

Viabilitas Probiotik Asal Fermentasi Maggot (*Hermetia illucens*) terhadap Suhu dan Lama Waktu Penyimpanan

Viability of Probiotics from Fermented Maggot (*Hermetia illucens*) on Temperature and Storage Time

SD Fitri¹, EB Laconi¹, RSH Martin^{1,2*}, Nahrowi^{1,2}, TA Utari¹, M Shofiah³, JE Nugroho⁴, A Rinaldy⁴, K Erlangga⁴

Corresponding email:
rimashm@apps.ipb.ac.id,

¹ Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga, Jawa Barat, Indonesia

² Pusat Studi Hewan Tropika (Centras), Institut Pertanian Bogor, Jl. Pajajaran Kampus IPB Baranangsiang, Jawa barat, Indonesia

³ SISKA Supporting Program, Jl. PHM Noor, Banjarmasin Barat, Banjarmasin, Kalimantan Selatan, Indonesia

⁴ Research and Development, PT. Bio Cycle Indo, Jl. Teratai Raya No. 33 A, Kampar, Riau, Indonesia

ABSTRACT

This study aimed to analyze the viability of probiotics from maggot fermentation under environmental influence i.e., temperature and storage time. The experimental design was a factorial completely randomized design (CRD) using storage time and temperature as factors with 4 replications. The storage time was 3 months with monthly observations while the storage temperatures observed were 4°C, 28°C, 38°C and 48°C. The parameters were physical quality, microbial population, total titrated acid (TTA), and antimicrobial activity. The results showed that probiotics from maggot fermentation were dominated by lactic acid bacteria. The pH of probiotics increased and physical quality changes occurred during storage. The yeast and actinomycete populations were not found during month 2 and month 3, respectively, while the population of *Bacillus* sp. decreased. There was an interaction between storage time and temperature on the population of lactic acid bacteria and TTA. Another interaction was found in the antimicrobial activity produced by probiotics/antibiotics and storage temperature in the third month of storage. Storage time and temperature influenced the physical quality of probiotics, the population of lactic acid bacteria and TTA, while the inhibition zone was influenced by the probiotic/antibiotic solution and storage temperature. It can be concluded that the highest viability of fermented maggot probiotics (LAB) was obtained in the 1st month at a temperature of 38°C.

Key words: maggot fermentation, probiotics, storage time, temperature, viability

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menganalisis viabilitas probiotik asal fermentasi maggot yang diberi pengaruh lingkungan khususnya suhu dan lama waktu penyimpanan. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial dengan faktor lama dan suhu penyimpanan dengan 4 ulangan. Lama penyimpanan dilakukan selama 3 bulan dengan pengamatan setiap bulannya sedangkan suhu penyimpanan yang diamati adalah 4°C, 28°C, 38°C dan 48°C. Peubah yang diamati yaitu kualitas fisik, populasi mikroba, total asam tertitrasi (TAT), dan zona hambat. Hasil penelitian menunjukkan probiotik asal fermentasi maggot didominasi oleh bakteri asam laktat. pH probiotik mengalami peningkatan dan terjadi perubahan kualitas fisik pada saat penyimpanan. Populasi khamir dan aktinomiset tidak ditemukan pada saat bulan 2 dan bulan 3 berturut-turut sedangkan populasi *Bacillus* sp. mengalami penurunan. Terdapat interaksi lama dan suhu penyimpanan pada populasi bakteri asam laktat dan TAT. Interaksi lainnya ditemukan pada zona hambat yang dihasilkan antara probiotik/antibiotik dan suhu penyimpanan pada bulan ketiga penyimpanan. Lama dan suhu penyimpanan mempengaruhi kualitas fisik probiotik, populasi bakteri asam laktat dan TAT sedangkan zona hambat dipengaruhi oleh larutan probiotik/antibiotik dan suhu penyimpanan. Simpulan dari penelitian ini adalah viabilitas tertinggi pada probiotik fermentasi maggot (BAL) didapatkan pada bulan ke 1 dengan suhu 38°C.

Kata kunci: fermentasi maggot, lama penyimpanan, probiotik, suhu, viabilitas

PENDAHULUAN

Pelarangan penggunaan *antibiotic growth promoter* (AGP) sebagai pemicu pertumbuhan di Indonesia sejak tahun 2019 menjadikan probiotik menjadi alternatif sebagai pemicu pertumbuhan. Probiotik mampu menjaga keseimbangan mikoflora usus dan mempermudah proses penyerapan nutrisi dengan meningkatkan konversi pakan sehingga mampu meningkatkan produktivitas ternak (Permadi et al. 2018). Pertumbuhan bakteri patogen dapat dihambat oleh senyawa antimikroba yang terkandung pada probiotik (Astuti et al. 2015). Penggunaan probiotik *single strain* dan probiotik *multi strain* sudah banyak digunakan oleh masyarakat. Namun, probiotik *multi strain* dianggap memiliki efektivitas yang lebih baik dibandingkan probiotik *multi strain* karena kandungannya lebih dari satu *strain* mikroba yang bekerja sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Widianingsih & Yunita 2018).

Maggot (*Hermetia illucens*) merupakan insekta yang berpotensi sebagai salah satu bahan probiotik karena memiliki kandungan asam lemak yang tinggi sehingga mampu memodulasi sistem imun tubuh karena memiliki kemampuan antimikroba. Selain itu, maggot memiliki berbagai *antimicrobial peptide* (AMP) yang dapat menghambat berbagai jenis patogen (Moretta et al. 2020). *Antimicrobial peptide* dapat membantu untuk meningkatkan kemampuan probiotik dalam melawan bakteri patogen. Beberapa bakteri yang berhasil diidentifikasi dari maggot, yaitu *Bacillus* sp., *Cellulomonas* sp., *Empedobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Gordonia* sp., *Kurthia* sp., *Microbacterium* sp., dan *Micrococcus* sp. (Zheng et al. 2013). Namun, jumlah mikroorganisme menguntungkan yang terbatas perlu dilakukan proses peningkatan jumlah mikroorganisme melalui proses fermentasi. Fermentasi maggot diharapkan menghasilkan bakteri yang menguntungkan saluran pencernaan sehingga dapat dijadikan probiotik untuk ternak.

Pemanfaatan probiotik asal fermentasi maggot perlu dilakukan pengujian awal untuk mengetahui kualitasnya. Kualitas yang mudah dilakukan terkait dengan kualitas fisik dan viabilitasnya, terutama pada saat penyimpanan. Suhu dan lama waktu simpan menjadi faktor yang memengaruhi stabilitas probiotik selama penyimpanan. Selama proses penyimpanan, terjadi penurunan kualitas pada probiotik yang ditunjukkan dengan perubahan kenampakan fisik maupun kimiawi (Murtiwulandari et al. 2020). Mikroba yang terkandung pada probiotik selama penyimpanan menjadi penentu sifat fungsional probiotik. Viabilitas didefinisikan sebagai ukuran konsentrasi sel yang bertahan di dalam probiotik pada saat diberikan perlakuan suhu dan lama simpan yang berbeda. Viabilitas yang stabil menunjukkan ketahanan yang baik terhadap pengaruh lingkungan (Lestari et al. 2019). Oleh sebab itu, pada penelitian ini dilakukan uji viabilitas probiotik yang diberi perlakuan masa simpan khususnya suhu dan lama waktu penyimpanan untuk

menganalisis stabilitas probiotik fermentasi maggot selama penyimpanan.

METODE

Persiapan Sampel Probiotik Asal Fermentasi Maggot

Probiotik asal fermentasi maggot diproduksi oleh PT. Bio Cycle Indo. Probiotik dilakukan persiapan sampel dengan dikemas ulang dari kemasan 5 L ke dalam botol kaca gelap berukuran 200 mL. Setiap sampel kemudian disimpan pada suhu berbeda sesuai dengan perlakuan. Kulkas disiapkan untuk menyimpan probiotik pada suhu 4°C sedangkan penyimpanan di suhu 28°C ditempatkan pada wadah yang disimpan di suhu ruang. Penyimpanan suhu 38°C dan 48°C dilakukan dengan menggunakan inkubator yang diatur suhunya sesuai dengan kebutuhan. Sampel kemudian disimpan pada tempat sesuai dengan perlakuan dan disimpan selama 3 bulan.

Pengujian Kualitas Fisik

Uji fisik yang dilakukan penelitian ini dilakukan untuk melihat kualitas fisik probiotik yang digunakan meliputi nilai pH, keberadaan endapan pada isolat probiotik, uji sensori (aroma dan warna).

Pengukuran pH

Pengukuran pH probiotik fermentasi maggot menggunakan indikator pH universal. Pengukuran pH dilakukan setiap bulan pada bulan ke-0, 1, 2, dan 3.

Uji sensori

Sebanyak 42 responden tidak terlatih, yang merupakan mahasiswa, melakukan uji sensori pada aroma, warna dan endapan pada probiotik fermentasi maggot. Kertas kuesioner diberikan kepada setiap responden untuk menilai skor pada sampel probiotik fermentasi maggot. Kategori aroma menyengat merupakan aroma sampel dengan aroma khas fermentasi sehingga mengeluarkan aroma asam segar, sedangkan aroma cukup menyengat merupakan aroma yang kurang tercium aroma khas fermentasi. Warna diukur dengan menggunakan ruang warna L^*a^*b . L^* merupakan nilai untuk level cahaya, a^* merupakan nilai untuk komponen hijau-merah, dan b^* merupakan nilai untuk komponen biru-kuning (Sinaga 2019).

Perhitungan populasi mikroba

Populasi mikroba sampel probiotik fermentasi maggot yang telah diberi perlakuan dihitung setiap bulannya. Metode pengujian yang digunakan yaitu metode *total plate count* (TPC) yang dilakukan sesuai dengan standar SNI 2897:2008 tentang metode pengujian cemaran mikroba dalam daging, telur dan susu, serta hasil olahannya. Populasi mikroba yang dihitung pada penelitian ini yaitu aktinomiset, *Bacillus* sp, bakteri asam laktat (BAL), dan khamir. Media yang digunakan untuk mengukur aktinomiset, *Bacillus* sp, BAL, dan khamir secara berturut-turut adalah *isolated soy protein* (ISP), *triptic soy agar* (TSA), dan *Man-Rogosa-Sharpe agar*

(MRSA) dan *potato dextrose agar* (PDA). Populasi mikroba dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{CFU mL}^{-1} = \frac{\text{Jumlah rata - rata koloni}}{\text{Volume inokulum x faktor pengencer}}$$

Pengujian Total Asam Tertitrasi (TAT)

Pengujian total asam dilakukan sesuai dengan standar AOAC (2005). Sebelum dilakukan pengujian, supernatant cairan probiotik diambil menggunakan sentrifuse. Supernatant probiotik sebanyak 10 mL diencerkan dengan akuades steril dengan rasio 1:10. Kemudian larutan sampel yang sudah diencerkan dititrasi dengan menggunakan larutan NaOH 0,1 N hingga mencapai titik akhir berwarna coklat kemerahan. Persentase asam dapat dilakukan dengan mengkonversi nilai total asam tertitrasi yang dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{TAT (\% Asam laktat)} = \frac{N \times V1 \times Eq. Wt}{V2 \times 10}$$

Keterangan:

- N = Normalitas titran (mol L⁻¹)
- V1 = Volume titran (mL)
- V2 = Volume sampel (mL)
- Eq.Wt = Berat equivalen asam (asam laktat = 90,8)

Pengujian Zona Hambat

Pengujian dilakukan sesuai dengan standar SNI 2987:2008 tentang metode pengujian cemaran mikroba dalam daging, telur dan susu, serta hasil olahannya. Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri *E. coli* yang merupakan salah satu bakteri patogen yang berada pada broiler. Pengujian dilakukan pada cawan petri, setiap cawan terdiri dari kontrol positif (antibiotik) dan perlakuan (cairan probiotik). Diameter zona hambat dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Diameter Zona Hambat} = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Keterangan:

- Dv = Diameter vertikal (mm)
- Dh = Diameter horizontal (mm)
- Dc = Diameter cakram (mm)

Analisis Data

Penelitian ini didesain menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari dua faktor, yaitu lama penyimpanan dan suhu penyimpanan dengan 4 ulangan. Lama penyimpanan diamati pada bulan 1, bulan 2 dan bulan 3 sedangkan pengamatan suhu penyimpanan dilakukan pada suhu 4°C, 28°C, 38°C dan 48°C. Data dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dengan *software* SPSS versi 25. Peubah yang memiliki pengaruh perlakuan berbeda nyata (p<0,05) akan dilakukan uji lanjut Duncan.

Tabel 1 Kandungan mikroba pada probiotik fermentasi maggot

Mikroba ¹	Total populasi (log CFU mL ⁻¹)
<i>Rhizobium</i>	6,76
<i>Azotobacter</i> sp.	8,16
<i>Bacillus</i> sp.	6,33
<i>Lactobacillus</i> sp.	6,53
Bakteri penambat nitrogen	7,56
Bakteri pelarut fosfat	3,00
Bakteri selulolitik	3,48
Baktei Cytophaga	5,23
Mikoriza	1,00
<i>Trichoderma</i> sp.	3,70
<i>Saccharomyces</i> sp.	3,64
Fungi selulolitik	3,53
Aktinomiset	5,00
<i>Streptomyces</i> sp.	6,01

¹Hasil analisis Laboratorium Tanah, Tanaman, Pupuk, Air, Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian tahun 2021

Peubah yang dianalisis secara deskriptif yaitu kualitas fisik (pH, aroma, keberadaan endapan, dan warna), populasi aktinomiset, dan populasi khamir. Peubah yang dianalisis secara statistik yaitu populasi *Bacillus* sp, populasi bakteri asam laktat (BAL), total asam tertitrasi (TAT), dan zona hambat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Probiotik pada penelitian ini merupakan probiotik *multi strain* yang terdiri dari beberapa jenis mikroba penghasil antibiotik sehingga perlu dianalisis untuk mengetahui mikroba yang terkandung di dalamnya. Hasil analisis diperlihatkan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1, mikroba penghasil antibiotik dianalisis kembali untuk mengetahui populasi awal sebelum diberikan perlakuan masa simpan. Hasil analisis mikroba pada bulan ke-0 diperlihatkan pada Tabel 2. Kondisi awal probiotik dianalisis kualitas fisik, populasi mikroba, total asam tertitrasi (TAT) dan zona hambatnya sebelum diberi perlakuan. total asam tertitra (TAT) yang dihasilkan oleh probiotik fermentasi maggot sebesar 47,53% dengan kemampuan zona hambat sebesar 10,80 mm pada skrining awal probiotik.

Tabel 2 Hasil analisis mikroba pada bulan ke-0 sebelum perlakuan

Mikroba ¹	Total populasi (log CFU mL ⁻¹)
Aktinomiset	1,06
<i>Bacillus</i> sp.	4,01
BAL	5,57
Khamir	2,78

¹Hasil analisis Laboratorium IPB Culture Collection

Tabel 3 Kualitas fisik probiotik selama penyimpanan

Kualitas fisik	Bulan ke-			
	0	1	2	3
pH	4,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00
Aroma	Menyengat	Menyengat	Cukup menyengat	Cukup menyengat
Endapan	Ada	Ada	Ada	Ada
Warna				
L	46,30	38,50	23,70	20,10
A	15,20	14,40	10,70	6,20
B	29,20	26,00	12,00	9,50

L: cahaya, a: komponen warna hijau-merah, b: komponen warna biru-kuning

Kualitas Fisik Probiotik Fermentasi Maggot

Hasil pengukuran kualitas fisik probiotik (pH, aroma, endapan dan warna) selama penyimpanan ditampilkan pada Tabel 3.

Berdasarkan pengukuran pH setiap bulannya, terjadi kenaikan pH pada bulan 0 ke bulan 1. Berdasarkan hasil sensori, pada bulan 0 dan bulan 1 sebanyak 16 responden (38,09%) memilih aroma yang menyengat, sedangkan pada bulan 2 sebanyak 17 responden (40,47%) memilih aroma cukup menyengat dan pada bulan 3 sebanyak 18 responden (42,85%) memilih aroma cukup menyengat. Berdasarkan hasil analisis, adanya perubahan aroma pada cairan probiotik fermentasi maggot terhadap lama waktu penyimpanan. Hasil ekskresi mikroba penghasil asam merupakan asam-asam organik yang menyebabkan sampel probiotik memiliki aroma asam fermentasi. Aroma fermentasi akan berkurang seiring lamanya waktu simpan hal ini karena populasi mikroba penghasil asam juga ikut berkurang. Keberadaan endapan pada larutan probiotik fermentasi maggot terjadi selama penyimpanan. Endapan diduga berasal dari mikroba jenis khamir yang memiliki morfologi lebih besar dan bobot yang lebih berat dibandingkan mikroba lain sehingga khamir lebih

cepat melakukan autoagregasi selama penyimpanan (Alkalbani *et al.* 2022). Selain itu, endapan diduga berasal dari molases yang terkandung pada probiotik fermentasi maggot dimana menurut penelitian yang dilakukan oleh Bhatti *et al.* (2019) terkait dampak dan kualitas dari penyimpanan molases dalam berbagai waktu, molases yang disimpan dalam waktu lama akan menghasilkan sedimen yang dapat meningkatkan efisiensi aktivitas khamir selama fermentasi.

Perubahan warna pada probiotik dapat menunjukkan adanya penurunan viabilitas (Rusdianto *et al.* 2020). Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, warna probiotik fermentasi maggot yang dipilih responden semakin gelap seiring berjalannya waktu. Kondisi awal produk probiotik fermentasi maggot pada pasca pengiriman memiliki warna coklat kekuningan. Selama penyimpanan berlangsung, probiotik fermentasi maggot mengalami perubahan warna menjadi coklat kehitaman. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3 bahwa masing-masing nilai L^*a^*b mengalami penurunan yang menandakan warna semakin gelap seiring berjalannya penyimpanan.

Adanya pembentukan pigmen berwarna coklat akibat reaksi pencoklatan non enzim menyebabkan terjadinya

Tabel 4 Pengaruh perlakuan penyimpanan terhadap populasi aktinomiset pada probiotik fermentasi maggot

Lama waktu simpan	Suhu				Rerata
	4°C	28°C	38°C	48°C	
----- Aktinomiset (log CFU mL ⁻¹) -----					
Bulan 1	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Bulan 2	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Bulan 3	TD	TD	TD	TD	
----- Bacillus sp. (log CFU mL ⁻¹) -----					
Bulan 1	5,00 ± 0,17	4,97 ± 0,25	4,78 ± 0,07	4,53 ± 0,57	4,82 ± 0,21 ^a
Bulan 2	3,05 ± 0,64	2,84 ± 0,68	2,75 ± 0,32	1,34 ± 0,40	2,49 ± 0,51 ^c
Bulan 3	4,37 ± 0,23	4,46 ± 0,36	4,49 ± 0,32	2,92 ± 2,21	4,06 ± 0,95 ^b
----- BAL (log CFU mL ⁻¹) -----					
Bulan 1	4,50 ± 0,08 ^{ab}	5,03 ± 0,48 ^{ab}	5,49 ± 1,63 ^a	4,12 ± 0,63 ^{ab}	4,61 ± 0,38
Bulan 2	4,29 ± 0,04 ^{ab}	4,77 ± 0,26 ^{ab}	4,67 ± 1,48 ^{ab}	2,66 ± 1,91 ^c	3,86 ± 0,88
Bulan 3	4,04 ± 0,21 ^{abc}	3,96 ± 0,11 ^{bc}	3,75 ± 0,66 ^{bc}	1,00 ± 0,00 ^d	3,60 ± 0,83
----- Khamir (log CFU mL ⁻¹) -----					
Bulan 1	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Bulan 2	TD	TD	TD	TD	-
Bulan 3	TD	TD	TD	TD	-

TD: tidak ditemukan. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada taraf 5% (uji selang Duncan). Angka-angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada taraf 5% (uji selang Duncan).

penurunan warna pada probiotik fermentasi maggot (de Oliveira *et al.* 2015). Penyimpanan probiotik fermentasi maggot selama satu bulan pada suhu ruang menunjukkan kualitas fisik yang baik.

Populasi Mikroba Probiotik

Total populasi mikroba pada saat perhitungan menggunakan metode *total plate count* (TPC). Hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 4.

Selama penyimpanan, terjadi penurunan populasi aktinomiset pada probiotik fermentasi maggot pada bulan-2 ke bulan-3. Hal ini kemungkinan disebabkan berkurangnya substrat pada probiotik fermentasi maggot. Substrat mengandung nutrisi yang membantu proses metabolisme mikroba sehingga menjadi salah satu faktor penentu pertumbuhan populasi mikroba (Budiyani *et al.* 2016). Akibat berkurangnya substrat, aktinomiset memasuki fase stasioner selama penyimpanan dua bulan pertama. Aktinomiset diduga memasuki fase kematian pada bulan ke-3 karena tidak terindikasi keberadaannya pada media pertumbuhan isolat aktinomiset dari probiotik fermentasi maggot. Fase stasioner terjadi apabila populasi sel hidup dan sel mati mencapai keseimbangan sehingga sel yang mati tidak lagi melakukan pertumbuhan. Fase kematian pada mikroba diduga karena nutrisi pada substrat sudah tidak mencukupi kebutuhan mikroba serta kondisi lingkungan yang tidak mendukung sel untuk bertahan hidup (Saraswati *et al.* 2021). Aktinomiset yang sudah mengalami fase kematian tidak bisa menghasilkan asam-asam organik sebagai senyawa antimikroba. Asam organik yang dihasilkan oleh aktinomiset yaitu asam sitrat, fumarate, glukonat, glutarat, glikolat, ketobutirat, malat, malonat, suksinat, dan tartrat (Utarti *et al.* 2021). Tefa *et al.* (2016) menyebutkan bahwa kandungan antibiotik yang dihasilkan aktinomiset yaitu *picromycin*, *erythromycin*, *spiramycin*, *oleandomycin*, dan *chalconmycin*.

Pada penelitian ini terdapat interaksi maupun perbedaan yang nyata pada perlakuan suhu, tetapi menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$) pada perlakuan lama waktu simpan terhadap populasi *Bacillus* sp. Nilai rerata populasi pada penyimpanan bulan ke-1 memiliki nilai paling tinggi yaitu $4,82 \pm 0,21$ log CFU ml⁻¹, sedangkan nilai terendah yaitu $2,49 \pm 0,51$ log CFU ml⁻¹.

1. Perbedaan nilai tersebut kemungkinan disebabkan karena fase lag yang terjadi pada *Bacillus* sp. cukup lama. Pertumbuhan mikroba terdiri dari empat fase, fase lag atau fase adaptasi, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian (Urnemi *et al.* 2016). Lamanya fase lag pada setiap bakteri berbeda tergantung kemampuan bakteri dalam beradaptasi dengan lingkungan baru. Fase lag dipengaruhi oleh media dan lingkungan pertumbuhan serta jumlah inokulum awal (Mardalena 2016). Tingginya penurunan jumlah populasi *Bacillus* sp. pada bulan ke-2 diduga karena sel bakteri masih berada dalam fase adaptasi dan tingkat pertumbuhannya belum optimal (Suharyono *et al.* 2012). Selain itu, berkurangnya ketersediaan nutrisi pada cairan probiotik fermentasi maggot seiring berjalannya waktu juga dapat memengaruhi populasi *Bacillus* sp. Penurunan populasi juga diduga kemungkinan adanya mikroba inhibitor yang memengaruhi populasi *Bacillus* sp (Widianingsih dan E.F. Yunita 2018). Menurut Rini *et al.* (2019), ketersediaan nutrisi dan keberadaan mikroba lain memengaruhi populasi mikroba khususnya *Bacillus* sp. *Bacillus* sp. digunakan sebagai salah satu mikroba penghasil antibiotik karena menghasilkan berbagai macam asam organik yaitu asam format, asam asetat, asam propionat, asam laktat, asam glikolat, asam fumarat, dan asam suksinat. Asam-asam organik tersebut akan menghasilkan bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Mukamto *et al.* 2015).

Pada penelitian ini terdapat interaksi antara suhu dan lama waktu penyimpanan terhadap populasi bakteri asam laktat (BAL). Populasi tertinggi BAL yaitu pada penyimpanan bulan ke-1 dengan suhu 38°C yaitu $5,49 \pm 1,63$ log CFU ml⁻¹ dan populasi terendah terdapat pada penyimpanan bulan ke-3 suhu 48°C yaitu $1,00 \pm 0,00$ log CFU ml⁻¹. Total populasi BAL selama penyimpanan mengalami penurunan mulai dari bulan ke-0 sampai bulan ke-3. Pertumbuhan BAL diawali pada fase adaptasi atau fase lag. Terjadi sintesis enzim oleh sel bakteri yang diperlukan untuk metabolisme metabolit pada fase lag. Setelah substrat yang diperlukan ketersediaannya berkurang, maka laju pertumbuhan BAL akan menurun (Ayuti *et al.* 2016). BAL akan melakukan proses metabolisme secara terus menerus yang dapat menyebabkan nutrisi pada probiotik fermentasi maggot

Tabel 5 Pengaruh perlakuan penyimpanan terhadap nilai total asam tertitrisasi pada probiotik fermentasi maggot

Lama waktu simpan	Suhu				Rerata
	4°C	28°C	38°C	48°C	
	-----%-----				
Bulan 1	44,22 ± 0,52 ^c	48,19 ± 0,77 ^b	52,57 ± 1,84 ^a	46,69 ± 1,44 ^{ab}	47,62 ± 3,59
Bulan 2	24,89 ± 0,52 ^e	26,93 ± 0,54 ^d	26,52 ± 0,27 ^{de}	25,16 ± 1,56 ^e	25,88 ± 0,90
Bulan 3	21,49 ± 0,67 ^f	27,16 ± 1,79 ^d	25,71 ± 0,55 ^{de}	27,45 ± 1,28 ^d	25,57 ± 2,52
Rerata	30,24 ± 11,77	34,19 ± 12,40	34,57 ± 15,20	33,00 ± 11,43	(+)

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada taraf 5% (uji selang Duncan)

berkurang (Danah *et al.* 2019). Suhu penyimpanan berpengaruh sangat nyata pada total populasi BAL selama tiga bulan. Probiotik fermentasi maggot yang disimpan pada suhu dingin memiliki jumlah populasi yang menurun stabil dibanding penyimpanan suhu lainnya. Hal ini disebabkan karena aktivitas BAL akan melambat pada suhu dingin (Pangestu *et al.* 2021). Probiotik yang disimpan pada suhu tinggi mengakibatkan penurunan yang tajam pada populasi BAL, khususnya pada penyimpanan suhu 48°C. Oktavia *et al.* (2015) menyatakan bahwa penyimpanan pada suhu tinggi menyebabkan proses metabolisme BAL terjadi lebih cepat sehingga BAL juga lebih cepat untuk memasuki fase kematian. Pangestu *et al.* (2021) menyatakan BAL dapat tumbuh pada suhu 5 - 45°C dengan suhu optimum pertumbuhannya 37°C.

Berdasarkan hasil perhitungan populasi khamir, selama penyimpanan dari bulan 0 sampai bulan ke-1, terjadi penurunan populasi khamir dari total populasi 2,78 log CFU ml⁻¹ menjadi 1,00 log CFU ml⁻¹. Hal ini disebabkan karena pengaruh substrat pada probiotik fermentasi maggot yang semakin menipis selama penyimpanan. Khamir memanfaatkan substrat pada media untuk memenuhi kebutuhan metabolismenya, sehingga semakin lama ketersediaan substrat akan berkurang (Hardianto *et al.* 2018). Selain itu, berkurangnya substrat pada probiotik kemungkinan disebabkan karena persaingan antarmikroba yang sama-sama memanfaatkan substrat tersebut. Penurunan populasi khamir juga disebabkan karena keberadaan aktinomiset yang bersifat antagonis pada khamir karena menghasilkan enzim kitinase yang merusak dinding sel khamir (Tefa *et al.* 2016). Kitin terdapat pada khamir dan berfungsi sebagai salah satu pembentuk dinding sel.

Total Asam Tertitrasi (TAT)

Pengukuran total asam tertitrasi (TAT) merupakan penentuan konsentrasi total asam yang terkandung dalam produk (Kamaluddin & Handayani 2018). Berikut merupakan hasil pengukuran total asam tertitrasi pada probiotik fermentasi maggot yang diberi perlakuan penyimpanan (Tabel 5).

Pada penelitian ini terdapat interaksi antara lama waktu simpan dengan suhu penyimpanan probiotik fermentasi maggot terhadap total asam dan hasil juga menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) pada perlakuan penyimpanan terhadap total asam probiotik fermentasi maggot. Nilai total asam tertitrasi yang dihasilkan probiotik fermentasi maggot yang diberi perlakuan masa simpan berkisar antara 21,49%-52,57%.

Nilai total asam terendah terdapat pada perlakuan penyimpanan bulan ke-3 dengan suhu 4°C, sedangkan nilai total asam tertinggi terdapat pada perlakuan penyimpanan pada bulan ke-1 dengan suhu 38°C. (Meilanie *et al.* 2018) menyatakan bahwa tingginya nilai total asam pada probiotik menunjukkan tingginya persentase asam terdisosiasi maupun tidak terdisosiasi yang dihasilkan oleh kultur mikroba penghasil asam pada probiotik fermentasi maggot. Nilai total asam yang berbeda pada setiap perlakuan diduga karena perbedaan jumlah populasi mikroba penghasil asam. BAL memproduksi asam laktat dengan cara memecah karbohidrat menjadi senyawa asam piruvat yang selanjutnya direduksi oleh NADH₂ sehingga memiliki nilai total asam (Sultana *et al.* 2020).

Suhu memengaruhi jumlah populasi mikroba. Perlakuan pada suhu 4°C setiap bulannya memiliki nilai total asam lebih rendah dibanding perlakuan suhu lainnya, hal ini diduga karena mikroba penghasil asam

Tabel 6 Pengaruh perlakuan larutan probiotik/antibiotik dan suhu terhadap zona hambat probiotik fermentasi maggot

Lama waktu simpan	Larutan	Perlakuan				Rerata
		4°C	28°C	38°C	48°C	
-----mm-----						
Bulan 1	Probiotik	13,50±1,29	12,25±0,50	14,50±1,29	12,50±2,08	13,19±1,02 ^b
	Amoxan	15,00±1,41	15,75±0,95	14,75±0,50	15,75±1,50	15,31±0,15 ^a
	Chloramphenicol	12,00±2,70	11,75±0,50	12,75±1,26	13,00±0,82	12,37±0,65 ^b
	Rerata	13,50±1,50	13,25±2,18	14,00±1,08	13,75±1,75	(-)
Bulan 2	Probiotik	10,50±1,91	12,25±1,26	12,75±1,50	12,75±1,50	12,06±1,07 ^c
	Amoxan	16,25±1,26	15,25±0,50	15,75±1,26	17,00±1,41	16,06±0,75 ^a
	Chloramphenicol	13,25±1,50	13,75±1,70	14,50±1,73	16,00±0,82	14,37±1,28 ^b
	Rerata	13,50±2,88	13,25±1,50	14,00±1,51	13,75±2,22	(-)
Bulan 3	Probiotik	10,50±1,29 ^e	11,50±1,29 ^{cde}	11,00±0,82 ^{de}	12,00±0,82 ^{cde}	11,25±0,64
	Amoxan	15,50±1,29 ^a	13,25±2,17 ^{abcd}	14,75±0,50 ^{ab}	12,00±1,15 ^{cde}	13,87±1,56
	Chloramphenicol	14,50±0,58 ^{ab}	13,75±2,98 ^{ab}	15,00±1,63 ^a	12,50±1,29 ^{bcde}	13,93±1,08
	Rerata	13,50±2,64	12,83±1,18	13,58±2,24	12,16±0,29	(+)

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada taraf 5% (uji selang Duncan). Superkrips yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada taraf 5% (uji selang Duncan)

mengalami fase dorman sehingga aktivitas menjadi terhambat sementara dan menghasilkan total asam yang lebih sedikit. Aktivitas metabolisme mikroba akan melambat jika berada pada suhu yang rendah dan menyebabkan adaptasi bakteri memerlukan waktu yang panjang terhadap lingkungannya dan menghambat pertumbuhan (Pangestu *et al.* 2021). Ayuti *et al.* (2016) juga menyatakan proses penyimpanan suhu rendah mengakibatkan metabolisme mikroba penghasil asam sangat lambat sehingga proses perombakan gula menjadi asam laktat juga sedikit. Semakin optimum pertumbuhan mikroba penghasil asam pada probiotik maggot maka semakin banyak asam laktat yang dihasilkan sebagai produk hasil metabolisme. Perlakuan lama waktu penyimpanan menunjukkan adanya penurunan total asam atau relatif tetap. Hal tersebut diduga karena pertumbuhan sel bakteri telah memasuki fase stasioner sehingga terjadi penurunan laju pertumbuhan bakteri yang mengakibatkan jumlah sel hidup sama dengan jumlah sel yang mati. Sel yang mati tidak mampu menghasilkan asam organik. Menipisnya nutriEN pada media dan cadangan energi pada mikroba juga dapat mengakibatkan menurunnya populasi (Mardalena 2016). Hasil ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Kusuma *et al.* (2020) tentang perbedaan lama waktu fermentasi minuman probiotik yang menyatakan bahwa semakin panjang waktu fermentasi, nilai total asam semakin menurun. Suhu penyimpanan, waktu penyimpanan, jenis dan jumlah starter merupakan faktor yang memengaruhi nilai total asam (Pertiwi *et al.* 2022).

Zona Hambat

Zona hambat menjadi salah satu karakteristik penting untuk mengevaluasi potensi probiotik. Hasil pengukuran diameter probiotik fermentasi maggot yang diberi perlakuan penyimpanan disajikan pada Tabel 6.

Rerata zona hambat probiotik fermentasi maggot selama penyimpanan tiga bulan menunjukkan adanya penurunan terhadap bakteri *E.coli*, hal ini dapat dilihat pada tabel bahwa nilai zona hambat pada penyimpanan bulan ke-1, bulan ke-2, dan bulan ke-3 masing-masing, yaitu $13,19 \pm 1,02$ mm, $12,06 \pm 1,07$ mm, dan $11,25 \pm 0,64$ mm. Kategori penghambatan antimikroba berdasarkan diameter zona hambat <5 mm sangat lemah, 5 - 10 mm lemah, 11-19 mm kuat, dan ≥ 20 mm sangat kuat (Pan *et al.* 2009). Berdasarkan hasil sidik ragam, penyimpanan probiotik fermentasi maggot bulan 1 dan 2 memiliki hasil yang signifikan dengan dua kontrol positif, tetapi tidak signifikan dengan suhu penyimpanan. Penyimpanan probiotik bulan 1 memiliki nilai diameter yang sama dengan diameter zona hambat antibiotik *chloramphenicol*. Hal ini menunjukkan bahwa antibiotik *chloramphenicol* dapat digantikan oleh probiotik fermentasi maggot yang disimpan dalam waktu satu bulan dengan kategori penghambatan kuat.

Penyimpanan bulan kedua probiotik fermentasi maggot tidak menunjukkan adanya interaksi serta hasil signifikan pada suhu penyimpanan, melainkan menunjukkan adanya signifikansi pada larutan uji. Nilai rerata zona hambat probiotik fermentasi maggot lebih kecil dibanding nilai larutan lainnya, namun masih dalam kategori respon penghambatan yang kuat. Oleh sebab itu, probiotik fermentasi maggot yang disimpan dalam waktu dua bulan masih dapat bekerja menghambat bakteri patogen.

Nilai zona hambat pada penyimpanan bulan ke-3 probiotik fermentasi maggot menunjukkan adanya interaksi antara suhu penyimpanan dengan larutan uji dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Diameter zona hambat tertinggi memiliki nilai $15,50 \pm 1,29$ mm pada larutan amoxan, sedangkan diameter zona hambat terendah memiliki nilai $10,50 \pm 1,29$ mm pada sampel probiotik. Hal ini disebabkan karena menurunnya kemampuan probiotik dalam menghambat bakteri patogen. Penurunan tersebut disebabkan karena menurunnya populasi mikroba penghasil antibiotik yang dipengaruhi oleh suhu dan lama waktu simpan sehingga senyawa antimikroba yang terkandung pada probiotik juga ikut menurun. Mirdalisa *et al.* (2016) menyatakan aktivitas mikroba dipengaruhi oleh suhu pertumbuhan dalam menghambat bakteri patogen sehingga senyawa organik yang berperan sebagai senyawa antibakteri juga ikut terpengaruh. Menurut Rahmah *et al.* (2017), daya hambat pada probiotik fermentasi maggot disebabkan karena jumlah mikroba penghasil antibiotik khususnya bakteri pada probiotik yang menghasilkan asam organik (asam laktat dan asam asetat). Penelitian yang dilakukan oleh (Widianingsih & Yunita 2018) terkait efektivitas probiotik *single* dan *multi strain* terhadap *E. Coli* menyatakan bahwa banyaknya jumlah bakteri yang terkandung pada cairan probiotik berkorelasi positif dengan kadar asam organik yang berperan sebagai senyawa antimikroba dan membentuk zona hambat.

Mekanisme kerja masing-masing larutan juga memengaruhi perbedaan diameter zona hambat. Probiotik fermentasi maggot mengandung aktinomiset, *Bacillus* sp, bakteri asam laktat (BAL), dan khamir yang menghasilkan senyawa organik seperti asam-asam organik, hydrogen peroksida, diasetil, dan bakteriosin (Ali *et al.* 2020). Metabolit tersebut bersama-sama menghambat terjadinya kolonisasi bakteri patogen (Saboori *et al.* 2022). Bakteriosin yang dihasilkan *Bacillus* sp. dan BAL bekerja dengan cara merusak permeabilitas membran pada bakteri patogen dan menghilangkan *proton motive force* (PMF). *Proton motive force* (PMF) berperan menjaga keseimbangan pH asam intraseluler (Widianingsih & Yunita 2018). Oleh karena itu, pertumbuhan bakteri *E. coli* terhambat dan akan menyebabkan kematian pada sel. Cara kerja antibiotik amoxan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu dengan menembus pori-pori membran

fosfolipid luar bakteri. Kemudian, senyawa flavonoid yang terkandung pada amoxan menyebabkan terjadinya denaturasi protein sehingga aktivitas metabolisme sel bakteri terhenti (Yuniar et al. 2020). *Chloramphenicol* bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri yang mengikat subunit 50s dari ribosom. Ikatan asam amino pada rantai peptida dapat diganggu *chloramphenicol* dengan menghambat enzim peptidil transferase sehingga sintesis protein terhambat dan pembentukan energi serta struktur bakteri yang berpengaruh terhadap perkembangan bakteri menurun (Santri et al. 2020). Amoxan dan *chloramphenicol* dipilih sebagai kontrol positif karena keduanya memiliki cara kerja dan sifat toksisitas yang berbeda. Amoxan bersifat membunuh bakteri (bakterisidal), sedangkan *chloramphenicol* bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) (Purnamaningsih et al. 2017). Hal tersebut terlihat pada cawan uji bahwa pada kontrol positif amoxan terbentuk zona bening terhadap bakteri *E. coli* yang berarti bahwa amoxan mampu membunuh bakteri *E. coli* sedangkan *chloramphenicol* hanya membentuk zona hambat. Oleh karena itu, probiotik fermentasi maggot memiliki sifat toksisitas yang sama dengan *chloramphenicol* karena hanya terbentuk zona hambat terhadap bakteri *E. Coli*.

SIMPULAN

Probiotik asal fermentasi maggot yang disimpan pada suhu ruang menunjukkan adanya perubahan secara fisik terutama pada warna dan aroma. Perlakuan lama waktu simpan dan suhu penyimpanan mempengaruhi total asam dan populasi bakteri asam laktat (BAL). Lama penyimpanan mempengaruhi populasi *Bacillus* sp. dan zona hambat probiotik asal fermentasi maggot. Penyimpanan pada bulan ke 1 dengan suhu 38°C menunjukkan viabilitas yang baik pada probiotik fermentasi maggot berupa BAL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini difasilitasi berupa pengadaan bahan penelitian dan pendanaan dari PT. Bio Cycle Indo.

DAFTAR PUSTAKA

Ali FS, Zayed G, Saad OAO & Gharib SAH. 2020. Antimicrobial activity and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented dairy products. *Journal of Modern Research*. 2(2):40-48. doi:10.21608/jmr.2020.22931.1015.

Alkalbani NS, Osaili TM, Al-Nabulsi AA, Olaimat AN, Liu SQ, Shah NP, Apostolopoulos V & Ayyash MM. 2022. Assessment of yeasts as potential probiotics: A review of gastrointestinal tract conditions and investigation methods. *Journal of Fungi*. 8(4):365-387. doi:10.3390/jof8040365.

AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis Maryland (US): AOAC International*.

Astuti FK, Busono W & Sjoftan O. 2015. Pengaruh penambahan probiotik cair dalam pakan terhadap penampilan produksi pada ayam pedaging. *Jurnal Pembangunan dan Alam Lestari*. 6(2):99-104.

Ayuti SR, Nurliana N, Yurliasni Y, Sugito S & Darmawi D. 2016. Dinamika pertumbuhan *Lactobacillus casei* dan karakteristik susu fermentasi berdasarkan suhu dan lama penyimpanan. *Jurnal Agripet*. 16(1):23-30. doi:10.17969/agripet.v16i1.3476.

Bhatti ZA, Rajput M-H, Maitlo G, Solangi ZA & Shaikh GS. 2019. Impact of storage time, rain and quality of molasses in the production of bioethanol. *Mehran University Research Journal of Engineering and Technology*. 38(4):1021-1032. doi:10.22581/muet1982.1904.14.

Budiyani NK, Soniari NN & Sutari NWS. 2016. Analisis kualitas larutan mikroorganisme lokal (MOL) bonggol pisang. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 5(1):63-72.

Danah I, Akhdia T & Sumarni S. 2019. Lama penyimpanan pada suhu rendah terhadap jumlah bakteri dan pH susu hasil pasteurisasi dalam kemasan. *Composite*. 1(1):49-54.

Hardianto, Muhibuddin A & Sektiono AW. 2018. Optimalisasi fosfat untuk meningkatkan pertumbuhan kerapatan populasi dan kemampuan antagonis *Saccharomyces cerevisiae* terhadap *Fusarium* sp. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 10(2):27-41. doi:10.32764/saintekbu.v10i2.206.

Kamaluddin MJN & Handayani MN. 2018. Pengaruh perbedaan jenis hidrokoloid terhadap karakteristik fruit leather pepaya. *EDUFORTECH*. 3(1):24-32. doi:10.17509/edufortech.v3i1.13542.

Kusuma GPAW, Nociantri KA & Pratiwi IDPK. 2020. Pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik fermented rice drink sebagai minuman probiotik dengan isolat *Lactobacillus* sp. F213. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 9(2):182-193. doi:10.24843/itepa.2020.v09.i02.p08.

Lestari D, Claudya T & Pramitasari R. 2019. Stabilitas mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314 terhadap pemanasan dan penyimpanan dalam selai buah nanas rendah gula. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 30(2):127-132. doi:10.6066/jtip.2019.30.2.127.

Lina L, Rusmiyanto E & Kurniatuhandi R. 2022. Khamir potensial probiotik hasil isolasi dari fermentasi jus jeruk siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*). *BIOLOGICA SAMUDRA*. 3(2):115-132. doi:10.33059/jbs.v3i2.4101.

Mardalena M. 2016. Fase pertumbuhan isolat bakteri asam laktat (BAL) tempoyak asal jambi yang disimpan pada suhu kamar. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 11(1):58-66. doi:10.31186/jspi.id.11.1.58-66.

Meilanie RT, Arief II & Taufik E. 2018. Karakteristik yoghurt probiotik dengan penambahan ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) selama penyimpanan suhu dingin. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 6(1):36-44. doi:10.29244/jipthp.6.1.36-44.

Mirdalisa CA, Zakaria Y & Nurliana. 2016. Efek suhu dan masa simpan terhadap aktivitas antimikroba susu fermentasi dengan *Lactobacillus casei*. *Jurnal Agripet*. 16(1):49-55. doi:10.17969/agripet.v16i1.3639.

Moretta A, Salvia R, Scieuzo C, Di Somma A, Vogel H, Pucci P, Sgambato A, Wolff M & Falabella P. 2020. A bioinformatic study of antimicrobial peptides identified in the black soldier fly (BSF) *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Scientific Report* 10(1):16875. doi:10.1038/s41598-020-74017-9.

Mukamto, Ulfah S, Mahalina W, Syauqi A, Istiqfaroh L & Trimulyono G. 2015. Isolasi dan karakterisasi *Bacillus* sp. pelarut fosfat dari rizhosfer tanaman leguminosae. *Sains dan Matematika*. 3(2):62-68.

Murtiwulandari M, Archery DTM, Haloho M, Kinasih R, Tanggara LHS, Hulu YH, Agaperesa K, Khristanti NW, Kristiyanto Y, Pamungkas SS & et al. 2020. Pengaruh suhu penyimpanan terhadap kualitas hasil panen komoditas Brassicaceae. *Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*. 11(2):135-143. doi:10.35891/tp.v11i2.2168.

- Oktavia HM, Kusumawati N & Kuswardani I. 2015. Pengaruh lama penyimpanan selama distribusi dan tingkat keasaman pada yoghurt murbei hitam (*Morus nigra* L.). *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi*. 14(1):22-30.
- de Oliveira ENA, da Costa Santos D, Gomes JP, Rocha APT & da Silva WP. 2015. Physicochemical stability of diet umbu-caja jams stored under ambient conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*. 39(1):70-79. doi:10.1111/jfpp.12209.
- Pangestu AD, Kurniawan K & Supriyadi S. 2021. Pengaruh variasi suhu dan lama penyimpanan terhadap viabilitas bakteri asam laktat (BAL) dan nilai pH yoghurt. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*. 3(2):231-236. doi:10.33084/bjmlt.v3i2.2169.
- Permadi A, Izza MA, Cahyo K & Kholif M Al. 2018. Penggunaan probiotik dalam budidaya ternak. *Jurnal Abadimas Adi Buana*. 2(1):5-10. doi:10.36456/abadimas.v2.i1.a1616.
- Pertiwi AF, Taufik E & Arief II. 2022. Karakteristik kefir susu sapi dengan penambahan ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 28(1):34-45. doi:10.18343/jipi.28.1.34.
- Purnamaningsih N, Kalor H & Atun S. 2017. Uji antibakteri ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 1129 dan *Staphylococcus aerus* ATCC 25963. *Jurnal Penelitian Saintek*. 22(2):140-147.
- Rahmah RPA, Bahar M & Harjono Y. 2017. Uji daya hambat filtrat zat metabolit *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara in vitro. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*. 5(1):34-41. doi:10.24252/bio.v5i1.3431.
- Rini AP, Nociantri KA & Hapsari NMI. 2019. Viabilitas *Lactobacillus* sp F213 pada berbagai minuman sari buah probiotik selama penyimpanan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 8(4):408-418. doi:10.24843/itepa.2019.v08.i04.p07.
- Rusdianto AS, Wiyono AE, Pratiwi R & Aprilia A. 2020. Effect of long storage on room temperature on changes of physicalchemical characteristics of frozen edamame, *Glycine max* (L). *Gontor AGROTECH Science Journal*. 6(3):603-630. doi:10.21111/agrotech.v6i3.4967.
- Saboori B, Shahidi F, Hedayati S & Javadmanesh A. 2022. Investigating the probiotic properties and antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from an Iranian fermented dairy product, kashk. *Foods*. 11(23):3904. doi:10.3390/foods11233904.
- Santri RA, Fadli Z & Risandriansyah R. 2020. Efek pemberian kombinasi obat herbal terstandar *Phyllanthus niruri* L. dengan chloramphenicol terhadap daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Islam*. 9(1):9-17. doi:10.33474/jki.v9i1.8862.
- Saraswati PW, Nociantri KA & Arihantana NMIH. 2021. Pola pertumbuhan *Lactobacillus* sp. F213 selama fermentasi pada sari buah terung belanda (*Solanum betaceum* Cav.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 10(4):621-633. doi:10.24843/itepa.2021.v10.i04.p08.
- Sinaga AS. 2019. Segmentasi ruang warna L*a*b. *Jurnal Mantik Penusa*. 3(1):43-46
- Suharyono, Rizal S, Nurainy F & Kurniadi M. 2012. Pertumbuhan *L. casei* pada berbagai lama fermentasi minuman sinbiotik dari ekstrak cincau hijau (*Premna oblongifolia* Merr). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 5(2):117-128.
- Sultana NN, Bintoro VP & Pramono YB. 2020. Total asam dan bakteri asam laktat salami daging kelinci dengan lama fermentasi yang berbeda. *Jurnal Teknologi Pangan*. 4(1):69-72.
- Tefa A, Widajati E, Syukur M & Giyanto. 2016. Aplikasi bakteri probiotik untuk meningkatkan mutu fisiologi dan kesehatan bibit cabai (*Capsicum annuum* L.). *Jurnal Agronomi Indonesia*. 44(2):176-182. doi:10.24831/jai.v44i2.13487.
- Urnemi, Syukur S, Purwati E, Ibrahim S & Jamsari. 2016. Potensi bakteri asam laktat sebagai kandidat probiotik antimikroba patogen asal fermentasi kakao varietas criollo. *Jurnal Riset Teknologi Industri*. 6(12):67-76. doi:10.26578/jrti.v6i12.1519.
- Utarti E, Alim SF, Setyati D & Sutoyo. 2021. Isolasi aktinomiset pelarut fosfat pada perakaran tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) asal Jember. *Journal of Biological Sciences*. 8(2):260-267. doi:10.24843/metamorfosa.2021.v08.i02.p09.
- Widianingsih M & Yunita EF. 2018. Efektivitas probiotik single dan multi strain terhadap *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 7(2):178-187. doi:10.23887/jst-undiksha.v7i2.13120.
- Yuniar HFA, Rahmawati & Rousdy DW. 2020. Efektivitas antimikroba buah lakum (*Cayratia trifolia* [L.] Domin) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus* sp. (L.10.3). *Protobiont*. 9(1):73-77. doi:10.26418/protobiont.v9i1.40719.
- Zheng L, Crippen TL, Holmes L, Singh B, Pimsler ML, Benbow ME, Tarone AM, Dowd S, Yu Z, Vanlaerhoven SL & et al. 2013. Bacteria mediate oviposition by the black soldier fly, *Hermetia illucens* (L.), (Diptera: Stratiomyidae). *Scientific Report*. 3(2563):1-8. doi:10.1038/srep02563.