

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Halofilik Ikan Talang (*Chorinemus* sp.) dari Aia Bangih Pasaman Barat

Mades Fifendy¹, Faradilla Rattriana² and Irdawati²

¹Jurusan Biologi Universitas Negeri Padang

²Jurusan Biologi Universitas Negeri Padang

³Jurusan Biologi Universitas Negeri Padang

email: madesfifendy@yahoo.co.id

ABSTRACT

Halophilic bacteria is microorganism that live in high salinity environments up to 30%. The bacteria can be found in foods preserved by salting like salted fish. Salted fish is preserved foods are processed by salting and drying. The bacteria that live and ruin salted fish are halophilic bacteria and heterotolerant bacteria like halobacterium, micrococcus, bacillus, pediococcus, pseudomonas and vibrio. This observation aims to determine type of halophilic bacteria found in talang fish. This is descriptive observation held January up to February 2015 in microbiology laboratory FMIPA UNP and Balai Veteriner Laboratory Bukittinggi. Research methods is cup statterplot methods. Sample is talang fish from Aia Bangih, West Pasaman. Based on observation found isolate halophilic bacteria. Its belong to gram positive like coccus. From both, the isolates not capable produce endospore. Talang fish from Aia Bangih, West Pasaman contain two isolate halophilic bacteria consist of a genus and two species.

Keywords : talang salted fish, halphilic bacteria, biochemical test

I. PENDAHULUAN

Indonesia yang merupakan negara kepulauan hampir dua per tiga wilayah berupa lautan mempunyai potensi besar untuk dikembangkan. Kekayaan laut yang besar, diantaranya adalah berbagai jenis ikan, udang-udangan, kerang-kerangan, dan alga uniseluler maupun multiseluler, dapat dimanfaatkan sebagai sumber pangan dan energi yang berlimpah. Laut adalah kumpulan air asin yang sangat banyak dan luas di permukaan bumi yang memisahkan atau menghubungkan suatu benua dengan benua lainnya dan satu pulau dengan pulau lainnya.

Ikan merupakan bahan makanan dan salah satu sumber protein hewani yang banyak dikonsumsi masyarakat, selain sebagai komoditi ekspor ikan juga mudah didapat dan harganya murah (Esti, 2000). Ikan segar dapat mengalami

kerusakan secara cepat setelah penangkapan, proses kerusakan atau kebusukan ini akan terjadi dalam 12 jam setelah proses penangkapan (Puspitasari, 2012).

Ikan cepat mengalami proses pembusukan, oleh sebab itu perlu dilakukan pengawetan pada ikan yang bertujuan untuk mencegah terjadinya kontaminasi dari mikroorganisme. Pengawetan pada ikan banyak dilakukan oleh semua lapisan masyarakat hampir diseluruh daerah pesisir pantai. Ada bermacam-macam cara pengawetan ikan, antara lain dengan cara penggaraman, pengeringan, pemindangan, perasapan, peragian, dan pendinginan ikan (Esti, 2000). Salah satu daerah pesisir yang melakukan pengawetan pada ikan ialah Aia Bangih Kabupaten Pasaman Barat.

Aia Bangih Kabupaten Pasaman Barat merupakan desa kecil yang dikelilingi

oleh pantai dan pulau-pulau., para nelayan disini banyak melakukan pengawetan pada ikan dengan cara penggaraman dan pengeringan. Proses pengawetan dengan penggaraman dan pengeringan membutuhkan waktu yang berbeda-beda setiap jenis ikannya, salah satunya seperti pada ikan talang.

Ikan talang (*Chorinemus* sp.) merupakan salah satu makanan yang diawetkan dengan penggaraman dan pengeringan. Ikan ini banyak digemari oleh masyarakat dan memiliki nilai jual yang tinggi. Pertama, ikan talang dibersihkan dari kotoran serta di buang isi perut dan selanjutnya ikan di cuci sampai bersih. Setelah itu, dilakukan proses perendaman dengan air garam selama 12 jam. Setelah proses perendaman selesai, ikan di jemur di bawah paparan cahaya matahari sampai ikan benar-benar kering (24 jam). Ikan yang sudah kering dapat dijual dan dikonsumsi oleh masyarakat, ikan ini dinamakan ikan asin.

Ikan asin adalah makanan awetan yang diolah dengan cara penggaraman dan pengeringan (Esti 2000). Dua kelompok bakteri yang mampu hidup dan merusak produk ikan asin yaitu kelompok bakteri halofilik seperti *Halobacterium*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Pediococcus*, *Alcaligenes* dan bakteri heterotoleran seperti *Streptococcus*, *Clostridium*, *Bacillus*, dan *Corynebacterium* (Salosa, 2013).

Bakteri Halofilik ditemukan pada tiga domain kehidupan: bakteri, archaea dan eukariot (Madigan, 2010). Bakteri halofilik merupakan kelompok mikroorganisme yang dapat hidup di lingkungan berkadar garam tinggi hingga 30% (Andriyani, 2005).

Adapun pengelompokan bakteri halofilik dibagi menjadi tiga golongan yaitu bakteri halofilik ringan, sedang dan ekstrim. Bakteri halofilik ringan tumbuh pada konsentrasi garam 2-5%, sedangkan bakteri halofilik sedang tumbuh pada konsentrasi 5-20%, dan bakteri halofilik ekstrem tumbuh pada konsentrasi 20-30%. Bakteri yang

bersifat halofilik diantaranya adalah *Halobacterium*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Pediococcus*, dan *Alcaligenes* (Fardiaz, 1992).

Penelitian mengenai bakteri halofilik, khususnya dari produk ikan dan daging masih jarang dilakukan. Kemampuan bakteri halofilik untuk beradaptasi terhadap interval salinitas yang luas (2%-30%) belum banyak diteliti oleh para ilmuwan (Ventosa, 1998). Jenis-jenis maupun karakteristik bakteri halofilik, khususnya dalam makanan yang diawetkan dengan penggaraman belum banyak diketahui (Vilhelmsson, 1996).

Berdasarkan hasil penelitian pada ikan asin pasar tradisional dan ikan asin supermarket Surakarta dari 14 jenis sampel ikan asin, mendapatkan 28 isolat bakteri halofilik dengan 8 genus (Andriyani, 2005). Penelitian Salosa (2013) pada ikan asin tenggiri di Kabupaten Sarmi Provinsi Papua, berhasil menemukan bakteri yang tergolong halotoleran dan halofilik.

Berdasarkan uraian diatas belum diteliti atau ditemukan bakteri halofilik pada ikan talang (*Chorinemus* sp.) dari Aia Bangih, Pasaman Barat, maka peneliti telah melakukan penelitian tentang "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Halofilik Ikan Talang (*Chorinemus* sp.) dari Aia Bangih, Pasaman Barat".

II. METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif, yaitu dengan mengisolasi dan mengidentifikasi jenis bakteri halofilik yang terdapat pada ikan talang (*Chorinemus* sp.) dari Aia Bangih, Pasaman Barat.

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari sampai bulan Februari 2015 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA UNP dan Laboratorium Mikrobiologi Balai Veteriner Bukit Tinggi. Sampel ikan di ambil di Aia Bangih Pasaman Barat.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator, autoklaf,

timbangan analitik, cawan petri, gelas objek dan kaca penutup, lampu spiritus, gelas ukur 100 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet ukur atau pipet tetes, Jarum ose, mikroskop, erlenmeyer, *drill glass*, alu dan lumpang, gunting, *Shaker*, pisau, kompor listrik, spatula, *blender*, *coloni counter*, kamera digital sebagai alat dokumentasi, sampel ikan asin (ikan asin talang), medium *Sea Water* (SW), NaCl, alkohol 70%, tisu, korek api, plastik, kertas koran, medium *phenol red broth*, kertas filter, aluminium foil, kertas label, glukosa, laktosa, H₂O₂, medium indol, manitol, kertas Pb asetat, plastik *wrapping* dan akuades.

Sampel ikan yang digunakan sebagai sumber isolat diperoleh dari pedagang ikan asin di Aia Bangih, Pasaman Barat. Ikan langsung diambil dari penjualnya. Ikan asin tersebut dihaluskan dengan *blender* sehingga berbentuk bubuk atau serpihan halus.

Media yang digunakan ialah media SW (*Sea Water*), media diperkaya dengan menambahkan NaCl (konsentrasi 15%) dan *yeast extract*.

Hasil inkubasi dari kultur diperkaya ditumbuhkan di medium SW-15 dengan penambahan *yeast extract* dan agar. Penumbuhan bakteri menggunakan metode cawan sebar (*spread plate*) dengan pengenceran bertingkat 10⁻⁴ dan 10⁻⁶, hal ini bertujuan untuk mendapatkan koloni bakteri yang terpisah ketika ditumbuhkan di medium. Suspensi bakteri yang telah ditumbuhkan di medium, diinkubasi selama 4 hari pada suhu 27°C hingga koloni bakteri halofilik tumbuh. Koloni bakteri yang tumbuh dengan warna berbeda, diambil satu ose dan ditanam kembali di cawan untuk dimurnikan menggunakan metode *streak kuadran* dengan teknik *douplo*.

Koloni bakteri yang tumbuh terpisah pada medium cawan diamati kemudian diambil dengan ose steril dan ditumbuhkan di medium agar miring dalam tabung reaksi untuk disimpan sebagai stok kultur. Satu kultur murni merupakan satu isolat bakteri halofilik.

Setiap isolat bakteri halofilik diberi kode untuk penamaan awal.

Biakan bakteri halofilik dari biakan padat diinokulasikan pada kaca objek steril yang telah diberi setetes akuades steril. Biakan tersebut diratakan sehingga terbentuk lapisan tipis. Kemudian lapisan bakteri tersebut difiksasi dengan melewati kaca objek di atas nyala bunsen beberapa kali dan dibiarkan dingin. Selanjutnya, larutan dari pewarnaan diteteskan pada kaca objek untuk semua larutan dan terakhir diamati dibawah mikroskop. Bakteri Gram positif akan berwarna ungu sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah (Hadioetomo, 1993).

Uji ini digunakan untuk mengetahui spora pada bakteri halofilik. Metode yang digunakan adalah metode *Schaeffer-Fulton* yaitu olesan bakteri dari biakan murni difiksasi pada kaca obyektif steril, digenangi dengan *malachite green* 5% dan dipanas uapkan selama 5 menit (sampai uap terlihat). Setelah 5 menit, kaca objek didinginkan kemudian dibersihkan dengan air mengalir. Olesan bakteri digenangi dengan safranin selama 1 menit dan dicuci dengan air mengalir. Kaca objek dikeringkan tanpa pamasan, kemudian diamati di bawah mikroskop. Warna spora adalah hijau atau tampak refraktil (Hadioetomo, 1993).

Identifikasi Isolat Bakteri Halofilik

Koloni bakteri yang tumbuh setelah masa inkubasi dan sudah menjadi kultur murni diidentifikasi. Proses identifikasi dilakukan dengan mengetahui karakter bakteri yang tumbuh. Karakter tersebut meliputi karakter morfologi koloni sel, dan karakter fisiologis (Hans, 1988). Pengamatan morfologi meliputi bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni bakteri dan uji katalase. Pengamatan secara mikroskopis dengan pengamatan hasil pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, dan uji biokimia.

Data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif dengan mengamati morfologi koloni bakteri (bentuk makroskopis),

pewarnaan Gram, endospora (bentuk mikroskopis), uji biokimia dan identifikasi sampai tingkat genus pada bakteri halofilik Ikan Talang (*Chorinemus* sp.) dari Aia Bangih, Pasaman Barat.

III. Hasil dan Pembahasan

Hasil isolasi bakteri halofilik ikan talang dari Aia Bangih didapatkan dua isolat bakteri halofilik. Semua isolat bakteri halofilik menunjukkan karakteristik morfologi yang sama. Menurut Hidayat (2006) ada tiga bentuk dasar bakteri, yaitu bentuk bulat atau *kokus*, bentuk batang atau silindris, bentuk lengkung atau *vibri* dan menurut Hadioetomo (1993) hasil isolasi koloni bakteri dapat dibedakan dari bentuk koloni, tepian, elevasi, dan warna koloni bakteri. Hasil isolasi dan karakterisasi bakteri halofilik ikan talang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik morfologi isolat bakteri halofilik

No	Isolat	Bentuk koloni	Tepian koloni	Elevasi koloni	Warna koloni
1	IT.A ₁	Bundar	Tak beraturan	Timbul	Putih
2	IT.B ₂	Bundar	Tak beraturan	Timbul	Putih

Keterangan :

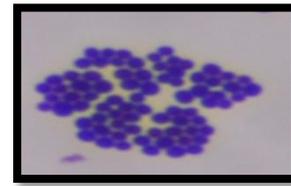
IT = sampel ikan talang

IT.A₁ = sampel ikan (isolat 1)

IT.B₂ = sampel ikan (isolat 2)

Hasil isolasi dari ikan talang didapatkan dua isolat bakteri halofilik. Isolat tersebut tergolong ke dalam bakteri Gram positif dengan bentuk sel vegetatif coccus (gambar 5). Penelitian Andriyani (2005), di pasar tradisional dan supermarket Surakarta memperoleh 28 isolat bakteri halofilik yang tergolong bakteri Gram positif dan Gram negatif. Beberapa diantaranya memiliki bentuk sel vegetatif *bacil*, *coccus* dan *Coccobacillus*. Salosa (2013), juga menyatakannya bahwa bakteri yang terisolasi dari sampel ikan asin tenggiri ialah jenis bakteri halofilik atau halotoleran.

Bakteri Gram positif ketebalan dinding selnya terdiri atas beberapa lapis peptidoglikan dan senyawa non peptidoglikan yang dapat menyusun sampai 50% dari berat kering dinding sel. Senyawa peptidoglikan tersebut adalah asam teikoat, asam teukuronat polisakarida, asam lipotekoat, glikolipid, dan asam mikolat. Bakteri Gram positif membran terluarnya disusun oleh peptidoglikan, hasil pewarnaan Gram menghasilkan warna biru keunguan (Purwoko, 2009).



Gambar 1. Isolat bakteri halofilik (Gram positif)

Sumber : Koleksi Pribadi (2015)

Tabel 2. Pewarnaan isolat bakteri halofilik

No	Isolat	Pewarnaan Gram	Pewarnaan Endospora
1	IT.A ₁	(+)	Tidak ada
2	IT.B ₂	(+)	Tidak ada

Keterangan :

IT.A₁ = sampel ikan (isolat 1)

IT.B₂ = sampel ikan (isolat 2)

(+) = Gram positif

(-) = Gram negatif

Berdasarkan hasil uji dari pewarnaan endospora, isolat bakteri halofilik ikan talang dari Aia Bangih, Pasaman Barat tidak menghasilkan endospora. Bakteri yang termasuk genus ini yang berbentuk kokus dengan ukuran 0,7 – 0,9 µm, bersifat gram positif, tidak membentuk spora, non motil, bersifat aerobik maupun anaerobik fakultatif dan homofermentatif (Frazier dan Westhoff, 1988; Wibowo dan Ristanto, 1988). Endospora dapat ditemukan pada bagian ujung sel vegetatif (terminal), Sentral, subterminal, dan *swollen sporangium* (Willey, 2008).

Beberapa spora ada juga yang sudah lepas dari sel vegetatifnya. Hal ini bisa

saja terjadi karena kesalahan dalam melakukan pewarnaan. Endospora hanya ada pada beberapa selnya saja dan endospora terdapat pada bakteri yang tubuhnya berdingding tebal, sangat refraktif, dan sangat resisten, dihasilkan oleh semua spesies *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Sporosarcina* (Pelczar, 2005).

Uji biokimia merupakan tahapan lanjutan yang diperlukan untuk mengidentifikasi suatu bakteri. Uji biokimia yang dilakukan ialah uji Blood agar, Warna koloni, Gram, Aerob/anaerob, Gas, H₂S (hidrogen sulfida), katalase, Oksidasi, Mortilitas, Indol, Urea, Citrat, Laktosa, Glukosa, Sukrosa, Mannitol, MR, VP, OF, Nitrat, Gelatin dan Morfologi. Lihat Tabel 3.

Tabel 3. Identifikasi dan Uji Biokimia Isolat Bakteri halofilik

No	Karakter	IT.A ₁	IT.B ₂
1	Warna koloni	putih	putih
2	Gram	+	+
3	Gas H ₂ S	-	-
4	Katalase	+	+
5	Mortilitas	-	-
6	Indol	-	-
7	Sitrat	-	-
8	Methyl Red (MR)	+	-
9	Voges Proskauer (VP)	+	+
10	Oksidasi Fermentasi (OF)	-	-
11	Nitrat	-	-
12	Gelatin	-	-
13	Morfologi	Coccus	Coccus

Keterangan :

IT.A₁ = isolat sampel ikan (isolat 1)

IT.B₁ = isolat sampel ikan (isolat 2)

(+) = positif

(-) = negatif

Berdasarkan tabel 3 dapat dilihat persamaan dan perbedaan yang terjadi pada uji biokimia masing-masing isolat bakteri halofilik. Semua uji biokimia memiliki hasil yang sama pada masing-masing isolat kecuali pada uji MR, dimana isolat IT.A₁ menunjukkan hasil

positif dan isolat IT.B₂ menunjukkan hasil negatif. Dari hasil tersebut dapat ditentukan bahwa kedua isolat bakteri halofilik merupakan golongan bakteri yang terdiri dari satu genus tetapi berbeda spesies. Jika diperhatikan isolat murni bakteri halofilik juga memiliki bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni yang sama.

Hasil uji biokimia yang telah dilakukan dari 2 isolat bakteri halofilik didapatkan genus *Micrococcus* yang terdiri dari 2 spesies. Bakteri yang didapatkan ialah *Micrococcus* sp1 dan *Micrococcus* sp2. Isolat bakteri halofilik IT.A₁ ialah bakteri *Micrococcus* sp1 dan isolat IT.B₂ ialah bakteri *Micrococcus* sp2.

Bakteri *Micrococcus* merupakan salah satu bakteri yang dapat tumbuh pada ikan asin, hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah faktor lingkungan. Ikan asin akan mudah terkontaminasi oleh bakteri pengkontaminan lainnya saat proses pengeringan, karena dalam proses pengeringan ikan dijemur dengan memanfaatkan cahaya matahari di ruangan terbuka sehingga tidak menutup kemungkinan untuk terkontaminasi oleh bakteri dan lainnya.

Kerusakan ikan dan produk-produk ikan termasuk ikan asin disebabkan terutama oleh bakteri pembusuk. Tanda-tanda kerusakan yang disebabkan oleh pertumbuhan bakteri pembusuk pada ikan asin adalah bau busuk yang menyengat,

dihinggapi banyak lalat, tekstur daging ikan lembek, dan rasanya tidak enak. Bau busuk yang menyengat disebabkan oleh perubahan yang dilakukan oleh bakteri pembusuk seperti NH₃ dan kadaverin. Protein yang terkandung didalam daging ikan setelah mengalami kerusakan akan mengakibatkan bau busuk yang spesifik. Tahap kerusakan protein akan mulai setelah kontaminasi bakteri pada ikan tersebut, selanjutnya protein menghasilkan NH₃ dan H₂S dengan bantuan peptida, asam amino bebas dan vitamin (Kuswanto dan Sudarmadji, 1989).

Rinto dkk (2009), menyatakan bahwa beberapa jenis bakteri penyebab terjadinya kerusakan ikan asin di Indonesia adalah bakteri halofilik seperti *Halobacterium*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Pediococcus*, *Alcaligenes* dan bakteri heterotoleran seperti *Halococcus morbucae*, *Halomonas* sp, dan *Staphylococcus* sp.

Penelitian Yusra dkk (2014) pada isolasi dan identifikasi mikroflora *Indigenous* dalam budu dari Kabupaten Padang Pariaman dan Pasaman Barat, mendapatkan sebanyak 138 koloni bakteri yang secara morfologi dan biokimia dikelompokkan ke dalam dua genus yakni *Bacillus* dan *Micrococcus*. Berdasarkan uraian dari hasil penelitian tersebut, dapat dilihat bahwa bakteri *Micrococcus* merupakan bakteri yang dapat tumbuh pada ikan asin dan ikan basah. Untuk lebih jelas lihat Tabel 4.

IV. Kesimpulan

1. Didapatkan dua isolat bakteri halofilik dari sampel ikan talang Aia Bangih, Pasaman Barat. Isolat bakteri halofilik tergolong kedalam bakteri Gram positif dengan bentuk sel coccus dan tidak terdapat spora.
2. Dua isolat bakteri halofilik tergolong dalam satu genus dan terdiri dari dua spesies yaitu genus *Micrococcus* (*Micrococcus* sp 1 dan *Micrococcus* sp 2).

Disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut dan pengujian sifat patogen dari bakteri *Micrococcus* sp 1 dan *Micrococcus* sp 2 yang terdapat di ikan talang Aia Bangih, Pasaman Barat.

REFERENSI

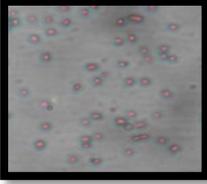
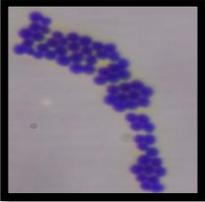
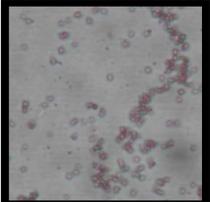
- Andriyani, D. 2005. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Halofilik Dari Ikan Asin. *Skripsi*. Surakarta. Universitas Sebelas Maret.
- Esti, dan A. Sediadi. 2000. Ikan Asin Cara Penggaraman Basah. *Pusat*

Informasi Wanita dalam Pembangunan. PDII, LIPI.

Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Frazier, W.C. and Westhof, D.C. 1988. *Food Microbiology*. Singapore: McGraw Hill Book Company.

Tabel 4. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Halofilik Ikan Talang (*Chorinemus* Sp.) dari Aia Bangih Pasaman Barat.

No	Isolat	Pewarnaan Gram	Pewarnaan Endospora
1	 IT.A ₁	 Gram Positif	 Tidak ada endospora
2	 IT.B ₂	 Gram Positif	 Tidak ada endospora

Hadioetomo. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia.

Hans, Z. 1988. *Microbiology Principles and Exploration Fourth Ed*. New Jersey: Prentice Hall International Inc.

Kuswanto, K.P., dan S. Slamet. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada..

Pelczar, M.J., and E. C. S. Chan. (1986). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Terjemahan oleh Hadioetomo, dkk. 2005. Jakarta: UI Press.

Purwoko, T. 2009. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.

Puspitasari, S.A.P. 2012. *Pengawetan Suhu Rendah Pada Ikan dan Daging. Skripsi*. Semarang: Univeritas Diponegoro.

Rinto, E., Arafah, S.B. Utama. 2009. Kajian Keamanan Pangan (formalin, garam dan mikrobia) pada ikan sepat asin produksi Indaralaya. *Jurnal Pembangunan Manusia*.Vol. 8(II).

Salosa, dan Y. Yenni. 2013. Uji Kadar Formalin, Kadar Garam dan Total Bakteri Ikan Asin AsinTenggiri Asal Kabupaten Sarmi Provinsi Papua. *Jurnal Biologi*. Depik. Vol. 2(I).

Ventosa, A., Nietto, J.J. dan Oren, A. 1998. Biology of Moderately Halphilic Aerobic Bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62.

Vilhelmsson, O., Hafsteinsson, H., dan Kristjansson, J.K.. 1996. Isolation and Characterization of Moderately Halophilic Bacteria from Fully Cured Salted Cod (Bachalao). J.

Appl. Bacteriology. Vol. 81(I): 95-103.

Willey, J. M., L.M. Sherwood, C.J. Woolverton. 2008. *Prescott's Principles of Microbiology*. New York: McGraw-Hill Higher Education.

Yusra, F., Azima, Novelina, dan Periadnadi. 2014. Isolasi Dan Identifikasi Mikroflora *Indigenous* dalam Budu. *Jurnal Biologi. Agritech*. Vol. 34 (III).