguan, W. (2010). *Bacillus siamensis* sp. nov, isolated from salted crab (poo-kem) in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **60**: 2364-2370.
- Tanasupawat, S., Namwong, S., Kudo, T. dan Itoh, T. (2009). Identification of halophilic bacteria from fish sauce (nam-pla) in Thailand. *Journal of Culture Collections* **6**: 69-75.
- Taorem, S. dan Sarojnalini, C.H. (2012). Effect temperature on biochemical and microbiological qualities of ngari. *Nature and Science* **10**(2): 32-40.
- Wikandari, P.R., Suparno, Marsono, Y. dan Rahayu, E.S. (2012). Karakterisasi bakteri asam laktat proteolitik pada bekasam. *Jurnal Natur Indonesia* **14**(2): 120-125.
- Yusra (2012). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat yang Bersifat Antimikroba dari Produk Fermentasi Ikan Tenggiri (Scomberomorus guttatus) budu*. Laporan Akhir Hibah Fundamental. DP2M Dikti. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Bung Hatta, Padang.