

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 α -D-glukopiranososa, 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 salivarius* and *Lactobacillus fructivorans*.

Keyword: *Musa paradisiaca* formatypica, phenotypic-genotypic identification, *Lactobacillus salivarius*, *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 sekuensing gen pengkode 16S rRNA bakteri dengan metode *Polymerase Chain Reactions* (PCR)-sekuensing (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 (sosis 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 (± 1 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 diampifikasi dan dilakukan sekuensing. 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 600µl 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 600µl PCI (fenol-klorofom-isoamil) dan dibolak balik serta disentrifus (10.000 rpm, suhu ruang, 10 menit). Supernatan ditambah 600µl PCI (fenol-klorofom-isoamil) dan dibolak balik selanjutnya disentrifus lagi (10.000 rpm, suhu ruang, 10 menit). Supernatan diambil dan ditambah 2M Naasetat 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 6µl RNAase (100µg/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 Widyastuti, 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 Mg^{2+}) sebanyak 5 µl, dNTP 2.5mM sebanyak 4 µl, primer universal 63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') dan primer universal 1387R (5'-GGGCGGWTGTACAAGGC-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 & Widyastuti 2008).

Analisis urutan DNA pengkode 16S rRNA

Sekuensing DNA pengkode 16S rRNA dilakukan oleh *Ist Base* melalui PT. Genetika Indonesia. Analisis hasil sekuensing dilakukan dengan memBLAST urutan nukleotida dari hasil sekuensing 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 feri 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 α D-glukopiranos, 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 α D-glukopiranos, 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.

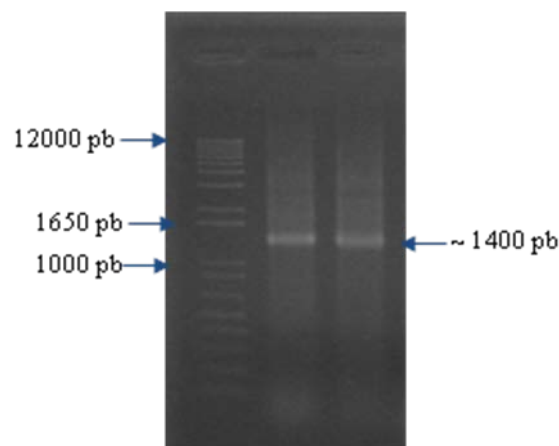
No	Isolat BAL	Karakteristik			Bentuk Sel	Tipikal koloni	Suhu Pertumbuhan		
		Gram	Gas	Katalase			15°C	35°C	45°C
1	FS nh 1	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung.	++	+++	++
2	FS nh A	+	+	+	Batang pendek	Bulat kecil berwarna putih bening dengan elevasi seperti tetesan	-	+++	++ +
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	++	+++	++
10	FS nh B	+	+	+	Batang pendek	Bulat kecil berwarna putih bening dengan elevasi seperti tetesan	-	+++	++ +
11	FS nh 9	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++
12	FS nh 10	+	-	+	Batang pendek	Bulat sedang berwarna putih susu dengan elevasi cembung	++	+++	++

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 sekuensing 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-glukopiranosida	-	+
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 DNALadder. 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 delbrueckii* 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. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, serta 80% dengan *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ATCC 19254.

FSnh1.	-----CCGGGG--GTAAGGAAAGAGCTTGCTTCTTTG	31
FSnhA.	-----GGGG--GCCGGGAAAGAGCTTGCTTCTCC-	28
Granulicatella	-----GACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGC	31
Carnobacterium	-----GAGTTTG--ATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGC	50
Abiotrophia	-----AGAGTTTG--ATCATGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGC	51
Eremococcus	-----TGGCGGCGTGCNTAATACATGC	22
Aerococcus	TTTCATGAGAGTTTG--ATCCTGGCTCAGGACNAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGC	58
Enterococcus	-----GGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGC	38
Pediococcus	--TTATAGAAGTTGGATCCCTGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGC	57
Streptococcus	----TTTTGATTTG--ATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGC	54
Lactococcus	-----TAGAGTTTG--ATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGC	52
Lactobacillus	-----AGAGTTTG--ATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGC	51
Leuconostoc	-----	
Fructobacillus	-----GGCGGCGTGCCTAATACATGC	21
Oenococcus	-----TACATG--CAAGTCGTACGCTAGCCGCTGAATTGATCCTT--	38
Weissella	-----TTGTACACAC	10
FSnh1.	CTGACGAG-----	39
FSnhA.	CTGACGAG-----	36
Granulicatella	AAGTCGAACGAGAG-----CGACCGGTGCTTGCACTGGTC-----	66
Carnobacterium	AAGTCGAACGCTTTGAC-----TTCACCGGTGCTTGCAACCACGA-----	92
Abiotrophia	AAGTCGAACGAACCGC-----GACTAGGTGCTTGCACTTGGTCA-----	90
Eremococcus	AAGTCGAACGCACT-----GACGGAGAACTTGTTCTC--TTA-----	57
Aerococcus	AAGTCGAGCGAACA-----GATGAAGTGTGCACTT--CTG-----	93
Enterococcus	AAGTCGTACGCTTCTTT-----TTCACCGGAGCTTGCTCCACCGGA-----	80
Pediococcus	AAGTCGAACGAACCTCCGTTAATTGATTATGACGTGCTTGCACTGAATGAGATTTTAAACA	117
Streptococcus	AAGTAGAACGCTGA-----AGCTTGGTGTGCAACCAGCGG-----	91
Lactococcus	AAGTTGAGCGCTGA-----AGGTTGGTACTTGTACCAACTGG-----	89
Lactobacillus	AAGTCGAGCGAGCTG-----AATTCAAAGATCCCTTCGGGGTGATTTGTTG--	97
Leuconostoc	-----	
Fructobacillus	AAGTCGTACGAACAG-----CGGAAAGTGTGCACTTTCCAA-----	59
Oenococcus	-----CGGGTG-----AAGTGAG--GCAATGACTAG-----	62
Weissella	CGCCCGTCA-----	19
FSnh1.	-----TGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGG-AAACTGCCTGATGGAGGGGGA	86
FSnhA.	-----TGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGG-AAACTGCCTAATGGAGGGGGA	83
Granulicatella	---AATCTAG---TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTTGGGTAACCTGCCATCAGAGGGGGA	121
Carnobacterium	--AGTCAAGGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTTGGGTAACCTGCCATAAGAGGGGGA	150
Abiotrophia	--AGGTGAG---TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTTGGGTAACCTACCTCATAGTGGGGGA	145
Eremococcus	--ACGTGAG---TGGCGGACGGGTGAGTAACACGTTGGGAAACCTACCCTTGAGCGGGGGA	112
Aerococcus	---ACGTTAG---CGGCGAACGGGTGAGTAACACGTAAGGAATCTACCTATAAGCGGGGGA	148
Enterococcus	--AAAAGAAGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTTGGGTAACCTGCCATCGAAGGGGGA	138
Pediococcus	CGAAGTGAG---TGGCGGACGGGTGAGTAACACGTTGGGTAACCTGCCAGAAGCAGGGGGA	174
Streptococcus	---ATGAG---TTGCGAACGGGTGAGTAACCGTAGGTAACCTGCCTGGTAGCGGGGGA	144
Lactococcus	---ATGAG---CAGCGAACGGGTGAGTAACCGTTGGGAAATCTGCCCTTGAGCGGGGGA	142
Lactobacillus	-GACGCTAG---CGGCGGATGGGTGAGTAACACGTTGGGCAATCTGCCCTAAAGAGTG--A	152
Leuconostoc	-----AGTAACACGTTGGATAACCTGCCTCAAGGCTGGGGA	35
Fructobacillus	----GTAAG---TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTTGAATAACCTACCCAAAGTCTGGGA	112
Oenococcus	-----AG---TGGCGAACGGGTGAGTAACACGTTAAGAAACCTGCCCTTAGTGGGGGA	112
Weissella	-----CACCATGAGAGTTTGTAAACAC-----CCAAAGCCG---GTGGGGTA	57
	:**** . . . :.** * ** *	
FSnh1.	TAACTACTGGAACGGTAGCT-AATACCGCATAACGTCG-CAAGACCAAGAGGGGGGACC	144
FSnhA.	TAACTACTGGAACGGTAGCTTAAATACCGCATAACGTCGCCAAGACCAAGAGGGGGGACC	143
Granulicatella	TAACTTCGGAAACGGATGCT-AAAACCGCATAGGCTTTCGAACCGCATGGTTTGAAGAG	180
Carnobacterium	TAACTCCGGAACGGATGCT-AATACCGCATATTTCCAATTGTCTCCTGACAGATGGAA	209
Abiotrophia	TAACTTCGGAAACGACTGCT-AATACCGCATAGGACATGGNATCACATGATTCAGTGAG	204
Eremococcus	TAACTTCGGAAACGATGCT-AATACCGCATAACAGCAATCATCGCTGATGGTTGATT	171
Aerococcus	TAACTTCGGAAACGGGTGCT-AATACCGCATAATATCTTCTTCCGCATGGAAGAAGATT	207
Enterococcus	TAACTTCGGAAACAGGTGCT-AATACCGTATAACAATCGAAACCGCATGGTTTGTATT	197
Pediococcus	TAACTTCGGAAACAGATGCT-AATACCGTATAACAGAGAAAACCGCTGGTTTCTTTT	233
Streptococcus	TAACTATTCGGAAACGATGCT-AATACCGCATAAGAGTAGATGTTGCATGACATTTACTT	203
Lactococcus	CAACATTCGGAAACGATGCT-AATACCGCATAAAAACCTTTAAACACAAAGTTTAAAGTT	201
Lactobacillus	TAACTTCGGAAACAGGTGCT-AATACCGGATAACAACATGAATCGCATGATTCAGTTT	211
Leuconostoc	TAACTTCGGAAACAGATGCT-AATACCGAATAAAAACCTTAGTATCGCATGATATCAAGTT	94
Fructobacillus	TAACTTCGGAAACAGTGACT-AATACCGGATAAAAACCAAGTGCACATGCACATGAGTT	171
Oenococcus	TAACTTCGGAAACAGATGCT-AATACCGCGTAACAACAATCACACATGCTGATCTGTT	171
Weissella	ACCTTTTAGGAGCCAGCGCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAG----TCGTAA	112

---dilanjutkan pada halaman berikutnya

	.. ***..*.. . ** . * . *	
FSnh1.	TTCGG--GCCTCTT---GCCAT-CGGAT-GTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGG	196
FSnhA.	TTCGG--GCCTCTT---GCCATTCGGATTGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGG	197
Granulicatella	GAAAAGAGGGCGCAAGCTTCTGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	240
Carnobacterium	AAAAGGTGGCTTCGGCTACCGCTTATGGATGGACCCGCGGTGATTAGCTAGTTGGTGAG	269
Abiotrophia	GAAAGGTGGCGCAAGCTATCGCTAAGAGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAGG	264
Eremococcus	GAAAGATGGCTCTG-CTATCACTCAAGGATGGCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAG	230
Aerococcus	GAAAGACGGCTCTG-CTGTCACTTATAGATGACCTTGCCTGGGTGCATTAGTTAGTTGGTGGG	266
Enterococcus	GAAAGGCGCTTTCGGGTGTGCTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	257
Pediococcus	AAAAGATGGCTCTG-CTATCACTTCTGGATGGACCCGCGCGCATTAGCTAGTTGGTGAG	292
Streptococcus	AAAAGGTGCAATG--CATCACTACCAGATGGACCTGCGTTGTATTAGCTAGTTGGTGAG	261
Lactococcus	GAAAGATGCAATG--CATCACTCAAAGATGATCCCGCTTGTATTAGCTAGTTGGTGAG	259
Lactobacillus	GAAAGGCGCGTAAGCTGTCACTTATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	271
Leuconostoc	AAAAGGCGCTACGG--CGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGGG	152
Fructobacillus	AAAAGCTGCGTTTG--CAGCGCTTAAAGATGGATTCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGAG	229
Oenococcus	GAAAGGTCTCTTTG--GATCGCTAGAGGATGGTCTTGCCTGGCTATTAGCTTGTGGTAGG	229
Weissella	CAAGGTAGCCGTAG--GAGAACCTGCGGTGGATCACC--TCCTTCTAAGGAAAATCGG	168
	:... . . . * :*** :*::..* .*	
FSnh1.	GTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGG	256
FSnhA.	GTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGG	257
Granulicatella	GTAACGGCTCACCAAGGCGATGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	300
Carnobacterium	GTAATGGCTCACCAAGGCGATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	329
Abiotrophia	GTAAGNCTTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	324
Eremococcus	GTAACGGCTTACCAAGGCCATGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	290
Aerococcus	GTAATGGCTTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	326
Enterococcus	GTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	317
Pediococcus	GTAACGGCTCACCAAGGCGATGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	352
Streptococcus	GTAACGGCTCACCAAGGCAACGATACATAGCCGACCTGAGAGGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	321
Lactococcus	GTAAGGCTCACCAAGGCGATGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAG	319
Lactobacillus	GTAAGGCTTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGG	331
Leuconostoc	GTAAGGCTTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGG	212
Fructobacillus	GTAAGGCTTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGG	289
Oenococcus	GTAAAGCCTACCAAGGCAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATTGG	289
Weissella	----AAACCTACACATTCAACGAAACGATATTAGTTTGTAGTATTACACTCAATGAA	224
	. * ** . * * . ** : * : . . * :*** : . . * . . *	
FSnh1.	AACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGC	316
FSnhA.	AACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGC	317
Granulicatella	GACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGAC	360
Carnobacterium	GACTGAGACACGGCCCAAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGAC	389
Abiotrophia	GACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGAC	384
Eremococcus	GACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGAC	350
Aerococcus	GACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGC	386
Enterococcus	GACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGAC	377
Pediococcus	GACTGAGACACGGCCCAAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGAC	412
Streptococcus	GACTGAGACACGGCCCAAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGAC	381
Lactococcus	GACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGAC	379
Lactobacillus	GACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGAC	391
Leuconostoc	GACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGC	272
Fructobacillus	GACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGC	349
Oenococcus	GACTGAGACACTGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATTTCCGCAATGCAC	349
Weissella	GACAGAGAGTCG---AATCTCT---GGGA---CTGTAG---CTCAGCTGGTTAGAGC	269
	.***:*** :* * :*** ***** :***.* . * : . : : * . *	
FSnh1.	GCAAGCCTGATGCAGCCATGCCCGGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACT--	374
FSnhA.	GCAAGCCTGATGCAGCCATGCCCGGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACT--	375
Granulicatella	GCAAGTCTGACGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGTCT-G	419
Carnobacterium	GAAAGTCTGACGGAGCAATGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGTCT-G	448
Abiotrophia	GCAAGTCTGACGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGTCT-G	443
Eremococcus	GCAAGTCTGACGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGTCT-G	409
Aerococcus	GAAAGCCTGACGGAGCAATGCCCGGTGAGTGAAGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAAGTCT-G	445
Enterococcus	GAAAGTCTGACGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGTCT-G	436
Pediococcus	GCAAGTCTGATGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGCTCGTAAAAGTCT-G	471
Streptococcus	GGAAGTCTGACGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGTCT-G	440
Lactococcus	GAAAGTCTGACGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGTCT-G	438
Lactobacillus	GCAAGTCTGATGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAAGTCT-G	450
Leuconostoc	GCAAGCCTGATGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGGTCGTAAAAGTCT-G	331
Fructobacillus	GCAAGCCTGATGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGGTCGTAAAAGTCT-G	408
Oenococcus	GAAAGTGTGACGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGGTCGTAAAAGTCT-G	409
Weissella	GCACCCCTGATAAGG-----GTGAG-GTCGGAGG--TTCGAGTC-----CTCT-309	

---dilanjutkan pada halaman berikutnya

	. ** . : . ** * : : * * * . * . * *	
FSnh1.	AATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCCG	671
FSnhA.	AATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCCG	672
Granulicatella	AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	715
Carnobacterium	AATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	744
Abiotrophia	AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	739
Eremococcus	AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	705
Aerococcus	AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	741
Enterococcus	AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	732
Pediococcus	AACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	767
Streptococcus	AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	736
Lactococcus	AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	734
Lactobacillus	AATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	746
Leuconostoc	AACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	627
Fructobacillus	AACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	704
Oenococcus	AACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCG	706
Weissella	TACACCGCGTAATTTTTTGTAGTTTTTTAAATAAGTTTTAAATCGCTTGTGACCATTGAG- : * : ** . ** . : : * * . : * * * * : * * . : * * * * * : * * *	559
FSnh1.	CCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	731
FSnhA.	CCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	732
Granulicatella	CTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATA	775
Carnobacterium	CTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	804
Abiotrophia	CTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	799
Eremococcus	CTTTCTGGTCTGATACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	765
Aerococcus	CATTCTGGTCTGTTACTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	801
Enterococcus	CTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	792
Pediococcus	CTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATA	827
Streptococcus	CTCTCTGGCTTGTAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	796
Lactococcus	CTCTCTGGCCTGTAACCTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA	794
Lactobacillus	CTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATA	806
Leuconostoc	CTTACTGGACAACAACCTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATA	687
Fructobacillus	CTTACTGGACTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATA	764
Oenococcus	CTTGCTAGATCGTAACCTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTAGCAAACGGGATTAGATA	766
Weissella	-TCACAATACTCAAACG-----AAATCATCAACGAAAGTTG---ATCGGTAAGTTA * : . * * * * . . * : . * . : . * * * * * : * * * * * : * * * * *	607
FSnh1.	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGCTGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGG-CGTGGC	790
FSnhA.	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGCTGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGG-CGTGGC	791
Granulicatella	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGTAAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	835
Carnobacterium	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGTAAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	864
Abiotrophia	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGTAAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	859
Eremococcus	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGTAAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	825
Aerococcus	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGTAAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	861
Enterococcus	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGTAAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	852
Pediococcus	CCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGATTACTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	887
Streptococcus	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGTAAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	856
Lactococcus	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGTAGATGTAAGGGAGCTATAAGTTCTCTG	854
Lactobacillus	CCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGAGCGTAGGTGTGGGGACTTTCCGGTCTCTAG	866
Leuconostoc	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAAATACTAGGTGTAGGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	747
Fructobacillus	CCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGGGATACTAGTTGTAGAGGGTTTCCGCCCTTCCAG	824
Oenococcus	CCCCGGTAGTCCATACCGTAACGATGGGTGCTAGTTGTAAAGAGGGTTTCCGCCCTCTAG	826
Weissella	TTAAGGGCG--CATGGTGAATGCCTTGG-CACTAGGAG-----CCGATGAA . * * . * * * . * : : * * * * * : * * * * * : *	650
FSnh1.	TTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCA	850
FSnhA.	TTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCA	851
Granulicatella	TGCTGCAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	895
Carnobacterium	GCTGCACGTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	924
Abiotrophia	TGCTGGAGTTAANGCAATAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGNTGAAACTCA	919
Eremococcus	TGCTGGCGTTAACGCAATAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAAACTCA	885
Aerococcus	TGCCGAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	921
Enterococcus	TGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	912
Pediococcus	TGCTGCAGCTAACGCATTAAGTATTCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	947
Streptococcus	TGCCGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	916
Lactococcus	T-ATGCAGCTAACGCAATAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	913
Lactobacillus	TGCCGAGCTAACGCATTAAGCGCTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	926
Leuconostoc	TGCCGAGCTAACGCATTAAGTATTCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	807
Fructobacillus	TGACGAAGCAACGCATTAAGTATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCA	884
Oenococcus	TGACGTAGCAAAACGCATTAAGCACCCGCCTGAGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTA	886
Weissella	GGACGGGACTAACACCG-----ATATGCCTCGGG-----AGCTGTAAGTAA	692

---dilanjutkan pada halaman berikutnya

```

      . *      : ** . *      . **** . **      . . * : ** * *
FSnh1.      AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCG 910
FSnhA.      AATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCG 911
Granulicatella  AAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 955
Carnobacterium  AAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 984
Abiotrophia    AAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 979
Eremococcus    AAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 945
Aerococcus     AAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAANNAACGCG 981
Enterococcus   AAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 972
Pediococcus    AAAGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGG--TTTATTCGAAGCTACGCG 1006
Streptococcu  AAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 976
Lactococcus    AAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 973
Lactobacillu  AAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 986
Leuconostoc   AAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 867
Fructobacillu AAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCG 944
Oenococcus     AAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGATACGCG 946
Weissella     GCTGTGATCCCGGGATTTC---CGAATGGGGGAACCCAACCTTGTCAAGATTATCGTT 749
.. * : . * . **** . * . * . ** * * . * . : * * * * . * : **

FSnh1.      AAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCA--CGGAAGTTTTCAGAGATGAGAA--TGTGCCTTC 968
FSnhA.      AAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCA--CGGAAGTTTTCAGAGATGAGAA--TGTGCCTTC 969
Granulicatel  AAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCT--TTGACCCTCTAGAGATAGAGC--TTTCCCTTC 1013
Carnobacteriu AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--TTGACCCTCTAGAGATAGGGC--TTTCCCTTC 1042
Abiotrophia   AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--TTGACCCTCTAGAGATAGAG--TTTCTCTTC 1037
Eremococcus   AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--ATGACCCTCTAGAGATAGAG--TTTCTCTTC 1002
Aerococcus    AAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCT--TTGACCCTCTAGAGATAGAG--TTTCCCTTC 1039
Enterococcus  AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--TTGACCCTCTAGAGATAGAGC--TTCCCTTC 1030
Pediococcus   AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--CTGCCAACCTAAGAGATTAGGC--GTTCCCTTC 1064
Streptococcus AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--TTGACCCTCTAGAGATAGAG--TTTCTCTTC 1034
Lactococcus   AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--GTGCTACACCTAGAGATAGGA--AGTCCCTTC 1031
Lactobacillus AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--GTGCTACACCTAGAGATAGGTG--GTTCCCTTC 1044
Leuconostoc  AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--TTGAAGCTTTTAGAGATAGAGTGTCTCTTC 926
Fructobacillus AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--TTGAAGCTTTTAGAGATAGAGTGTCTCTTC 1003
Oenococcus    AAAAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT--TTGAAGCTTTTAGAGATAGAGTGTCTCTTC 1005
Weissella     TAATGAATACATAG-----TTAAACG--AAGGTAGACGTTGTGAACTGAAACATCTCAT 802
: * . . . * : . . : . : * : . * : * : * : * : * : *

FSnh1.      GGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTT 1028
FSnhA.      GGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTT 1029
Granulicatel  GGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1073
Carnobacteriu GGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1102
Abiotrophia   GGAACGTCGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1097
Eremococcus   GGAGCATAG--AGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1061
Aerococcus    GGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1099
Enterococcus  GGGGGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1090
Pediococcus   GGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1124
Streptococcus GGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1094
Lactococcus   GGGACACGGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1091
Lactobacillus GGGGACGACAGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1104
Leuconostoc  GGAGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 986
Fructobacillus GGAAGCAAAGTGACAGGTGGTGCATGGCCGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT 1063
Oenococcus    GGAACATGGATACAGGTGGTGCATGGTGCATGGTGCATGGTGCATGGTGCATGGTGCAT 1065
Weissella     AG--CAACAGGAGAAGAAAGAAAATCGATTCCGTCAG--TAGCGGCGAGCGAACGCGG--- 857
. *      : * . . . * : . . ** *      * * * * * * * * * * * * * *

FSnh1.      AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGGAACCTCAA 1088
FSnhA.      AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGGAACCTCAA 1089
Granulicatella AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTGAG--TTGGGCACTCTA 1132
Carnobacterium AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTGAG--TTGGGCACTCTA 1161
Abiotrophia    AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATAACTAGTTGCCAGCATTNAG--ATGGGGACTCTA 1156
Eremococcus    AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATAACTAGTTGCCAGCATTNAG--ATGGGGACTCTA 1120
Aerococcus     AAGTCCNCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTNAG--TTGGGCACTCTA 1158
Enterococcus   AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTNAG--TTGGGCACTCTA 1149
Pediococcus    AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTNAG--TTGGGCACTCTA 1183
Streptococcus  AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTNAG--TTGGGCACTCTA 1153
Lactococcus    AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTNAG--TTGGGCACTCTA 1150
Lactobacillus  AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTNAG--TTGGGCACTCTA 1163
Leuconostoc   AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTNAG--TTGGGCACTCTA 1045
Fructobacillus AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTNAG--TTGGGCACTCTA 1122
Oenococcus     AAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTAAGTGTGCCAGCATTNAG--TTGGGCACTCTA 1124
Weissella     -----AGGAGCCCAAACCAGAG-----TGCCTGCACTCTG-----GGG-----TT 892

```

---dilanjutkan pada halaman berikutnya


```

..*   ****:*   : ** *. * ** * : * . *   ::
-----
FSnh1.
FSnhA.
Granulicatella TGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGAGGTAACCT 1431
Carnobacterium TGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAAGACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCC 1460
Abiotrophia TGTACACACCGCCCGT----- 1411
Eremococcus TGTACACACCGCCCGTCACACCACGA----- 1385
Aerococcus TGTACACACCGNNCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCT 1457
Enterococcus TGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCT 1448
Pediococcus TGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGGGGTAACCT 1482
Streptococcus TGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCT 1452
Lactococcus TGTACACACCGCCCGTCACACCACGGGAGTTGGGAGTACCCGAAGTAGGTTGCCTAACCG 1450
Lactobacillus TGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTCTGCAATGCCCAAAGTCGGTGAGGTAACCT 1462
Leuconostoc TGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTGTAAATGCCCAAAGCCGGTGGCC----- 1338
Fructobacillus TGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGTAATGCCCAAAGCCGGTGGCCTAACCT 1421
Oenococcus TGTACACACCGCCCGTCAAATCATGGGAGTCGGAAGTACCCAAAGTCGCTTGGCTAACTT 1423
Weissella GATAGTGAAC--CAGT---ACCGTGAGGGAAAGG----- 1114

-----
FSnh1.
FSnhA.
Granulicatella TTT--GGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAA 1489
Carnobacterium TTTTGGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGACAGATAAATGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAG 1520
Abiotrophia -----
Eremococcus -----
Aerococcus TTAT--GGAGCCAGCCGCGAAGGTGGGACAGATGATTGGGGNNNNNNNGTAACAAGNNNN 1516
Enterococcus TTTT--GGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTG----- 1485
Pediococcus TTTA--GGAGCTAGCCGCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAG 1541
Streptococcus TTTAGGAG----- 1460
Lactococcus CAAGGAGGGC--GCTTCTAAGGTAAGACCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAA 1508
Lactobacillus TTATAGGAGTCAAGCCGCTAAGGCAGGCAGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAG 1522
Leuconostoc -----
Fructobacillus TCGGGGAG--GAGCCGCTAAGGCAGGACTGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAG----- 1475
Oenococcus TTAG---AGGCCGGTGCCTAAGGTAATAATC----- 1450
Weissella -----

-----
FSnh1.
FSnhA.
Granulicatell CCGTAA----- 1495
Carnobacteriu CCGT----- 1524
Abiotrophia -----
Eremococcus -----
Aerococcus NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGATCACCTCCTTTCT 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 *Weissella* 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

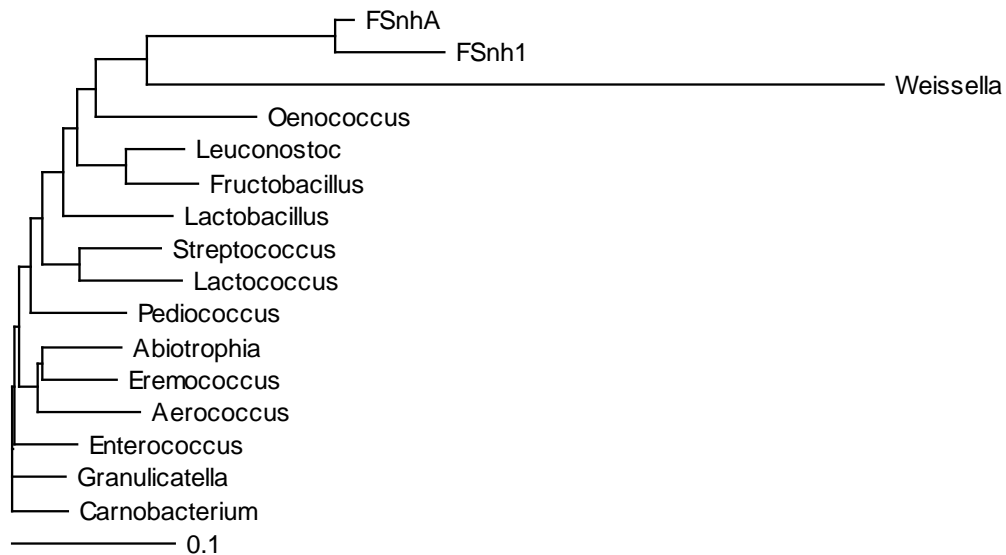
dengan isolat internasional dari spesies yang berbeda dalam genus *Lactobacillus* dari hasil tahap pertama. Hasil analisis pohon filogenetik tahap kedua menunjukkan bahwa isolat FSnh 1 memiliki skor tertinggi sebesar 75 dengan *Lactobacillus salivarius* ATCC 11741, sedangkan isolat FSnh A memiliki skor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

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

salivarius 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 delbruecki</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 delbruecki</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

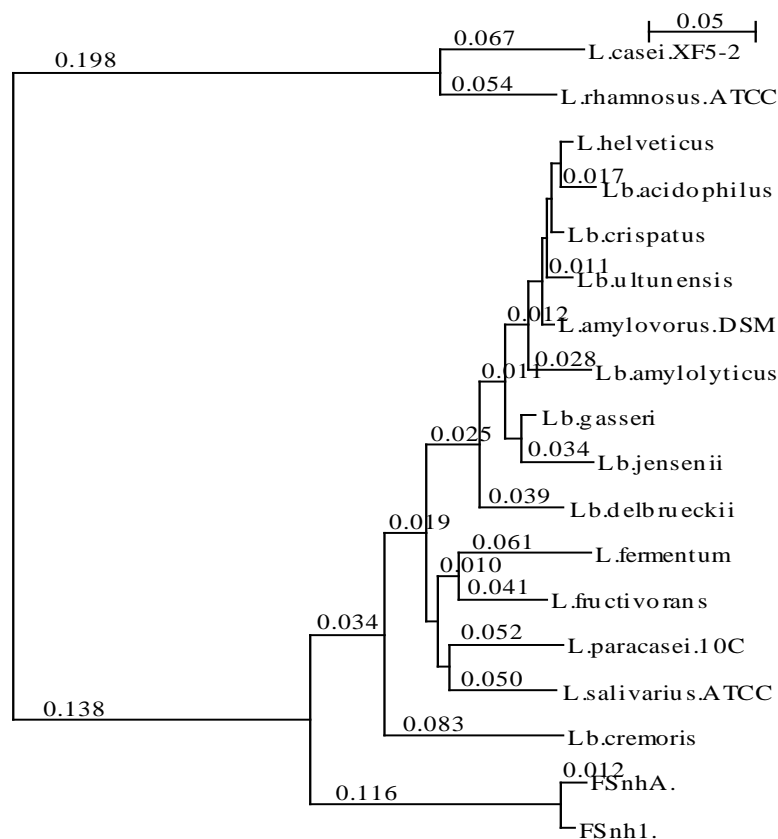


Gambar 3. Pohon filogenetik berdasarkan sekuen DNA pengkode 16S rRNA dari isolat bakteri asam laktat yang dibandingkan dengan sekuen DNA pengkode 16S rRNA bakteri asam laktat Genbank menggunakan program TREEVIE X.

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 ferrisitat, 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 α D-glukopiranososa, 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 salivarius* 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 Chaillou, 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 & Siswasetyahadi, 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. Amyolytic 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 Widyastuti. 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 salivarius* 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 procaryotes. *Current Opinion in Microbiol* **1**: 271-277.