

**Identifikasi Fenotipik dan Genotipik Bakteri Asam Laktat asal
Fermentasi Spontan Pisang var. Agung Semeru
(*Musa paradisiaca formatypica*)**

***Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of unripe var. agung semeru banana
(*Musa paradisiaca formatypica*)***

Nurhayati¹⁾, Betty Sri Laksmi Jenie²⁾, Harsi D. Kusumaningrum²⁾, Sri Widowati²⁾

¹⁾Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

²⁾Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

³⁾Peneliti Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Departemen Pertanian

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) can be found on food products such as milk and meat products, cerealia, cassava, fruits or vegetable products. The objectives of this research were to identify phenotypic and genotypic of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of unripe var agung semeru banana (*Musa paradisiaca formatypica*). Phenotypic identification was based on general morphology, physiological test, API and Biolog system. Genotypic identification used polymerase chain reaction (PCR) method and analyses of 16S rRNA sequence. The result showed that two groups of LAB (FSnh 1 and FSnh A isolate) can use glicerol, D-ribose, D-xylose, D-glucose, D-fructose, D-mannose, methyl α D-glucopyranoside, N-acetyl glucosamine, esculin ferric citrate, salicin, D-cellobiose, D-saccharose, gentibiose and potassium gluconate as carbon source. Beside that FSnh 1 isolate used D-galactose, L-sorbose, L-rhamnose, and amygdalin, while FSnh A isolate used metil αD-glukopiranosa, arbutin, D-maltose, D-lactose, D-trehalose, D-turanose, and potassium 5-ketogluconate as carbon source. The genotypic identification showed that *Lactobacillus* sp associated with the spontaneous fermentation of var agung semeru banana were identified as *Lactobacillus salivarus* and *Lactobacillus fructivorans*.

Keyword: *Musa paradisiaca formatypica*, phenotypic-genotypic identification, *Lactobacillus salivarus*, *Lactobacillus fructivorans*

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif, katalase negatif yang dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi karbohidrat. BAL yang menghasilkan dua molekul asam laktat dari fermentasi glukosa disebut bakteri asam laktat homofermentatif, sedangkan BAL yang menghasilkan satu molekul asam laktat dan satu molekul etanol serta satu molekul karbon dioksida disebut bakteri asam laktat heterofermentatif (Reddy et al. 2008).

Bakteri asam laktat dapat ditemukan baik pada produk hewani seperti daging (Arief et al. 2011), sosis (Ammor et al. 2005), susu (Sujaya et al. 2008) maupun nabati seperti gandum, beras, singkong (Reddy et al. 2008), limbah kedelai (Malik et al. 2008), asinan buah dan sayur (Kusumawaty et al. 2003), minuman serta buah (Plessis et al. 2004). BAL tertentu seperti *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum*,

L. manihotivorans, *L. amylophilus*, *L. amylovorus*, *L. amilolyticus*, *Leuconostoc cellobiosus*, *L. Acidophilus*, *Leuconostoc* sp, *Streptococcus bovis* dan *S. macedonicus* telah dilaporkan memiliki sifat amilolitik yaitu mampu menghasilkan enzim amilase untuk mendegradasi pati (Reddy et al. 2008).

Identifikasi bakteri asam laktat dapat dilakukan berdasarkan sifat fenotipik dan genotipik. Identifikasi fenotipik didasarkan pada hasil pengamatan morfologi koloni, pengamatan mikroskopis (pewarnaan Gram), uji fisiologis, metabolik (biokimia) atau kemotaksonomi. Identifikasi genotipik dilakukan dengan menggunakan metode molekuler antara lain melalui sekruensing gen pengkode 16S rRNA bakteri dengan metode Polymerase Chain Reactions (PCR)-sekruensing (Ammor et al. 2005).

Penggunaan kultur starter *indigenous* (lokal) dari produk aslinya akan memudahkan dalam mengendalikan proses fermentasi serta

memberikan hasil fermentasi yang lebih baik dan sesuai dengan karakteristik produk yang diinginkan. Fermentasi urutan (osis khas Bali) menggunakan starter dari *Lactobacillus plantarum* dan *Pediococcus acidilactici* yang diisolasi dari urutan tradisional (fermentasi spontan) mampu menghasilkan karakteristik sosis yang baik daripada urutan dari fermentasi spontan (Antara *et al.* 2002; Antara 2010).

Oleh karena itu isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat strain lokal (*indigenous strains*) sangat penting dilakukan untuk mengembangkan produk pangan lokal. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi fenotipik dan genotipik bakteri asam laktat amilolitik yang diisolasi dari fermentasi spontan pisang var agung semeru (*Musa paradisiaca formatypica*). Pisang var agung semeru merupakan jenis pisang *plantain* yang banyak dibudidayakan di Kabupaten Lumajang Propinsi Jawa Timur dengan tingkat produksi dapat mencapai lebih dari 57 ribu ton per tahun (RPJMD Lumajang, 2009).

METODE

Isolasi bakteri asam laktat

Pisang var agung semeru (*Musa paradisiaca formatypica*) diperoleh dari Desa Burno dan Desa Kandang Tepus Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang Propinsi Jawa Timur. Pisang yang digunakan berumur 126 hari dari awal pembungaan yang memiliki tingkat kematangan tahap 1 yaitu pisang tua dengan kulit hijau merata.

Pisang dikupas dan diiris membentuk lembaran dengan ketebalan sekitar 5mm. Sebanyak 750g irisan pisang dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 1000ml akuades steril dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Selanjutnya 10 ml air rendaman diambil dan dilakukan pengenceran hingga 10^{-3} kemudian dilakukan pemupukan pada media *de Mann Rogosa Sharp* (MRS) agar dan diinkubasi pada suhu 30°C selama dua hari. Koloni tunggal dimurnikan dengan goresan kuadran selanjutnya diseleksi berdasarkan bentuk koloni, sifat Gram positif, katalase negatif, dan bentuk morfologi kokus atau batang. Isolat diinokulasikan dalam media MRS cair dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolat disimpan dalam sedian gliserol (30% v/v) pada suhu -20°C.

Identifikasi fenotipik menggunakan API 50CH (API-Biomerieux)

Isolat diinokulasikan pada media MRS agar metode gores dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Dipersiapkan kultur dengan mengambil isolat dan dimasukkan ke dalam 10 ml medium suspensi API (*Analytical Profile Index*). Lubang pada tatakan

plastik diberi akuades steril ($\pm 1\text{ml}$), selanjutnya 1ml kultur diteteskan pada 50 microtube API 50CHL yang berisi karbohidrat uji, dan pada bagian atas ditutup dengan 1ml parafin cair steril. Kit API 50CHL diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Terjadinya perubahan warna dari biru menjadi hijau hingga kuning atau hitam dinyatakan sebagai uji positif.

Identifikasi genotipik menggunakan PCR dan analisis urutan DNA pengkode 16S rRNA

Identifikasi genotipik dilakukan dengan mengekstrak DNA pengkode 16S rRNA yang selanjutnya diamplifikasi dan dilakukan sekruensing. Ekstraksi DNA genomik mengikuti metode modifikasi Murray dan Thompson yaitu menggunakan *Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide* (CTAB). Sebanyak 1.5 ml kultur dalam tabung eppendorf disentrifus (5000 rpm, 7 menit) dan supernatan dibuang sedangkan pelet ditambah 1ml akuabides steril selanjutnya disentrifus lagi. Pelet ditambah 600 μl buffer CTAB (1.5% CTAB, 75 mM Tris HCL, pH 8.0, 15 mM EDTA, 1.05M NaCl) yang mengandung polivinilpirolidon 2% dan dicampur hingga merata kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 30 menit. Inkubasi dilanjutkan dalam balok es selama 5 menit yang kemudian ditambah 600 μl PCI (fenol-klorofom-isoamil) dan dibolak balik serta disentrifus (10.000 rpm, suhu ruang, 10 menit). Supernatan ditambah 600 μl PCI (fenol-klorofom-isoamil) dan dibolak balik selanjutnya disentrifus lagi (10.000 rpm, suhu ruang, 10 menit). Supernatan diambil dan ditambah 2M Na-asetat pH 5.2 (0.1 x volume) dan etanol murni (2 x volume) kemudian disimpan dalam freezer selama 2 jam. Selanjutnya larutan tersebut disentrifus (10.000 rpm, 4°C, 20 menit). Pelet dibilas dengan etanol 70% (500 μl) dan disentrifus (10.000 rpm, 4°C, 5 menit). Supernatan dibuang dan pelet dikeringkan dengan pengering vakum 37 – 40°C selama 15 menit. Ekstrak DNA ditambah 15 μl akuabides dan 6 μl RNAase (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) serta dipanaskan pada suhu 70°C selama 10 menit. Visualisasi DNA dilakukan pada gel agarosa (1,5%) dalam larutan TAE (Tris Asetat EDTA) 1 X. Pita-pita DNA diamati di bawah UV transilluminator GelDoc (Labquip) dan difoto dengan kamera UV Canon 1200 (Suharsono dan Widayastuti, 2008).

Amplifikasi DNA pengkode 16S rRNA dengan PCR (Polymerase Chain Reaction)

Reaksi amplifikasi sampel DNA dilakukan dalam 0.2 ml tabung PCR. Pada setiap tabung reaksi PCR ditambahkan RBC Taq (5 unit/ml) sebanyak 0.25 μl , 10 x buffer *Taq* (mengandung Mg²⁺) sebanyak 5 μl , dNTP 2.5mM sebanyak 4 μl , primer universal 63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') dan primer universal 1387R (5'-GGCGGGWGTGTACAAGGC-3') sebanyak masing-masing 1.25 μl (20 pmol) dan 1.25 μl (20 pmol), ekstrak genom sebanyak 2.5 μl (100 ng) dan ditambah ddH₂O sampai volume menjadi 50 μl .

Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan alat PCR PTC 100 (MJ Research, Inc) pada suhu denaturasi awal 95°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 30 siklus penempelan primer pada suhu 94°C selama 30 detik dan perpanjangan pada suhu 50°C selama 1 menit, 72°C selama 2 menit, dan tahap akhir 72°C selama 5 menit. Produk PCR diambil dan disimpan pada suhu 4°C untuk selanjutnya diperiksa dengan menggunakan elektroforesis agarosa 1% dalam TAE 1x, 100 V selama 30 menit (Sambrook & Russel 2001, Suharsono & Widayastuti 2008).

Analisis urutan DNA pengkode 16S rRNA

Sekuensi DNA pengkode 16S rRNA dilakukan oleh *1st Base* melalui PT. Genetika Indonesia. Analisis hasil sekuening dilakukan dengan memBLAST urutan nukleotida dari hasil sekuening 16S rRNA dengan *data base* yang tersedia pada situs www.ncbi.nlm.nih.gov. Pensejajaran ganda (*multiple alignment*) dilakukan dengan menggunakan Program Clustal W. Selanjutnya visualisasi kekerabatan menggunakan pohon filogenetik kombinasi Program TREEVIEW X dengan *Neighbor-Joining* plot (Thompson *et al.* 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Fenotipik Bakteri Asam Laktat Sebanyak 12 isolat bakteri asam laktat diisolasi dari fermentasi spontan pisang var agung semeru. Selanjutnya isolat tersebut dikarakterisasi morfologi sel dan koloninya. Karakteristik morfologi kedua belas isolat seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Beberapa isolat memiliki kesamaan morfologi sehingga dikelompokkan menjadi dua kelompok yang selanjutnya akan diidentifikasi dengan menggunakan kit API 50CHL untuk mengetahui pola fermentasinya. Kelompok I terdiri atas 10 isolat (FSnh 1 – 10) yang diwakili oleh isolat FSnh 1 dengan karakteristik sel bentuk batang pendek, koloni bulat sedang, berwarna putih susu dengan elevasi cembung, tidak membentuk gas dan dapat tumbuh pada suhu 15°C dan 45°C serta tumbuh optimal pada suhu 35°C. Kelompok II terdiri atas 2 isolat (FSnh A dan B) yang diwakili oleh isolat FSnh A dengan karakteristik sel bentuk batang pendek, koloni bulat kecil berwarna putih bening dengan elevasi seperti tetesan, membentuk gas dan tumbuh optimal pada suhu 35°C dan 45°C tetapi tidak tumbuh optimal pada suhu 15°C. Kedua isolat BAL tersebut mampu memfermentasi gula tertentu sebagai sumber

karbon. Pola fermentasi yang dihasilkan oleh isolat kelompok I (FSnh 1) dan isolat kelompok II (FSnh A) dapat dilihat pada Tabel 2. Uji fermentasi pada kit API 50CHL menunjukkan bahwa kedua isolat mampu memfermentasi D-ribosa, D-xilosa, D-glukosa, D-fruktosa, D-manosa, N-asetil glukosamin, eskulin feni sitrat, salisin, D-seliobiosa, D-maltosa, D-sukrosa, gentiobiosa. Selain itu isolat BAL FSnh1 juga mampu memfermentasi D-galaktosa, amygdalin dan kalium glukonat, sedangkan isolat BAL FSnhA juga mampu memfermentasi metil αD-glukopiranosa, arbutin, D-laktosa, D-trehalosa, D-turanosa, dan kalium 5-ketoglukonat sebagai sumber karbon. Adanya perbedaan kemampuan memfermentasi sumber karbon tertentu pada kedua isolat BAL yaitu D-galaktosa, amygdalin, kalium glukonat, metil αD-glukopiranosa, arbutin, D-laktosa, D-trehalosa, D-turanosa, dan kalium 5-ketoglukonat menunjukkan fenotipik biokimiawi kedua isolat tersebut juga berbeda. Sifat biokimiawi yang berbeda mengindikasikan genotipik yang berbeda. Hasil identifikasi API 50CHL menunjukkan isolat FSnh 1 memiliki kedekatan 98,3% dengan Weissella confusa sedangkan FSnh A memiliki kedekatan 74,0% dengan Leuconostoc mesenteroides. Tamang *et al.* (2008) melaporkan bahwa identifikasi dengan menggunakan API 50CHL dan karakteristik biologi kurang dapat memperjelas hasil identifikasi di tingkat strain. Oleh karena itu perlu dilakukan identifikasi genotipik berdasarkan sekuen DNA pengkode 16S rRNA.

Karakterisasi genotipik bakteri asam laktat

Karakterisasi genotipik isolat bakteri asam laktat dilakukan berdasarkan DNA pengkode gen 16S rRNA untuk menentukan genus dan strainnya. DNA pengkode 16S rRNA dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk definisi spesies karena molekul ini ada pada setiap organisme dengan fungsi yang identik pada seluruh organisme. Oleh karena itu dapat dirancang suatu primer yang universal untuk seluruh kelompok (Pangastuti 2006). Data urutan basa gen penyandi 16S rRNA memungkinkan digunakan untuk mengkonstruksi pohon filogenetik yang dapat menunjukkan nenek moyang dan hubungan kekerabatan suatu organisme (Ward 1998).

Tabel 1. Karakteristik bakteri asam laktat yang diisolasi dari fermentasi spontan pisang var agung semeru.

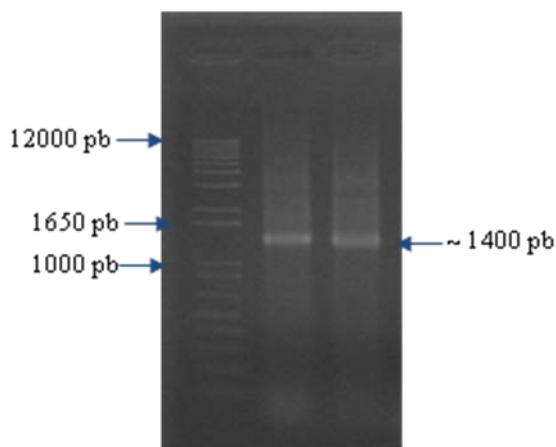
No	Isolat BAL	Karakteristik							
		Gram	Gas	Katalase	Bentuk Sel	Tipikal koloni	Suhu Pertumbuhan	15°C	35°C
1	FS nh 1	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung.	++	+++	++
2	FS nh A	+	+	+	Batang pendek	Bulat kecil berwarna putih bening dengan elevasi seperti tetesan	-	+++	++
3	FS nh 2	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
4	FS nh 3	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
5	FS nh 4	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
6	FS nh 5	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
7	FS nh 6	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
8	FS nh 7	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
9	FS nh 8	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
1	FS nh B	+	+	+	Batang pendek	Bulat kecil berwarna putih bening dengan elevasi seperti tetesan	-	+++	++
0								+	
1	FS nh 9	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
1	FS nh 10	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
2									

DNA dari isolat BAL FSnh 1 dan FSnh A diamplifikasi dengan menggunakan primer 63F dan 1387R. Berdasarkan marker pita DNA yang digunakan mendekati 1500 pasang basa. Hal ini relevan dengan produk PCR yang dihasilkan yaitu sekitar 1400 pasang basa (Gambar 1). Analisis hasil sekensing diawali dengan melakukan pensejajaran (alignment) urutan basa DNA pengkode 16S rRNA pada kedua isolat BAL dari sekuen forward (F) dan sekuen reverse (R) dengan menggunakan program bioedit CAP contig assembly program. Sekeun parsial DNA pengkode 16S rRNA disejajarkan dengan sekuen lengkap

Genbank DNA pengkode 16S rRNA dari beberapa genus bakteri asam laktat dengan menggunakan program perangkat lunak Clustal W (Thompson *et al.* 1995). Hasil pensejajaran sekuen DNA pengkode 16S rRNA menunjukkan isolat BAL FSnh 1 dan FSnhA merupakan family Lactobacillaceae (Gambar 2). Hasil Program Clustal W menunjukkan skor kedekatan kedua isolat tersebut adalah 75 terhadap genus Lactobacillus. Skor kedekatan kedua isolat tersebut terhadap genus Weissella adalah yang paling rendah yaitu sebesar 41 untuk isolat BAL FSnh 1 dan 39 untuk isolat BAL FSnh A.

Tabel 2. Pola fermentasi isolat bakteri asam laktat FSnh 1 dan isolat bakteri asam laktat FSnh A pada Kit API 50CHL.

Sumber Karbon	Kemampuan Memfermentasi	
	Isolat BAL FSnh1	Isolat BAL FSnh A
D-ribosa	+	+
D-xilosa	+	+
D-galaktosa	+	-
D-glukosa	+	+
D-fruktosa	+	+
D-mannosa	+	+
Metil α D-glukopiranosa	-	+
N-asetil glukosamin	+	+
<i>Amygdalin</i>	+	-
Arbutin	-	+
Eskulin feri sitrar	+	+
Salisin	+	+
D-seliobiosa	+	+
D-maltosa	+	+
D-laktosa	-	+
D-sukrosa	+	+
D-trehalosa	-	+
Gentiobiosa	+	+
D-turanosa	-	+
Kalium glukonat	+	-
Kalium 5-ketoglukonat	-	+



Gambar 1. Hasil elektroforesis agarosa 1% dan amplifikasi gen 16S rRNA dengan PCR M = marka DNA 1kb DNA ladder. a = BAL FSnh1; b = BAL FSnhA.

Komposisi nukleotida penyusun DNA pengkode 16S rRNA setiap isolat BAL berbeda sehingga dilakukan analisis kekerabatan menggunakan program BLAST-N (Basic Local Alignment Search Tool-Nucleotida) yang dapat diakses secara online dari website NCBI. Berdasarkan analisis program BLAST-N maka diketahui homologi spesies dari isolat yang diuji seperti yang disajikan Tabel 3. Isolat BAL

FSnh 1 memiliki kemiripan dengan *Lactobacillus delbruekci* subsp. *bulgaricus* NDO2 (81%), *L. amylovorus* GRL 1112 (80%) dan *L. iners* (80%) yang masing-masing memiliki query coverage di atas 80%. Isolat BAL FSnh A memiliki kemiripan 81% dengan *Lactobacillus iners* dan *L. delbruekci* subsp. *bulgaricus*, serta 80% dengan *Leuconostoc mesenteroides* subsp *cremoris* ATCC 19254.

FSnh1.	-----	CGGGGG---GTAAGGAAAGAGCTTGCTTCTTTG	31
FSnhA.	-----	GGGGG---GCCGGGAAAGAGCTTGCTTCTCC-	28
Granulicatella	-----	GACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGC	31
Carnobacterium	-----	GAGTTG--ATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCATGCCTAATACATGC	50
Abiotrophia	-----	AGAGTTG--ATCATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCATGCCTAATACATGC	51
Eremococcus	-----	TGGCGCGTGCNTAATACATGC	22
Aerococcus	TTTCATGAGAGTTG--ATCCTGGCTCAGGACNAACGCTGGCGCATGCCTAATACATGC	58	
Enterococcus	-----	GGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGC	38
Pediococcus	--TTATAGAAGTTGGATCCCTTGTCTCAGGATGACGACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGC	57	
Streptococcus	-----	TTTTTGATTTG--ATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGC	54
Lactococcus	-----	TAGAGTTG--ATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGC	52
Lactobacillus	-----	AGAGTTG--ATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGC	51
Leuconostoc	-----		
Fructobacillus	-----	GGCGCGTGCCTAATACATGC	21
Oenococcus	-----	TACATG--CAAGTCGTACGCTAGCCGCTGAATTGATCCTT--	38
Weissella	-----	TTGTACACAC	10
FSnh1.	CTGACGAG		39
FSnhA.	CTGACGAG		36
Granulicatella	AACTCGAACGAGAG	CGACCGGTGCTTGCACTGGTC-----	66
Carnobacterium	AACTCGAACGCTTGAC	TTCACCGGGTGCTTGCACCCACCGA-----	92
Abiotrophia	AACTCGAACGACCACG	GACTAGGTGCTTGCACTTGGTCA-----	90
Eremococcus	AACTCGAACGCACT	GACGGAGAACTTGTCTC--TTA-----	57
Aerococcus	AACTCGAGCGAACAA	GATGAAGTGTGACTT--CTG-----	93
Enterococcus	AACTCGTAGCTTCTTT	TTCACCGGGAGCTTGCACCCACCGA-----	80
Pediococcus	AACTCGAACGAACTCCGTTAATTGATTATGACGCTTGCACTGAATGAGATTAAACA	117	
Streptococcus	AACTAGAACGCTGA	AGCTTGGTCTTGCACCGAGCGG-----	91
Lactococcus	AAAGTTGAGCGCTGA	AGTTGGTACTTGTACCAACTGG-----	89
Lactobacillus	AACTCGAGCGAGCTG	AATTCAAAGATCCCTCGGGGTGATTGTTG--	97
Leuconostoc	-----		
Fructobacillus	AACTCGTACGAAACAG	CGGAAAGTGTGCACTTTCAA-----	59
Oenococcus	-----	AAGTGAG-GCAATGACTAG-----	62
Weissella	CGCCCGTCA		19
FSnh1.	-----	TGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGG	86
FSnhA.	-----	TGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGG	83
Granulicatella	--ATCTAG--TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGTAACCTGCCATCAGAGGGGGA	121	
Carnobacterium	--AGTCAAGGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGTAACCTGCCATAAGAGGGGGA	150	
Abiotrophia	--AGGTGAG--TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGTAACCTACCTTACAGTGGGGGA	145	
Eremococcus	--ACGTGAG--TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGAACCTACCTTGAGCGGGGGA	112	
Aerococcus	--ACGTTAG--CGCGAACGGGTGAGTAACACGTAAGGAATCTACCTATAAGCGGGGGA	148	
Enterococcus	--AAAAGAAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGTAACCTGCCATCAGAAGGGGGA	138	
Pediococcus	CGAAGTGAG--TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGTAACCTGCCAGAACGAGGGGGA	174	
Streptococcus	----ATGAG--TTGCGAACGGGTGAGTAACCGCTAGGTAAACCTGCTGTAGCGGGGGA	144	
Lactococcus	----ATGAG--CAGCGAACGGGTGAGTAACCGCTGGGAATCTGCCCTTGAGCGGGGGA	142	
Lactobacillus	-GACGCTAG--CGCGGATGGGTGAGTAACACGTGGCAATCTGCCCTAAAGACTGG-A	152	
Leuconostoc	-----AGTAACACGTGGATAACCTGCCCTAAGGCTGGGA	35	
Fructobacillus	----GTAAG--TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGAATAACCTACCGCAAAGTCTGGGA	112	
Oenococcus	----AG--TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTAAAGAACCTGCCCTTAGTGGGGGA	112	
Weissella	-----CACCAGAGAGTTGTAACAC-----CCAAAGCCG--GTGGGTA	57	
FSnh1.	-----	: * * * . . . : * * * * * * *	
FSnhA.	-----	TAACACTGGAAACGGTAGCT-AATACCGCATAACCGTG-CAACGACCAAAGAGGGGACC	144
Granulicatella	TAACACTGGAAACGGTAGCTTAATACCGCATAACCGTGCACAGACCAAAGAGGGGACC	143	
Carnobacterium	TAACATCCGAAACGGATGCT-AAAACCGCATAAGGTCTTGCACCGCATGGTTGAAGAG	180	
Abiotrophia	TAACATCCGAAACGGATGCT-AATACCGCATATTCTCAATTGTCTCTGACAGATGGAA	209	
Eremococcus	TAACAGTCGAAACGACTGCT-AATACCGCATAGGACATGGNATCACATGATTCACTGAG	204	
Aerococcus	TAACGGTCGAAACGATCGCT-AATACCGCATAACAGCAATCATGCCATGGTTGATT	171	
Enterococcus	TAACATTCGGAAACGGGTGCT-AATACCGCATAATATCTTCTTCCGATGGAAGAAGATT	207	
Pediococcus	TAACACTTGGAAACAGGTGCT-AATACCGTATAAACATGAAACCCGATGGTTTCTTTT	197	
Streptococcus	TAACACCTGGAAACAGATGCT-AATACCGTATAACAGAGAAAACCGCTGGTTTCTTTT	233	
Lactococcus	TAACTATTGGAAACGATGCT-AATACCGCATAAGAGTAGATGTTGCACTGACATTACTT	203	
Lactobacillus	CAACATTGGAAACGAATGCT-AATACCGCATAAAAACCTTAAACACAAGTTTAAGTTT	201	
Leuconostoc	TACCACTTGGAAACAGGTGCT-AATACCGGATAACAACATGAATCGCATGATTCAAGTT	211	
Fructobacillus	TAACATTGGAAACAGATGCT-AATACCGAATAAAACCTAGTATCGCATGATATCAAGTT	94	
Oenococcus	TAACCATTGGAAACAGTGAECT-AATACCGGATAAAAACCAAGTGCACATGCACTAAGGTT	171	
Weissella	TAACATTGGAAACAGATGCT-AATACCGCGTAACACAAATCACACATGTGATCTGTT	171	
	ACCTTTAGGAGCCAGCGCTAAGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAG-----TCGTAA	112	

---dilanjutkan pada halaman berikutnya

FSnh1.	TTCGG--GCCTCTT----GCCAT-CGGAT-GTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGG	196
FSnhA.	TTCGG--GCCTCTT----GCCATT CGGATT GTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGG	197
Granulicatella	GAAAAGAGGC GCGAAGCTCTGCTGATGGATGGACCCCGGGTGCATTAGCTAGTTGGT GAG	240
Carnobacterium	AAAAGGTGCGCTTCGCTTACCGCTTATGGATGGACCCCGGGTGTAGCTAGTTGGT GAG	269
Abiotrophia	GAAAGGTGGCGCAAGCTATCGCTAACAGATGGACCCCGGGTGCATTAGCTAGTTGGT GAG	264
Eremococcus	GAAAAGATGGCTCTG-CTATCACTAACAGATGGGCCCGGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAG	230
Aerococcus	GAAAGACGGCTCTG-CTGTCACTTATAGATGACCTTGGGTGCATTAGCTAGTTGGT GGG	266
Enterococcus	GAAAGGCGCTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGACCCCGGGTGCATTAGCTAGTTGGT GAG	257
Pediococcus	AAAAGATGGCTCTG-CTATCACTTCTGGATGGACCCCGGGC G CATTAGCTAGTTGGT GAG	292
Streptococcus	AAAAGGTGAATTG--CATCACTAACAGATGGACCTGGCTTGATTAGCTAGTTGGT GAG	261
Lactococcus	GAAAGATGCAATTG--CATCACTAACAGATGATCCC CGGGTGTAGCTAGTTGGT GAG	259
Lactobacillus	GAAAGGCGCGTAAGCTGCTACCTT TAGGATGAGCCCCGGCGC GATTAGCTAGTTGGT GGG	271
Leuconostoc	AAAAGGCGCTACGG--CGTCACCTAGAGATGGATCCCGGTGCAATTAGTTAGTTGGT GGG	152
Fructobacillus	AAAAGCTCGTTT G--CAGCGCTTAAAGATGGATTCCCGGTGCAATTAGTTAGTTGGT GAG	229
Oenococcus	GAAAGGTCCCTTG--GATGCTAGAGGATGGTCTGGCGCGTATTAGCTTGTGGT GAGG	229
Weissella	CAAGGTAGCCGTAG--GAGAACCTCGGGCTGGATCACC--TCCTTCTAAGGAAAATCGG	168
FSnh1. * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * . . .	
FSnhA.	GTAACCGCTCACCTAGGGACGATCCCTAGCTGGCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGG	256
Granulicatella	GTAACCGCTCACCTAGGGACGATCCCTAGCTGGCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGG	257
Carnobacterium	GTAACCGCTCACCAAGGGCGTGTAGCCTAGCCGACCTGAGAGGGTGTAGCGGCCACATTGG	300
Abiotrophia	GTAATGGCTCACCAAGGGCGATGATCACCTAGCCGACCTGAGAGGGTGTAGCGGCCACACTGG	329
Eremococcus	GTAAGGNCTCACCAAGGGCGATGATCATAGCCGACCTGAGAGGGTGTAGCGGCCACATTGG	324
Aerococcus	GTAACCGCTCACCAAGGGCATGATCATAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACATTGG	290
Enterococcus	GTAATGGCTCACCAAGACGATGATCATAGCCGACCTGAGAGGGTGTAGCGGCCACATTGG	326
Pediococcus	GTAACCGCTCACCAAGGCCACGATGATCATAGCCGACCTGAGAGGGTGTAGCGGCCACATTGG	317
Streptococcus	GTAACCGCTCACCAAGGCACGATGATCGCTAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACATTGG	352
Lactococcus	GTAACCGCTCACCAAGGCACGATGATCATAGCCGACCTGAGAGGGTGTAGCGGCCACATTGG	321
Lactobacillus	GTAAGAGGCTCACCAAGGGCGATGATCACATAGCCGACCTGAGAGGGTGTAGCGGCCACATTGG	319
Leuconostoc	GTAAGAGGCTCACCAAGGGCGATGATCGCTAGCCGAGTTGAGAGACTGTAGCGGCCACATTGG	331
Fructobacillus	GTAAGAGGCTCACCAAGACGATGATCATAGCCGAGTTGAGAGACTGTAGCGGCCACATTGG	212
Oenococcus	GTAAGAGGCTCACCAAGACGATGATCATAGCCGAGTTGAGAGACTGTAGCGGCCACATTGG	289
Weissella	GTAGAACCTACACATTCAACGAAACGATATTAGTTAGTTGAGTGATTACACTCAATGAA	224
FSnh1.	* * . * * : * : * : * : * : * : * : * : * . . .	
FSnhA.	AACTGAGACACGGTCCGACGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATT TGCAACATGGG	316
Granulicatella	AACTGAGACACGGTCCGACGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATT TGCAACATGGG	317
Carnobacterium	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGAC	360
Abiotrophia	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGAC	389
Eremococcus	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGAC	384
Aerococcus	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGAC	350
Enterococcus	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGG	386
Pediococcus	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGAC	377
Streptococcus	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGAC	412
Lactococcus	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGAC	381
Lactobacillus	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGAC	379
Leuconostoc	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCACAATGGAC	391
Fructobacillus	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCACAATGGG	272
Oenococcus	GACTGAGACACGGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCACAATGGG	349
Weissella	GACTGAGACACTGCCCAA ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATTTTCCGCAATGGC	349
	GACAGAGAGTCG---AATCTCT---GGGA---CTGTAG---CTCAGCTGGTAGAGC	269
FSnh1.	. * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * . . .	
FSnhA.	GCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAGAACGGCTTCGGGTGTAAGACT-	374
Granulicatella	GCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAGAACGGCTTCGGGTGTAAGACT-	375
Carnobacterium	GCAAGTCTGACGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAACTCT-G	419
Abiotrophia	GAAAGTCTGACGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAACTCT-G	448
Eremococcus	GCAAGTCTGACGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAAGCTCT-G	443
Aerococcus	GCAAGTCTGACGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAAGCTCT-G	409
Enterococcus	GAAAGCTGACGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAACTCT-G	445
Pediococcus	GAAAGCTGACGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAACTCT-G	436
Streptococcus	GCAAGTCTGATGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAAGCTCT-G	471
Lactococcus	GGAAAGTCTGACCGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAAGCTCT-G	440
Lactobacillus	GAAAGTCTGACCGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAACTCT-G	438
Leuconostoc	GCAAGTCTGATGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGAGAACAGGTTTTCGATCGTAAAGCTCT-G	450
Fructobacillus	GCAAGCCTGATGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGATGAAGGCTTCGGGTGTAAGACT-G	331
Oenococcus	GCAAGCCTGATGGAGAACGCCCGCGTGTAGTGATGAAGGCTTCGGGTGTAAGACT-G	408
Weissella	GAAAGTGTGACGGAGCGACGCCCGCGTGTAGTGATGAAGGCTTCGGGTGTAAGACT-G	409
	GCACCCCTGATAAGG-----GTGAG-GTGGAGG----TTCTGAGTC-----CTCT-----	309

---dilanjutkan pada halaman berikutnya

* * . *** . * ***: * : * ,*** * * * . * :**

FSnh1.	TTCAGGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAACCTTGTCAATTGACGTTACCCGAGAAG	434
FSnhA.	TTCAGGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAACCTTGTCAATTGACGTTACCCGAGAAG	435
Granulicatella	TTGTTAGAGAAACAAGTGTAGT-AACTGTTAGGCCATTGACGGTATCTAACCGAGA	478
Carnobacterium	TTGTTAGAGAAACAAGGATGAGT-AACTGCTCATCCCTGACGGTATCTAACCGAGA	507
Abiotrophia	TTGTTAGAGAAACAAGCAGCGCATAGT-AACTGCTATGCGTGTGACGGTATCTAACCGAGA	502
Eremococcus	TTATTAGCCAAGAACACCCCTAGTAGT-AACTGGCTAGGGATTGACGGTAACTAATCAGA	468
Aerococcus	TTATAAGAGAAACAATTGTAGT-AACTGCTACAGTCTTGACGGTATCTAACCGAGA	504
Enterococcus	TTGTTAGAGAAACAAGGATGAGT-AACTGTTCATCCCTGACGGTATCTAACCGAGA	495
Pediococcus	TTGTTAAAGAGAAACAGGGTGTGAGT-AACTGTTCACCCAGTGACGGTATTTAACCGAGA	530
Streptococcus	TTGTAAGAGAAACAGAGTGTGAGTGGAAAGTTCACACTGTGACGGTATCTAACCGAGA	500
Lactococcus	TTGGTAGAGAAACAGTTGGTGTGAGTGAAAGCTCATCAAGTGACGGTAACACCAGA	498
Lactobacillus	TTGTTGGTGAAGAAGGATAGAGGCAGT-AACTGGCTTTATTTGACGGTAATCAACCAGA	509
Leuconostoc	TTGTATGGAAAGAAATGCTAAAATAGG-GAATGATTAGTTGACGGTACCATACCAGA	390
Fructobacillus	TTGTATGGAAAGAACGGTTAACAGG-GAATGCTAACAGTGACGGTACCATACCAGA	467
Oenococcus	TTGTAAGGGAAAGATAACTGAATTCAAGAAAAGTTTCACTGACGGTACCTAACCGAGA	469
Weissella	-----CAGTCCCATTGATGGGG-----AATTAGC---TCAGCTGGGA	344
* * .		
FSnh1.	AAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTCAAGCGTTAACCG	494
FSnhA.	AAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGGTAATACGGAGGGTCAAGCGTTAACCG	495
Granulicatella	AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGCAAGCGTTGTCCG	538
Carnobacterium	AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGCAAGCGTTGTCCG	567
Abiotrophia	AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGCGAGCGTTGTCCG	562
Eremococcus	AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGCGAGCGTTGTCCG	528
Aerococcus	AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGCGAGCGTTGTCCG	564
Enterococcus	AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGCGAGCGTTGTCCG	555
Pediococcus	AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGCGAGCGTTATCCG	590
Streptococcus	AAGGGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTCCCAGCGTTGTCCG	560
Lactococcus	AAGGGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTCCCAGCGTTGTCCG	558
Lactobacillus	AAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGCGAGCGTTGTCCG	569
Leuconostoc	AAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGTGCGAGCGTTATCCG	450
Fructobacillus	AAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGTGTCCCAGCGTTATCCG	527
Oenococcus	AAGGGATGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGTGTCCCAGCGTTATCCG	529
Weissella	GAGCACCTGCTT-----TGCAAGCAG--GGGGTCACTGGTCAACCGATATTCTC-	395
. ** . ***: ***.***** * ***.**. * : * * . .** : *		
FSnh1.	GAATTACTGGCGTAAAGCGCAGC-CAGGCGTTGTTAACGTCA--GATGTGAAATCCCC	551
FSnhA.	GAATTACTGGCGTAAAGCGCAGC-CAGGCGTTGTTAACGTCA--GATGTGAAATCCCC	552
Granulicatella	GATTATTGGCGTAAAGCGAGCG-CAGGCGGTTCTTAAAGTCT--GATGTGAAAGCCCC	595
Carnobacterium	GATTATTGGCGTAAAGGGAGTG-TAGGCGGTCTTTAAAGTCT--GATGTGAAAGCCCC	619
Abiotrophia	GATTATTGGCGTAAAGGGAGCG-CAGGCGGTACTAACGTAAAGTCT--GATGTGAAAGCCCC	585
Eremococcus	GATTATTGGCGTAAAGGGAGCG-CAGGCGGTTCTTAAAGTCT--GATGTGAAAGCCCC	621
Aerococcus	GATTATTGGCGTAAAGCGAGCG-CAGGCGGTTCTTAAAGTCT--GATGTGAAAGCCCC	612
Enterococcus	GATTATTGGCGTAAAGCGAGCG-CAGGCGGTTCTTAAAGTCT--AATGTGAAAGCCTT	647
Pediococcus	GATTATTGGCGTAAAGCGAGCG-CAGGCGGTTAGATAAGTCT--GAAGTTAAAGGCTG	617
Streptococcus	GATTATTGGCGTAAAGCGAGCG-CAGGCGGTTCTTAAAGTCT--GGTCTAAAGGCAG	615
Lactococcus	GATTATTGGCGTAAAGCGAGCG-CAGGCGGAATGATAAGTCT--GATGTGAAAGCCCC	626
Lactobacillus	GATTATTGGCGTAAAGCGAGCG-CAGACGGTTGATTAAGTCT--GATGTGAAAGCCCC	507
Leuconostoc	GATTATTGGCGTAAAGCGAGCG-CAGACGGTTGATTAAGTCT--GAAGTGAAAGCCCC	584
Fructobacillus	GATTATTGGCGTAAAGCGAGCG-CAGACGGTTTATTAAGTCT--GATGTGAAATCCCC	586
Oenococcus	-----ATAACACCACATCTGGTGTAAATTAGTTCTTGAAGACTGAATCAT	441
Weissella	-----ATAACACCACATCTGGTGTAAATTAGTTCTTGAAGACTGAATCAT	441
* : * . * : * . * : * . * : * . * : * . * : * . * : *		
FSnh1.	GGGCTCAACCTGGAACTGCACTGATGACTGGCAAGCTGAGTCTCGTAGAGGGGGTAG	611
FSnhA.	GGGCTCAACCTGGAACTGCACTGATGACTGGCAAGCTGAGTCTCGTAGAGGGGGTAG	612
Granulicatella	CGGCTCAACCGGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAACAGGGAGAGTGG	655
Carnobacterium	CGGCTCAACCGGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAACAGGGAGAGTGG	684
Abiotrophia	CGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGGGAGAGCAG	679
Eremococcus	CGGCTTAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTACAGAACAGGGAAAGCAG	645
Aerococcus	CGGCTTAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTACAGAACAGGGAAATGTGG	681
Enterococcus	CGGCTCAACCGGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGGGAGAGTGG	672
Pediococcus	CGGCTCAACCGAAGAAGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAACAGGGAGAGTGG	707
Streptococcus	TGGCTTAACCATAGTACG-CTTGGAAACTGTTAACCTGAGTGCAAGAGGGAGAGTGG	676
Lactococcus	TGGCTCAACCATTGTATG-CATTGGAAACTGGTAGACTTGAGTGCAAGAGGGAGAGTGG	674
Lactobacillus	CGGCTCAACCGTGGAACTGCACTGGAAACTGTCACTTGAGTGCAAGAACAGGGAGAGTGG	686
Leuconostoc	GAGCTCAACTCCGAATGGCATTGGAAACTGGTAGACTTGAGTGTTAGAGGTAAGTGG	567
Fructobacillus	CAGCTCAACTGTGGAATGGCTTGGAAACTGGCAACTTGAGTGCAAGAGGGTAAGTGG	644
Oenococcus	AGGCCAACCTCGGAACTGCATTGGAAACTGATTACTTGAGTGCGATAGAGGCAAGTGG	646
Weissella	AATTGTAATTAAATTCTATCAATTAAATTGAGCCAAAAAA	500

---dilanjutkan pada halaman berikutnya

---dilanjutkan pada halaman berikutnya

---dilanjutkan pada halaman berikutnya

	*	*****	***	.	***	:	*	*	***	:	*
FSnh1.	AGGAAA	ACTGCCAGT	GATAAAC	CTGGAA	AGAAGGT	GGGGAT	GACGTCAAGTC	ATCATGGCCCT	1148		
FSnhA.	AGGAGA	GACTGCCAGT	GATAAAC	CTGGGA	AGAAGGT	GGGGAT	GACGTCAAGTC	ATCATGGCCCT	1149		
Granulicatella	GTGAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCATGC	GGCCCT	1192			
Carnobacterium	GTGAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCATGC	GGCCCT	1221			
Abiotrophia	GTTAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCATGC	GGCCCT	1216			
Eremococcus	GTTAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCATGC	GGCCCT	1180			
Aerococcus	ATGAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCAGCATG	GGCCCT	1218			
Enterococcus	GCAAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCAGCATG	GGCCCT	1209			
Pediococcus	GTGAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCAGCATG	GGCCCT	1243			
Streptococcus	GCGAGA	GACTGCCGGTA	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCAGCATG	GGCCCT	1213			
Lactococcus	ACGAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCAGCATG	GGCCCT	1210			
Lactobacillus	AAAGAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GATGACGTCAA	ATCAGCATG	GGCCCT	1223			
Leuconostoc	GCGAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGCGGG	GACGACGTCA	AGTATCATG	GGCCCT	1105			
Fructobacillus	GACAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGCGGG	GACGACGTCA	AGTATCATG	GGCCCT	1182			
Oenococcus	ATGAGA	GACTGCCGGTG	ACAAACCGGAGGA	AGGTTGGG	GACGACGTCA	AGTATCATG	GGCCCT	1184			
Weissella	GTAGGACT	ACCGTT-----	GTGGAGTT	-AC	AAATTGTT	TATTAGCAG	934				
	*	***	.*	*	***	: * :	* : *	* : *	**	*	
FSnh1.	TACGACCAGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGCGC	TATACAAAGAGA	GAAGGCAC	CTCGCGAGA	1208				
FSnhA.	TACGACCAGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGCGC	TATACAAAGAGA	GAACGAC	TCCCAGAGA	1209				
Granulicatella	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGATGGT	TACAACGAGC	GACGCGA	ACTCGCGAGG	1252				
Carnobacterium	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGATGGT	TACAACGAGC	GACGCGA	ACTCGCGAGG	1281				
Abiotrophia	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGATGGT	TACAACGAGC	GACGCGA	ACTNGCGAGG	1276				
Eremococcus	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGACGAT	TACAACGAGC	GAGC	AACTCGCGAGG	1240				
Aerococcus	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGATGGT	TACAACGAGC	GAGC	TCGCAAA	CCCGCGAGG	1278			
Enterococcus	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGGA	TAGTACAACGAG	GTGCGA	AGTCGCGAGG	1269				
Pediococcus	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGATGGT	TACAACGAG	GTGCGA	AAACCGCGAGG	1303				
Streptococcus	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGCTG	TACAATGGATGGT	TACAACGAG	GTGCGA	AAACCGCGAGG	1273			
Lactococcus	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGCTG	TACAATGGATGGT	TACAACGAG	GTGCGA	AAACCGCGAGG	1270			
Lactobacillus	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGCG	TATACAACGAG	GTGCGA	AAACCGCGAGG	1283				
Leuconostoc	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGCG	TATACAACGAG	GTGCGA	AAACCGCGAGG	1165				
Fructobacillus	TATGACTTGGGCT	TACACACGTGCT	TACAATGGCG	TATACAACGAG	GTGCGA	AAACCGCGAGG	1242				
Oenococcus	TATGACTTGGGCA	ACACACGTGCT	TACAATGGGA	AGTACAACGAG	GTGCGA	AAACCGCGAGG	1244				
Weissella	AATCAGCTGGGAAGCT	--	GAGCGAAACAGGGT	GATAGGCCCG	-----	TATGCGAAA	983				
	**	* : ***	. : * :	***	* : ***	***	***	***	***	***	
FSnh1.	GCAAGCGGACACT	CATAAA	GTGCTG	TAGTCGGG	ATTGGAGT	CTGC	-AACTCGACTCCAT	1267			
FSnhA.	ACAAGCGGACCT	CATAAA	GTGCTG	TAGTCGG	CCATTGGAGT	CTGC	-AACTCGACTCCAT	1268			
Granulicatell	GTAAGCGAA	TCTCTTAAAGCC	ATTCTCAG	TGTTGGG	ATTGGAGT	CTGC	-AACTCGCCTACAT	1311			
Carnobacterium	CCAAGCTAA	TCTCTTAAAGCC	ATTCTCAG	TGTTGGG	ATTGCGAGG	CTGC	-AACTCGCCTGCAT	1340			
Abiotrophia	GTAAGCGAA	TCTCTAAAGCC	ATTCTCAG	TGTTGGG	ATTGCGAGG	CTGC	-AACTCGACTACAT	1335			
Eremococcus	GTAAGCGAA	TCTCTAAAGC	GTCTCAG	TGTTGGG	ATTGCGAGG	CTGC	-AACTCGCCTGCAT	1299			
Aerococcus	GCAAGCAA	ATCTCTTAAAGCC	ATTCTCAG	TGTTGGG	ATTGCGAGG	CTGC	-AACTCGCCTGCAT	1337			
Enterococcus	CTAAGCTAA	TCTCTTAAAGCC	ATTCTCAG	TGTTGGG	ATTGCGAGG	CTGC	-AACTCGCCTGCAT	1328			
Pediococcus	TTTAGCTAA	TCTCTTAAAGCC	ATTCTCAG	TGTTGGG	ACTGTTAGG	CTGC	-AACTCGCCTACAC	1362			
Streptococcus	GCAAGCTAA	TCTCTTAAAGCC	ATTCTCAG	TGTTGGG	ACTGTTAGG	CTGC	-AACTCGCCTACAT	1332			
Lactococcus	TTTAGCTAA	TCTCTTAAAGCC	ATTCTCAG	TGTTGGG	ACTGTTAGG	CTGC	-AACTCGCCTACAT	1330			
Lactobacillus	GTAAGCGGAA	TCTCTTAAAGCT	ATTCTCAG	TGTTGGG	ACTGTTAGG	CTGC	-AACTCGCCTGCAC	1342			
Leuconostoc	GTGAGCTAA	TCTCTTAAAGCT	ATTCTCAG	TGTTGGG	ACTGTTAGG	CTGC	-AACTCGACTGCAC	1224			
Fructobacillus	GTAAGCGGAA	TCTCTTAAAGCT	ATTCTCAG	TGTTGGG	ACTGTTAGG	CTGC	-AACTCGACTACAT	1301			
Oenococcus	GTAAGCTAA	TCTCTTAAAGCT	ATTCTCAG	TGTTGGG	ACTGTTAGG	CTGC	-AACTCGACTCCAC	1303			
Weissella	GTAAGCGAAACCTCCGT	TAGGATCCTG	TAGTAC	GG-----	GCGGG	--	ACACGTG	AAAT	1032		
	***	* : * :	***	* : ***	* : ***	* : ***	* : ***	* : ***	* : ***	* : ***	
FSnh1.	GAAGTCGGA	ATCGCTAG	TAATCGTGG	ATCAGCAC	GGCCCG	---	TTGGG	-----	1312		
FSnhA.	GAAGTCGGA	ATCGCTAG	TAATCGTGG	ATCAGCAC	GGCCCG	---	TACCGCCCCCGGA	---	1321		
Granulicatella	GAAGCCGGA	ATCGCTAG	TAATCGCGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1371		
Carnobacterium	GAAGCCGGA	ATCGCTAG	TAATCGCGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1400		
Abiotrophia	GAAGCCGGA	ATCGCTAG	TAATCGCGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1395		
Eremococcus	GAAGCCGGA	ATCGCTAG	TAATCGGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1359		
Aerococcus	GAAGCCGGA	ATCGCTAG	TAATCGGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1397		
Enterococcus	GAAGCCGGA	ATCGCTAG	TAATCGGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1388		
Pediococcus	GAAGTCGGA	ATCGCTAG	TAATCGGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1422		
Streptococcus	GAAGTCGGA	ATCGCTAG	TAATCGGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1392		
Lactococcus	GAAGTCGGA	ATCGCTAG	TAATCGGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1390		
Lactobacillus	GAAGCTGGA	ATCGCTAG	TAATCGGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1402		
Leuconostoc	GAAGCTGGA	ATCGCTAG	TAATCGGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1284		
Fructobacillus	GAAGCTGGA	ATCGCTAG	TAATCGGG	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1361		
Oenococcus	GAAGGCCGA	ATCGCTAG	TAATCGGA	ATCAGCAC	GGCCCG	CGGT	GAATACGTTCCC	GGGGTCT	1363		
Weissella	CCGGTCCGAAAC	-----	TGCGAGGACCAT	CTCGTA	AGGCT	AAATACT	CCCTAGTGACC	1085			

---dilanjutkan pada halaman berikutnya

	... * ****:*	: ** *.* * * *: * . * ..
FSnh1.	-----	
FSnhA.	-----	
Granulicatella	TGTACACACCAGCCGTCACACCACGAGAGTTGTAACACCCAAAGTCGGTGAGGTAACCT	1431
Carnobacterium	TGTACACACCAGCCGTCACACCACGAGAGTTGTAAGAGCGAAGTCGGTGAGGTAACCC	1460
Abiotrophia	TGTACACACCAGCCGTC-----	1411
Eremococcus	TGTACACACCAGCCGTCACACCACGAG-----	1385
Aerococcus	TGTACACACCAGCCGTCACACCACGAGAGTTGTAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCT	1457
Enterococcus	TGTACACACCAGCCGTCACACCACGAGAGTTGTAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCT	1448
Pediococcus	TGTACACACCAGCCGTCACACCATGAGAGTTGTAACACCCAAAGCCGGTGGGTAACCT	1482
Streptococcus	TGTACACACCAGCCGTCACACCACGAGAGTTGTAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCT	1452
Lactococcus	TGTACACACCAGCCGTCACACCACGAGAGTTGAGGGACTACCCGAAGTAGTTGCCTAACCG	1450
Lactobacillus	TGTACACACCAGCCGTCACACCATGGAAAGTCTGCAATGCCAAAGTCGGTGGATAACCT	1462
Leuconostoc	TGTACACACCAGCCGTCACACCATGGAGTTGTAATGCCAAAGCCGGTGGCC-----	1338
Fructobacillus	TGTACACACCAGCCGTCACACCATGGGAGTTGTAATGCCAAAGCCGGTGGCCTAACCT	1421
Oenococcus	TGTACACACCAGCCGTCAAATCATGGGAGTCGGAAGTACCCAAAGTCGCTTGGCTAACCT	1423
Weissella	GATAGTGAAC--CAGT--ACCGTGAGGGAAAGG-----	1114
FSnh1.	-----	
FSnhA.	-----	
Granulicatella	TTT--GGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGATAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA	1489
Carnobacterium	TTTTGGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGACAGATAATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA	1520
Abiotrophia	-----	
Eremococcus	TTAT-GGAGCCAGCCGCAGAGTGAGATGGGGNNNNNNNTAACAGNNNN	1516
Aerococcus	TTTT-GGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGATAGATGATTG-----	1485
Enterococcus	TTTA-GGAGCTAGCCGCTAAGGTGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA	1541
Pediococcus	TTTAGGAG-----	1460
Streptococcus	CAAGGAGGGC--GCTTCCTAAGGTAAGACCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA	1508
Lactococcus	TTATAGGAGTCAGCCGCCTAAGGCAGGGCAGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA	1522
Lactobacillus	-----	
Leuconostoc	TCGGGGAG--GAGCGTCTAAGGCAGGACTGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAG-----	1475
Fructobacillus	TTAG---AGGCCGTGCCTAAGGTAAAATC-----	1450
Oenococcus	-----	
Weissella	-----	
FSnh1.	-----	
FSnhA.	-----	
Granulicatell	CCGTA-----	1495
Carnobacteriu	CCGT-----	1524
Abiotrophia	-----	
Eremococcus	-----	
Aerococcus	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNGATCACCTCCTTCT	1552
Enterococcus	-----	
Pediococcus	CCGTAGGAGAACCTGCGGCTAAAACAACCTCCTTGA	1577
Streptococcus	-----	
Lactococcus	CCA-----	1511
Lactobacillus	CCGTAGGAGAACCTGCGGCTGGATCACCTCCTT	1555
Leuconostoc	-----	
Fructobacillus	-----	
Oenococcus	-----	
Weissella	-----	

Gambar 2. Alignment urutan basa DNA pengkode 16S rRNA isolat BAL FSnh 1 dan FSnh A dengan bakteri asam laktat dari genus yang berbeda dalam family Lactobacillaceae Genbank.

Hasil analisis kekerabatan dengan program BLAST-N kemudian dilanjutkan dengan analisis pohon filogenetik secara dua tahap dengan menggunakan program TREEVIEW X yang dikombinasikan dengan program NJplot. Tahap pertama menggunakan program TREEVIEW X untuk mensejajarkan sekuen kedua isolat BAL dengan isolat internasional dari genus yang berbeda dalam satu family yaitu Lactobacillaceae (Gambar 3).

Hasil analisis pohon filogenetik tahap pertama menunjukkan bahwa kedua isolat BAL memiliki skor kesejajaran tertinggi dengan *Lactobacillus* sebesar 75 dan skor kesejajaran terendah dengan *Weisella* sebesar 39. Skor kesejajaran antara isolat BAL FSnh 1 dan isolat BAL FSnh A sebesar 92 yang menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut berada dalam genus yang sama yaitu *Lactobacillus*. Tahap kedua adalah mensejajarkan kedua isolat BAL

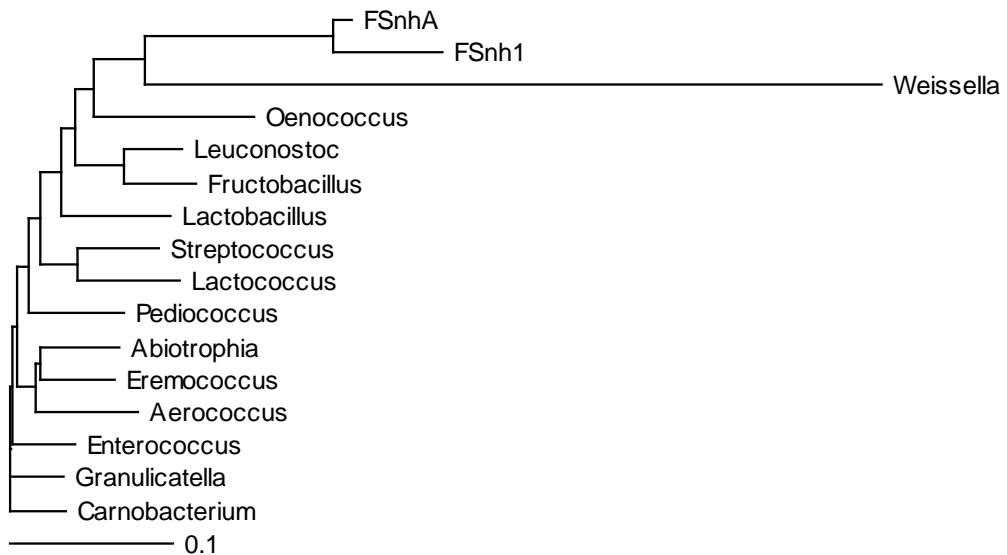
dengan isolat internasional dari spesies yang berbeda dalam genus *Lactobacillus* dari hasil tahap pertama. Hasil analisis pohon filogenetik tahap kedua menunjukkan bahwa isolat FSnh 1 memiliki skor tertinggi sebesar 75 dengan *Lactobacillus salivarus* ATCC 11741, sedangkan isolat FSnh A memiliki skor tertinggi sebesar 76 dengan *Lactobacillus fructivorans* (Gambar 4).

L. salivarus dan *L. fructivorans* memiliki skor kesejajaran sebesar 89 yang menunjukkan kekerabatan yang dekat antara kedua isolat *L.*

salivarus dan *L. fructivorans* yaitu genus *Lactobacillus*. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa fermentasi spontan pisang var agung semeru didominasi oleh bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* sp. Pisang var agung semeru merupakan salah satu jenis pisang olahan (plantain) yang memiliki kadar pati lebih dari 70g/100g tepung yang dihasilkan. Reddy et al. (2008) menjelaskan bahwa *Lactobacillus* sp juga dapat ditemukan pada produk pangan berpati seperti pada fermentasi singkong, beras, dan gandum.

Tabel 3. Hasil analisis sekuen gen 16SrRNA menggunakan program BLAST-N

Isolat	Spesies Bakteri Asam Laktat Homolog		Query Coverage (%)	Identitas Maksimal (%)	Kode Akses
FSnh 1	<i>Lactobacillus delbruekci</i> subsp. <i>bulgaricus</i> NDO2		86	81	NC 008054.1
	<i>Lactobacillus amylovorus</i> GRL 1112		86	80	ACKV01000113.1
	<i>Lactobacillus iners</i> LEAF		85	80	AEKH01000023.1
FSnh A	<i>Lactobacillus iners</i> LEAF		84	81	AEKH01000023.1
	<i>Lactobacillus delbruekci</i> subsp. <i>bulgaricus</i> NDO2		85	81	NC 008054.1
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> ATCC 19254		85	80	ACKV01000113.1

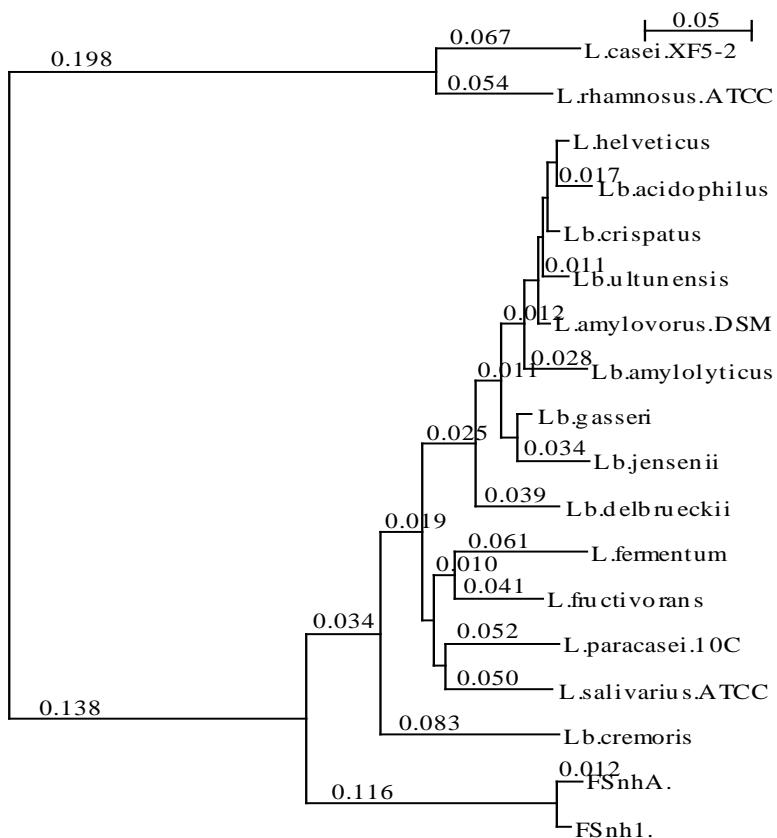


Gambar 3. Pohon filogenetik berdasarkan sekuen DNA pengkode 16S rRNA dari isolat bakteri asam laktat yang dibandingkan dengan sekuen DNA pengkode 16S rRNA bakteri asam laktat Genbank menggunakan program TREEVIEW X.

Lactobacillus adalah bakteri gram positif, katalase negatif, dengan bentuk sel basil, bersifat homofermentatif maupun heterofermentatif (Reddy *et al.* 2008). *Weissella* merupakan bakteri gram positif, katalase negatif, dengan bentuk sel kokobasil, yang dapat diisolasi dari habitat yang luas seperti tanah, sayuran segar, pangan terfermentasi, daging dan produknya (Vela *et al.* 2003). *Weissella sp* juga ditemukan pada susu kuda sumbawa (Sujaya *et al.* 2008), ampas kedelai (Malik *et al.* 2008) dan penghasil dekstran pada adonan asam gandum/wheat sourdough (Katina *et al.* 2009).

Fermentasi spontan pisang var agung semeru dilakukan secara terendam dalam akuades steril dengan menggunakan erlenmeyer dan ditutup secara aseptis. Kondisi

demikian memungkinkan bakteri anaerob fakultatif atau mikroaerofilik seperti *L. salivarius* dan *L. fructivorans* yang tumbuh dalam kondisi oksigen terbatas. *Lactobacillus salivarius* adalah bakteri gram positif dengan G+C 32,9%, batang pleomorfik, anaerob fakultatif, katalase negatif, nonmotil, homofermentatif obligat, tumbuh baik pada suhu 37°C (Stern *et al.* 2006). Bakteri tersebut hidup di inang seperti pada mulut mamalia termasuk manusia (Mozzi *et al.* 2010). *Lactobacillus fructivorans* merupakan bakteri asam laktat berbentuk batang, dapat tumbuh pada suhu 45°C tetapi tidak pada suhu 15°C, heterofermentatif obligat, dapat membentuk gas dari glukosa dan glukonat (Dicks & Endo 2009).



Gambar 4. Pohon filogenetik berdasarkan sekuen DNA pengkode 16S rRNA dari isolat bakteri asam laktat yang dibandingkan dengan sekuen DNA pengkode 16S rRNA bakteri asam laktat Genbank menggunakan program NJplot.

KESIMPULAN

Berdasarkan identifikasi fenotipik terdapat dua kelompok bakteri asam yaitu kelompok I (isolat FSnh 1) yang terdiri atas sepuluh isolat dengan karakteristik sel bentuk batang pendek, koloni bulat sedang, berwarna putih susu dengan elevasi cembung, tidak membentuk gas dan dapat tumbuh pada suhu 15°C dan 45°C serta tumbuh optimal pada suhu 35°C dan kelompok II (isolat FSnh A) yang terdiri atas dua isolat dengan karakteristik sel bentuk batang pendek, koloni bulat kecil berwarna putih bening dengan elevasi seperti tetesan, membentuk gas dan tumbuh optimal pada suhu 35°C dan 45°C tetapi tidak tumbuh optimal pada suhu 15°C.

Hasil uji fenotipik-biokimiawi dengan kit API 50 CHL menunjukkan kedua isolat tersebut mampu menggunakan gliserol, D-ribosa, D-xilosa, D-glukosa, D-fruktosa, D-mannosa, metil alfa D-glukopiranosit, N-asetil glukosamin, eskulin ferrisitrat, salisin, D-seliobiosa, D-sakarosa dan gentibiosa dan potassium glukonat sebagai sumber karbon. Isolat FSnh 1 juga mampu menggunakan D-galaktosa, L-sorbosa, L-rhamnosa, amygdalin, sedangkan isolat FSnh A juga mampu menggunakan metil αD-glukopiranosa, arbutin, D-maltosa, D-laktosa, D-trehalosa, D-turanosa dan potassium 5-ketoglukonat sebagai sumber karbon. Identifikasi genotipik berdasarkan sekuen DNA pengkode 16S rRNA menunjukkan bakteri asam laktat FSnh 1 dan FSnh A dalam satu family *Lactobacillaceae* dengan genus *Lactobacillus*. Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan isolat BAL FSnh 1 memiliki homologi dengan *Lactobacillus salivarus* dan isolat BAL FSnh A memiliki homologi dengan *Lactobacillus fructivorans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Antara NS. 2010. Peran bakteri asam laktat strain lokal untuk memperbaiki mutu dan keamanan produk pangan lokal. [Orasi Ilmiah]. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana.
- Antara NS, IN Sujaya, A Yokota, K Asano, WR Aryanta, F Tomita. 2002. Identification and succession of lactic acid bacteria during fermentation of 'urutan', a Balinese indigenous fermented sausage. *World J Microbiol & Biotechnol* **18**: 255–262, 2002.
- Ammor S, C Rachmanb, S Chaillouc, H Prevostb, X Doussetb, M Zagorecc, E Dufoura, I Chevalliera. 2005. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *J Food Microbiol* **22**: 373–382.
- Arief II, BSL Jenie, M Asyawan & Witarto AB. 2010. Efektivitas probiotik *Lactobacillus plantarum* 2C12 dan *Lactobacillus acidophilus* 2B4 sebagai pencegah diare pada tikus percobaan. *Media Peternakan*. **33**(3): 137-143.
- Dicks LMT & A Endo. 2009. Taxonomic Status of Lactic Acid Bacteria in Wine and Key Characteristics to Differentiate Species. *S Afr J Enol. Vitic* **30** (1): 72-90.
- Katina K, NH Maina, R Juvonen, L Flander, L Johansson, L Virkki, M Tenkanen & A Laitila. 2009. In situ production and analysis of Weissella confusa dextran in wheat sourdough. *J Food Microbiol* **26**: 734–743.
- Kusumawati N, BSL Jenie & Siswasyahadi, Hariyadi RD. 2003. Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenus sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Menurunkan Kolesterol. *J Mikrobiologi Indonesia* **8** (2): 39-43.
- Malik A, Donna M. Ariestanti, Anandayu Nurfachtiyani & Arry Yanuar. 2008. Skrining gen glukosiltransferase (*gtf*) dari bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida. *J Makara Sains* **12** (1): 1-6.
- Mozzi F, RR Raya, GM Fignolo. 2010. Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: novel application. Wiley Blackwell Publishing. State Avenue-Ames-Iowa USA.
- Pangastuti A. 2006. Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16s rRNA dan Gen Penyandi Protein. *J Biodiversitas* **7**(3) : 292-296.
- Plessis HW, LMT Dicks, Pretorius IS, Lambrechts MG & Toit MD. 2004. Identification of lactic acid bacteria isolated from South African brandy base wines. *Intern J Food Microbiol* **91**: 19– 29.
- Reddy G, M Altaf, BJ Naveena, M Venkateshwar, & EV Kumar. 2008. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation — A review. *J Elsevier-Biotechnol Adv* **26**: 22–34.
- [RPJMD] Kabupaten Lumajang. 2009. Rencana Pembangunan Jangka Kabupaten Menengah Daerah Kabupaten Lumajang 2010 - 2014.
- Sambrook J & DW Russel. 2008. Molecular Cloning a Laboratory Manual, Third Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Suharsono & U Widystuti. 2008. Penuntun Praktikum; Pengantar Genetika Molekuler. Departemen Biologi-FMIPA. Institut Pertanian Bogor.
- Stern NJ, Svetoch EA, Eruslanov BV, Perelygin VV, Mitsevich EV, Mitsevich IP, Pokhilenko VD, Levchuk VP, Svetoch OE & Seal BS. 2006. Isolation of a *Lactobacillus salivarus* strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the chicken gastrointestinal system. *J Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **50** (9) :3111–3116.

- Sujaya N, Y Ramona, NP Widarini, NP Suariani, NMU Dwipayanti, KA Nociaanitri & NW Nursini. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. *J Veteriner* **9** (2): 52-59 .
- Tamang B, JP Tamang, U Schillinger, CMAP Franz, M Gores & WH Holzapfel. 2008. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from ethnic fermented bamboo tender shoots of North East India. *Intern J Food Microbiol* **121**: 35–40.
- Thompson JD, DG Higgins & TJ Gibson. 1995. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, Positionspecific gap penalties and and weight matrix choice. *Nucleic Acid Res* **22**: 4673-4680.
- Vela AI, C Porrero, J Goyache, A Nieto, B Sánchez, V Briones, MA Moreno, L Domínguez & JF Fernández-Garayzábal. 2003. *Weissella confuse* Infection in Primate (*Cercopithecus mona*). *J Emerging Infectious Diseases* **9** (10), October 2003.
- Ward, D.M. 1998. A natural species concepts for prokaryotes. *Current Opinion in Microbiol* **1**: 271-277.