

POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI DAN ENZIM EKSTRASELULER

**Amor Tresna Karyawati¹, Dodi Darmakusuma^{2,3,4}, Rony S. Mauboy¹
Djeffry Amalo¹, Abdullah Mutis⁵**

1. Program Studi Biologi, FST, UNDANA

2. Prodi Teknik Pembuatan Tenun Ikat, FST, UNDANA

3. Prodi Kimia, FST, UNDANA

4. UPT Laboratorium Terpadu UNDANA

5. Food Product Development Consultant, The Moetis Original

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) dapat menghasilkan senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler yang penting bagi kesejahteraan manusia. Bakteri ini dapat diisolasi dari bunga karena nektar bunga dapat menyediakan energi dan karbon bagi bakteri tersebut. Meskipun penelitian terkait sudah banyak dilakukan, isolasi bakteri asam laktat dari bunga masih memiliki potensi besar dalam pengembangan sumber daya hayati mikroba di Indonesia, yang kaya akan keanekaragaman tumbuhan berbunga. Tujuan dari tulisan ini adalah memberikan informasi tentang potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari bunga sebagai penghasil senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler. Selain itu tulisan ini juga akan menguraikan metode sederhana yang dapat diimplementasikan dan dikembangkan sebagai protokol penapisan potensi bakteri asam laktat penghasil senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler. Studi pustaka ini melibatkan pengumpulan dan analisis literatur dari berbagai database ilmiah, diklasifikasikan berdasarkan subtopik yang relevan. Hasil menunjukkan bahwa BAL dari bunga dapat menghasilkan senyawa antibakteri yang efektif melawan berbagai patogen, serta enzim ekstraseluler yang berperan dalam berbagai aplikasi industri. Metode sederhana yang diuraikan mencakup pengambilan sampel, isolasi, karakterisasi, uji antibakteri, dan aktivitas enzimatik. Protokol ini memungkinkan laboratorium dengan sumber daya terbatas untuk melakukan penapisan dan identifikasi BAL potensial, mendukung pengembangan produk berbasis mikroba yang bermanfaat bagi kesehatan manusia dan industri. Penelitian ini mempercepat identifikasi bakteri yang memiliki potensi antibakteri dan enzimatik, meningkatkan keamanan pangan, dan memberikan manfaat kesehatan yang signifikan.

Kata Kunci: Bakteri Asam Laktat, Senyawa Antibakteri, Enzim Ekstraseluler, Isolasi Bakteri

Bakteri asam laktat dikenal sebagai bakteri baik yang banyak bermanfaat bagi manusia. Manfaat bakteri asam laktat bagi manusia antara lain sebagai bakteri probiotik, berperan dalam pengawetan makanan, meningkatkan nilai gizi dari makanan, penghasil senyawa antibakteri, dan lain-lain. Bakteri asam laktat yang berperan sebagai probiotik mampu meningkatkan sistem pertahanan tubuh manusia. Pada masa pandemi Covid-19 produk probiotik banyak diminati oleh masyarakat dan dimanfaatkan untuk melindungi tubuh dari serangan virus tersebut.

Bakteri asam laktat mampu menghasilkan senyawa-senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler sebagai bagian dari metabolisme hidupnya. Senyawa ini sangat penting bagi kesejahteraan umat manusia. Salah satu sumber bakteri ini adalah adalah bunga. Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari bunga karena bunga mengandung nektar yang menjadi sumber energi dan sumber karbon bagi bakteri asam laktat. Meskipun penelitian berkaitan dengan hal ini sudah banyak dilakukan namun penelitian ini masih menjadi potensi besar dalam pengembangan potensi sumberdaya hayati.

Tujuan dari tulisan ini adalah memberikan informasi tentang potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari bunga sebagai penghasil senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler. Selain itu tulisan ini juga akan menguraikan metode sederhana yang dapat diimplementasikan dan dikembangkan sebagai protokol penapisan potensi bakteri asam laktat penghasil senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler.

MATERI DAN METODE

Metode yang digunakan dalam penulisan artikel ini adalah metode studi pustaka. Literatur relevan dikumpulkan dari berbagai database ilmiah seperti Google Scholar, PubMed, Scopus, dan ScienceDirect menggunakan kata kunci terkait. Literatur yang terpilih diklasifikasikan berdasarkan subtopik, seperti karakteristik bakteri asam laktat, metode isolasi dan karakterisasi, aktivitas antibakteri dan enzimatis, serta aplikasi praktis. Literatur dianalisis untuk memahami metode, hasil, dan kesimpulan, serta untuk menemukan pola, keunggulan dan kesenjangan penelitian yang telah dilakukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri asam laktat (BAL)

Bakteri asam laktat (BAL) seringkali berbentuk kokus atau batang, termasuk Gram positif, tidak membentuk spora, tahan terhadap kondisi asam, tidak mempunyai katalase, dan produk akhir dari fermentasi glukosanya berupa asam laktat (Prasirtsak *et al.* 2013; Wang *et al.*, 2021). Selain itu, BAL merupakan salah satu bakteri probiotik yang umum digunakan. Fermentasi asam laktat dapat meningkatkan kualitas nutrisi pangan dan mempertahankan umur simpan bakteri asam laktat (Chavan *et al.*, 2018). Meskipun terdapat lebih dari 60 genera bakteri asam laktat yang berbeda, genera yang paling umum ditemukan dalam fermentasi makanan antara lain adalah *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella* *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*.

Namun, akhir-akhir ini terdapat diskusi mengenai kemungkinan menggabungkan famili Lactobacillaceae dan Leuconostocaceae ke dalam satu famili yang dikenal sebagai Lactobacillaceae. Selain itu, genus *Lactobacillus* dipecah menjadi 25 genera lain setelah klasifikasi ulang (Wang *et al.*, 2021).

Klasifikasi BAL didasarkan pada karakteristik fermentasi glukosa (homofermentatif dan heterofermentatif), morfologi sel, jumlah gula yang dapat dimanfaatkan, kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan, dan karakteristik produksi asam (Ayivi *et al.*, 2020). Berdasarkan produk akhir metabolisme glukosanya, bakteri asam laktat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu: bakteri asam laktat homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat homofermentatif menghasilkan asam laktat saja sebagai produk akhir. Bakteri asam laktat heterofermentatif menghasilkan asam laktat, karbondioksida, dan etanol sebagai produk akhir. Menurut Ayiyi *et al.* (2020), BAL juga dapat diklasifikasikan melalui karakteristik fisiologis, biokimia, dan karakterisasi molekuler. BAL tersedia di alam dalam bentuk susu fermentasi, daging, sayuran, usus manusia dan hewan, tanah, dan air. Perbedaan habitat dan asal usul BAL telah mengubah ekologi BAL. Genera bakteri asam laktat yang penting untuk diketahui, yaitu: *Tetragenococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Oenococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Vagococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* dan *Weissella* (Patrick, 2012).

Bakteri asam laktat dikenal sebagai bakteri baik bagi tubuh manusia. Daya antagonis bakteri asam laktat terhadap mikroba patogen dan sifat fungsional

bakteri asam laktat banyak dimanfaatkan untuk meningkatkan kesehatan. Aktivitas antagonis bakteri asam laktat terhadap mikroba patogen meliputi: kompetisi makanan, produksi asam organik (misalnya asam laktat, asam asetat), produksi metabolit penghambat atau inhibitor seperti hidrogen peroksida dan diasetil, serta produksi senyawa antimikroba seperti bakteriosin (Patrick, 2012).

Bakteri Asam Laktat dan Aktivitas Antibakteri

Supernatan isolat *Lactobacillus spp.* (isolat 1- 6) yang diisolasi dari ketimun fermentasi dan wortel fermentasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli fecalis*, *E. coli* 12079, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypimurium*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter penghambatan pertumbuhan sebesar 20-55 mm (Islam *et al.* 2020). Isolat 1 diisolasi dari ketimun fermentasi mengandung bakteriosin sebesar 40 kDa, isolat 5 diisolasi dari wortel fermentasi mengandung bakteriosin sebesar 30 kDa (Islam *et al.* 2020). *Lactobacillus spp.* (isolat 1 dan isolat 5) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan menghasilkan bakteriosin.

Supernatan isolat bakteri asam laktat (isolat MA3 dan MA4) yang diisolasi dari madu *Apis mellifera* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* dengan diameter hambat sebesar 12,05-12,07 mm (Putri *et al.* 2020).

Kemampuan isolat MA3 dan isolat MA4 untuk menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan kedua isolat tersebut menghasilkan asam organik yang menyebabkan kondisi lingkungan berada pada kondisi asam (Putri *et al.* 2020). *E. coli* lebih sensitif terhadap pH rendah karena kondisi asam dapat merusak membran luar dinding sel bakteri.

Supernatan *Lactobacillus plantarum* (isolat BO1, BO8, BO10, BO16) yang diisolasi dari ikan fermentasi bosou (Malaysia) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dengan diameter hambat sebesar 8,4-13,67 mm (Ilyanie *et al.* 2022). Keempat isolat tersebut sensitif terhadap ampicillin, chloramphenicol, penicillin G, dan tetracycline (Ilyanie *et al.* 2022). Empat isolat (isolat BO1, BO8, BO10, BO16) tersebut resisten dengan nalidixid acid dan streptomycin (Ilyanie *et al.* 2022).

Bakteri asam laktat berhasil diisolasi dari bunga pakan lebah madu hutan yang tumbuh di Kupang (NTT), yaitu *Lactobacillus kunkeei* dan *Lactococcus lactis* (Karyawati *et al.* 2018). Diduga bakteri ini berasal dari bunga yang menjadi sumber makanan lebah madu hutan tersebut. Penelitian terhadap bunga *Rosa rugosa* (Rugosa rose) berhasil memperoleh isolat bakteri asam laktat, antara lain: *Fructobacillus fructosus*, *Lactobacillus kunkeei*, dan *Lactobacillus brevis* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Saleh 2020).

Fraksi n-heksan, kloroform dan etil asetat dari bunga kamboja mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* pada konsentrasi 10% (Rupiniasih *et al.* 2019).

Meskipun telah banyak peneliti yang berhasil menemukan isolat bakteri asam laktat penghasil senyawa antibakteri, pencarian isolat bakteri asam laktat penghasil senyawa antibakteri tetap perlu dilakukan mengingat sifat dari bakteri yang dapat beradaptasi dengan cepat di lingkungan dan dapat mengembangkan sifat resistensi bakteri terhadap senyawa antibakteri. Isolat bakteri tersebut juga masih perlu diuji dengan serangkaian pengujian agar memenuhi syarat untuk dijadikan sebagai probiotik. Pengujian yang dilakukan bagi bakteri asam laktat yang akan dijadikan sebagai probiotik antara lain: uji sensitivitas bakteri, uji ketahanan terhadap kondisi lambung yang memiliki pH asam, uji ketahanan terhadap garam empedu, uji daya melekat bakteri terhadap dinding mukosa usus, dan lain-lain (Karyawati *et al.* 2019). Belum tentu bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan senyawa antibakteri tersebut memenuhi syarat untuk dijadikan sebagai probiotik.

Pencarian Bakteri Asam Laktat Potensial Dari Bunga

Upaya pencarian bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan mengisolasi bakteri asam laktat dari bunga. Bakteri asam laktat terdapat pada bunga karena bunga mengandung nektar.

Nektar mengandung glukosa, fruktosa, sukrosa, asam amino, nektarin, dan lemak (Komosinska-Vassev *et al.* 2015). Bunga merupakan tempat hidup yang baik bagi bakteri asam laktat karena nektar bunga mengandung glukosa sebagai sumber energi dan sumber karbon bagi bakteri asam laktat (Daeschel *et al.* 1987).

Olofsson dan Vasquez (2008) berhasil mengisolasi bakteri asam laktat dari 5 jenis bunga di Jonstrop, daerah beriklim dingin di Swedia. Isolat bakteri asam laktat dari bunga di Jonstrop antara lain: *Lactobacillus kunkeei*, *Lactobacillus spp.*, dan *Bifidobacterium spp.* Bakteri asam laktat juga berhasil diisolasi dari bunga di Tucson, daerah beriklim kering/gersang di Arizona (USA) (Anderson *et al.* 2013). Isolat bakteri tersebut antara lain: *Lactobacillus sp. Firm5*, *Lactobacillus kunkeei*, *Enterococcus sp.*, dan *Weissella sp.*

Salah satu potensi tumbuhan obat yang terdapat di wilayah Kupang yaitu pohon kamboja. Pohon kamboja telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Tanaman kamboja (*Plumeria acutifolia* atau *Plumeria acuminata* atau *Plumeria rubra*) diketahui berkhasiat untuk mengobati kencing nanah, bengkak serta bisul (Ratnasari 2007).

Salah satu sumber bunga potensial adalah Bunga kamboja (*Plumeria alba* L.). Tumbuhan ini dikenal sebagai tanaman hias penghasil nektar dan termasuk jenis tanaman pakan lebah madu (de Lima *et al.* 2019). Lebah madu sering mengunjungi bunga kamboja (Erwan *et al.* 2022). Masyarakat Baduy (Banten) mengumpulkan madu pahit dari lokasi hutan dengan sumber nektar dari bunga

kaliandra, mahoni, sengon, dan kamboja (Pujiarti *et al.* 2021). Besar kemungkinan bakteri asam laktat terdapat pada bunga kamboja yang mengandung nektar dan sering didatangi lebah madu.

Bunga kamboja juga bisa digunakan dalam pengobatan. Peneliti terdahulu telah membuktikan bahwa bunga kamboja memiliki aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol bunga kamboja dapat digunakan dalam pengobatan faringitis yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus pyogenes*, konsentrasi ekstrak minimum yang dapat digunakan yaitu 7,81 mg/mL (Jiwantono *et al.* 2017). Ekstrak etanol bunga kamboja juga dapat digunakan untuk mengobati penyakit disentri yang disebabkan oleh *Escherichia coli*, konsentrasi ekstrak yang dapat digunakan yaitu minimal 5% (Prihardini dan Kristianingsih 2016).

Metode Sederhana Penapisan Potensi Bakteri Asam Laktat Penghasil Senyawa Antibakteri Dan Enzim Ekstraseluler

Mengembangkan metode sederhana untuk melakukan penapisan potensi bakteri asam laktat sebagai penghasil senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler penting untuk meningkatkan aksesibilitas dan efisiensi penelitian. Metode yang tidak terlalu kompleks dan tidak memerlukan peralatan canggih memungkinkan lebih banyak laboratorium, termasuk yang memiliki sumber daya terbatas, untuk terlibat dalam eksplorasi bakteri ini. Proses penapisan yang cepat dan murah juga mendukung skalabilitas penelitian, sehingga lebih banyak sampel dapat diuji

dalam waktu singkat, mempercepat identifikasi bakteri dengan potensi antibakteri dan enzimatik.

Metode sederhana ini bermanfaat bagi industri makanan, kesehatan, dan farmasi untuk melakukan penapisan awal secara in-house sebelum uji lanjut yang lebih kompleks dan mahal. Hal ini membuka peluang kolaborasi lebih luas antara berbagai lembaga penelitian, universitas, dan industri, mempercepat penemuan dan aplikasi praktis dari bakteri asam laktat yang potensial. Identifikasi cepat bakteri ini juga mendukung pengembangan produk berbasis mikroba, meningkatkan keamanan pangan, dan memberikan manfaat kesehatan yang signifikan bagi masyarakat. Berikut akan diuraikan secara singkat contoh metode penelitian potensi bakteri asam laktat sebagai penghasil senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler.

Tahap I. Pengambilan Sampel. Pada tahap ini sampel bunga yang diambil di lapangan dimasukkan dalam wadah steril, lalu ditempatkan dalam *cool box* dan harus segera dibawa ke laboratorium.

Tahap II. Isolasi Bakteri Asam Laktat. Pada tahap ini sampel bunga (misalnya 25 g) dihaluskan dan dicampur dengan 225 mL NaCl fisiologis steril (Rahayu dan Nurwitri 2012). Dibuat serial pengenceran larutan bunga mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-4} , lalu 100 μ L sampel dari setiap serial pengenceran dikultur pada agar MRS yang diberi penambahan 1% CaCO_3 (Karyawati et al. 2019). Kultur bakteri diinkubasi pada jar anaerob dengan *gas pack* pada suhu 37°C selama 48 jam.

Tahap III. Karakterisasi Koloni dan Penentuan Isolat Bakteri Asam Laktat. Koloni yang tumbuh pada cawan petri dihitung jumlahnya dan dilakukan karakterisasi koloni (bentuk, warna, tepi, permukaan dan elevasi). Pemurnian isolat bakteri yang membentuk zona bening dilakukan dengan metode gores kuadran. Penentuan isolat bakteri asam laktat dilakukan dengan uji pewarnaan Gram dan uji katalase (Karyawati *et al.* 2019). Pewarnaan Gram dan uji katalase mengikuti metode yang dilakukan oleh Varghese dan Joy (2014). Isolat yang membentuk zona bening, termasuk Gram positif dan menunjukkan reaksi negatif pada uji katalase dinyatakan sebagai isolat bakteri asam laktat.

Tahap IV. Uji Antibakteri. Pada tahap ini dilakukan uji antibakteri dari supernatan isolat bakteri asam laktat dilaksanakan menggunakan metode difusi agar (Jahangirian *et al.* 2013). Isolat bakteri dikultur dalam MRS cair, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Supernatan isolat bakteri dipisahkan dengan disentrifugasi pada 5000 g selama 15 menit. Sebanyak 100 μ L dari setiap suspensi bakteri uji (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *S. typhymurium* ATCC 14028) diinokulasikan di media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Lubang dengan diameter 6 mm dibuat di atas MHA menggunakan pipet tips steril, lalu 50 μ L supernatan dimasukkan kedalam lubang dan dibiarkan selama 30 menit. Selanjutnya kultur bakteri diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat diukur dalam milimeter.

Selain itu dilakukan uji antagonis isolat bakteri terhadap bakteri uji dilakukan dengan metode Kirby-Bauer (Dewi *et al.* 2019; Situmeang *et al.* 2017). Suspensi bakteri uji dengan kekeruhan setara Mc Farland 0,5 diinokulasi di atas permukaan media MHA. Cakram kertas kosong (Oxoid) diletakkan di atas permukaan media MHA yang sudah diinokulasi bakteri uji, lalu diteteskan 10 µL suspensi isolat bakteri, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

Tahap V. Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler. Uji hidrolisis pati, lipid, dan kasein dilakukan terhadap isolat bakteri mengikuti metode Sunatmo (2009). Isolat bakteri diinokulasi pada medium MRS agar yang sudah disuplemen dengan pati/trigliserida tributirin/kasein sebanyak 1% dengan metode titik (*dot method*), lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri menunjukkan terdapatnya aktivitas enzim ekstraseluler.

Tahap VI. Identifikasi Molekuler. Pada tahap ini isolat bakteri dikultur pada media MRS cair, kemudian diinkubasi pada kondisi anaerob dengan suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya 500 µL kultur bakteri disentrifugasi pada kecepatan 16.000 g selama 15 menit sehingga diperoleh sel bakteri. Ekstraksi DNA bakteri dilakukan dengan *Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit* (Geneaid, Taiwan) sesuai prosedur yang terdapat pada kit. Amplifikasi Gen 16S rRNA dilaksanakan dengan PCR menggunakan primer universal 27F dan primer 1492R (dos Santos *et al.* 2019).

DNA hasil PCR dielektroforesis pada gel agarosa, kemudian divisualisasikan pada UV transluminator. Kemurnian DNA hasil PCR dites menggunakan *Nanodrop 2000 Spectrophotometer* (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA). DNA murni dikirim ke *1st Base DNA Sequencing Division* (Malaysia) untuk disequensing. Sekuen gen 16S rRNA disejajarkan dan dibandingkan dengan sekuen gen yang terdapat di *Gene Bank* menggunakan software NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Hasil sequensing DNA dianalisis menggunakan software MEGA 7.0 (Kumar *et al.* 2016). Pohon filogenetik dibuat menggunakan metode *Neighbour Joining* dengan bootstrap 1000x.

PENUTUP

Simpulan

Bakteri asam laktat (BAL) dapat diisolasi dari bunga dan berpotensi menghasilkan senyawa antibakteri dan enzim ekstraseluler yang bermanfaat bagi kesehatan manusia dan industri. Mengembangkan metode sederhana untuk menapis potensi BAL penting untuk meningkatkan aksesibilitas dan efisiensi penelitian. Protokol yang meliputi pengambilan sampel, isolasi, karakterisasi, dan penentuan isolat memungkinkan laboratorium dengan sumber daya terbatas untuk terlibat dalam eksplorasi BAL, mempercepat identifikasi bakteri potensial, dan mendukung kolaborasi luas serta aplikasi praktis dalam industri makanan, kesehatan, dan farmasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini merupakan bagian dari hasil penelitian yang dibiayai Hibah Penelitian DIPA UNDANA tahun Anggaran 2024 yang berjudul “Potensi Bakteri Asam Laktat Dari Bunga Kamboja (*Plumeria alba* L.) Di Kupang Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Dan Enzim Ekstraseluler”. Ucapan Terima kasih disampaikan kepada Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat UNDANA dan Dekan FST UNDANA.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson KE, Sheehan TH, Mott BM, Maes P, Snyder L, Schwan MR, Walton A, Jones BM, Corby-Harris V. (2013). Microbial ecology of the hive and pollination landscape: bacterial associates from floral nectar, the alimentary tract and stored food of honey bees (*Apis mellifera*). *PlosOne* 8(12):e83125.
- Apriadi WH. (2008). Resep Sehat Alami Wied Harry di TV. Gramedia. Jakarta
- Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., ... & Ibrahim, S. A. (2020). Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy*, 1(3), 202-232.
- Chavan, M., Gat, Y., Harmalkar, M., & Waghmare, R. (2018). Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume. *LWT*, 91, 339-344.
- Daeschel MA, Anderson RE, Fleming HP. (1987). Microbial ecology of fermenting plant materials. *FEMS Microbiol Rev* 46:357-367.
- De Lima D, Lamerlabel JSA, Welerubun I. (2019). Inventarisasi Jenis-jenis Tanaman Penghasil Nektar dan Polen sebagai Pakan Lebah Madu *Apis mellifera* Di Kecamatan Kairatu Kabupaten Seram Bagian Barat. *Agrinimal* 7(2):77-82.
- Dewi LF, Sartini, Rahmiati. (2019). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Sapi (*Bos taurus*) serta Kemampuannya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella* sp. *JIBIOMA* 1(1): 21-27.
- Dos Santos HRM, Argolo CS, Argolo-Filho RC, Loguercio LL. (2019). A 16S rDNA PCR-based theoretical to actual delta approach on culturable mock communities revealed severe losses of diversity information. *BMC Microbiology* 19(74):1-14.
- Erwan, Purnamasari DK, Resti R, Muhsinin M. (2022). Identifikasi Jenis Tanaman Pakan Lebah Madu sebagai Sumber Nektar dan Polen. *Jurnal Triton* 13(2):206-220.
- Ilyanie HY, Huda-Faujjan N, Ida Muryany MY, Zuraida J. (2022). Isolation and characterization of probiotic lactic acid bacteria from Malaysian fermented fish products *budu* and *bosou*. *International Food Research Journal* 29(2):338-348.

- Islam R, Hossain Md N, Alam Md Kh, Uddin Md E, Rony MH, Imran Md AS, Alam Md F. (2020). Antibacterial activity of lactic acid bacteria and extraction of bacteriocin protein. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 11:49-59.
- Jahangirian H, Haron MDJ, Ismail MHS, Rafiee-Moghaddam R, Afsah-Hejri R, Abdollahi Y, Rezayi M, Vafaei N. (2013). Well diffusion method for evaluation of antibacterial activity of copper phenyl fatty hydroxamate synthesized from canola and palm kernel oils. *Digest J Nanomat Biostruc* 8(3):1263-1270.
- Jiwantono F, Purwanto M, Setiawati Y. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Bunga Kamboja (*Plumeria alba*) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* 17(3):147-151.
- Karyawati AT, Meryandini A, Nuraida L, Lestari Y. (2018). Characterization of Abundance and Diversity of Lactic Acid Bacteria from *Apis dorsata* Hives and Flowers in East Nusa Tenggara, Indonesia. *BIODIVERSITAS* 19(3):899-905.
- Karyawati AT, Meryandini A, Nuraida L, Lestari Y. (2019). Potensi Bakteri Asam Laktat dari Sarang Lebah Madu Hutan (*Apis dorsata*) di Kupang sebagai Kandidat Probiotik dan Penghasil Inhibitor *Angiotensin Converting Enzyme* [Disertasi]. Bogor (ID): IPB.
- Komosinska-Vassev K, Olczyk P, Kaźmierczak J, Mencner L, Olczyk K. (2015). Bee pollen: Chemical composition and therapeutic application. *Evidence Based Complem Altern Med* 2015:1-7.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol* 33(7):1870-1874.
- Olofsson TC, Vasquez A. (2008). Detection and identification of a novel lactic acid bacterial flora within the honey stomach of the honeybee *Apis mellifera*. *Curr Microbiol* 57:356-363.
- Patrick OM. (2012). Lactic acid bacteria in health and disease. *Rwanda J Health Sci* 1(1):39- 50.
- Prasirtsak B, Tanasupawat S, Boonsombat R, Kodama K, Thongchul N. (2013). Characterization of lactic acid producing bacteria from Thai sources. *J App Pharm Sci* 3(01):033-038.
- Prihardini dan Kristianingsih I. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol Bunga Kamboja Putih (*Plumeria acuminata* L.) terhadap *Escherichia coli*. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia ke-50, Samarinda, 20-21 April 2016.

- Pujiarti R, Amin A, Ngadianto A, Septiana RM, Purba BAV, Permadi DB. (2021). Kualitas Tiga Jenis Madu Hitam Suku Baduy Kabupaten Lebak, Provinsi Banten. *Jurnal Ilmu Kehutanan* 15(2):123-136.
- Putri I, Jannah SN, Purwantisari S. (2020). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from *Apis mellifera* and their potential as antibacterial using in vitro test against growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *NICHE Journal of Tropical Biology* 3(1):26-34.
- Rahayu WP, Nurwitri CC. (2012). *Mikrobiologi Pangan: Dasar Analisis Mikrobiologi pada Pangan*. IPB Pr. Bogor
- Ratnasari J. (2007). Galeri Tanaman Bunga Hias. Penebar Swadaya. Depok
- Rupiniasih NN, Indriani, Syamsuddin, Razak AR. (2019). Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Kloroform, Etil Asetat Bunga Kamboja (*Plumeria alba*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *KOVALEN* 5(2):173-181.
- Saleh GM. (2020). Isolation and characterization of unique proctophylic lactic acid bacteria from different flower sources. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences* 51(2):508-518.
- Situmeang SMF, Musthari, Selamat Riadi. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yogurt dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Biosains* 3(3):144-152.
- Sunatmo TI. (2009). *Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium*. Ardy. Jakarta
- Varghese N, Joy PP. (2014). *Manual Microbiology*. India: Karala Agricultural University. pp. 33-75.
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., ... & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 612285.