

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Penghasil Asam Glutamat dari Ikan Budu sebagai Feed Suplemen Ayam Broiler

Isolation of Lactic Acid Bacteria (LAB) for Glutamate Acid-Producing from Budu Fish as Feed Supplement of Broiler Chicken

V. Maslami^{1*}, Y. Marlida², Mirnawati², Jamsari³, dan Y. S. Nur²

¹Program Pascasarjana Universitas Andalas

²Fakultas Peternakan Universitas Andalas

³Fakultas Pertanian Universitas Andalas

Kampus Unand Limau Manis, Padang, Indonesia, 25163

*E-mail: veramaslami@gmail.com

(Diterima: 16 Oktober 2017; Disetujui: 5 Desember 2017)

ABSTRAK

Asam glutamat merupakan asam amino *building blocks* asam amino lainnya dan neurotransmitter pembentuk citra rasa. Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah salah satu mikroorganisme penghasil asam glutamat yang banyak terdapat pada produk fermentasi. Ikan budu merupakan fermentasi ikan Tenggiri (*Scomberomorus guttatus*) dan Talang-Talang (*Chorinemus lyson L*) yang diproduksi di daerah pesisir Kabupaten Padang Pariaman. Pada penelitian ini dilakukan tiga tahap. Tahap 1: isolasi BAL yang berasal dari fermentasi ikan budu. Tahap 2: seleksi kualitatif dan kuantitatif BAL penghasil asam glutamat. Tahap 3: karakterisasi BAL penghasil asam glutamat. Hasil yang diperoleh terdapat 17 isolat BAL yang kemudian diseleksi secara kualitatif menggunakan *thin layer chromatographic* yang direndam dalam campuran pelarut n-butanol, asam asetat dan air (4:1:1 v/v) terdapat 16 yang dapat menghasilkan asam glutamat. Setelah dilakukan seleksi kualitatif selanjutnya dilakukan seleksi kuantitatif dengan *spectrophotometer* panjang gelombang 570 nm. Produksi asam glutamat yang tertinggi terdapat pada isolate IB.9 dengan produksi 13.03 mg/ml. Isolate dan IB.9 yang paling tinggi dalam menghasilkan asam glutamat dikarakteristik yang berpedoman *Bergey's manual of systemic bacteriology* merupakan genus *Lactobacillus sp*. Penelitian ini dapat disimpulkan terdapat isolat BAL IB.9 (*Lactobacillus sp*) yang berpotensi dalam menghasilkan asam glutamat dengan produksi 13.03 mg/ml.

Kata kunci: asam glutamat, ayam broiler, BAL, ikan Budu, fermentasi

ABSTRACT

Glutamate acid is the amino acid building blocks of other amino acids and neurotransmitters forming the image of taste. Lactic Acid Bacteria (LAB) is one of the glutamate acid-producing microorganisms are widely found in fermented products. Budu fish is fermented mackerel (Scomberomorus guttatus) and Talang-Talang (Chorinemus Lyson L) produced in coastal areas Padang Pariaman. The study consisted of three stages. Stage 1: LAB isolation from fermented Ikan Budu. Stage 2: Qualitative and quantitative selection of LAB which producing glutamate acid. Stage 3: Characterization the best LAB in producing acid glutamate. The results are obtained 17 isolates of LAB were then selected qualitatively using TLC (thin layer chromatographic) were immersed in a solvent mixture of n-butanol, acetic acid and water (4:1:1 v/v) that 16 isolates of LAB producing glutamate acid. After the selection is the performed qualitative and quantitative selection with spectrophotometer was measured at 570 nm. Highest Glutamate acid production is isolated IB.9 13.03 mg/ml. The characterization of two isolates and IB.9 highest in producing glutamate acid reference to Bergey's manual of systemic bacteriology as the genus Lactobacillus sp. Based on the characterization, the 2 isolates were Lactobacillus sp. The conclusion from this study is there isolates IB.9 (Lactobacillus sp) which potential to produce glutamate acid with the production of 13.03 mg/ml.

Keywords: budu fish, broiler chicken, fermentation, glutamic acid, LAB

PENDAHULUAN

Ayam broiler merupakan salah satu ternak penghasil daging yang cukup potensial dalam memenuhi kebutuhan masyarakat akan protein hewani. Hal ini disebabkan daging ayam broiler relatif murah dan mudah didapatkan dibandingkan protein hewani lainnya. Dilihat dari perkembangannya ternak ayam broiler di Indonesia terus meningkat tiap tahunnya. Menurut Dirjen Peternakan (2015) populasi ayam broiler di Indonesia pada tahun 2015 mencapai 1.498 juta ekor, meningkat sekitar 27,13% dari populasi lima tahun sebelumnya 1.178 juta ekor. Tingginya populasi ternak ayam harus ditunjang dengan kualitas karkas ayam broiler yang baik, karena masyarakat sudah sangat memperhatikan tentang kualitas daging yang dipilihnya. Masyarakat tentu akan memilih daging yang mempunyai kualitas baik sesuai dengan biaya yang dikeluarkan.

Menurut Kasih (2012) karkas ayam broiler mempunyai tekstur daging yang lunak dengan kandungan lemak yang lebih tinggi dibanding dengan ayam buras. Tesktur daging yang lunak pada ayam broiler menyebabkan memar merah pada karkas yang dijual dipasaran, sehingga mempengaruhi permintaan konsumen. Selain itu, karkas ayam broiler mengalami penurunan cita rasa akibat adanya rekayasa genetika (Fujimura *et al.*, 2001). Penurunan kualitas karkas ayam broiler menyebabkan banyak konsumen yang beralih pada ayam buras. Hal ini dikarenakan daging ayam kampung memiliki aroma yang spesifik dan rasanya yang lebih gurih dibandingkan dengan produk olahan ayam broiler (Aman, 2011).

Untuk meningkatkan kualitas karkas ayam broiler perlu dilakukan perbaikan kandungan gizi pakan. Salah satunya dengan menambahkan asam glutamat pada pakan ayam broiler. Asam glutamat merupakan asam amino non esensial, yang berfungsi sebagai *Building Blocks* asam amino, substrat dalam sintesis protein, sebagai prekursor glutamin (Gln) dan sebagai neurotransmitter

(Young and Ajami 2000; Pierre-Andre and Yves, 2004). Selanjutnya, menurut Fujimura *et al.* (2001) fungsi lain dari asam glutamat adalah neurotransmiter untuk cita rasa dimana asam glutamat sebagai satu dari lima selera dasar: umami, yang mencakup selera lezat, umami dan gurih (Lawrie and Ledward, 2006). Ditambahkan Kato dan Nishimura (1987); Fujimura *et al.* (1996) komponen utama rasa dalam daging, dan merupakan salah satu asam amino terpenting yang meningkatkan rasa daging.

Pemberian asam glutamat pada ayam broiler telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Menurut Berres *et al.* (2010); Ajinomoto (2007) pemberian asam glutamat pada ayam broiler menurunkan lemak abdomen, memperbaiki testur daging dengan mengurangi memar merah pada karkas dan meningkatkan kandungan protein daging. Ditambahkan Fujimura *et al.* (2001) pemberian 0.75 % asam glutamat dari kebutuhan dalam ransum meningkatkan asam glutamat bebas dalam otot, dan meningkatkan rasa umami daging yang diberikan asam glutamat secara *ad libitum* (Imanari *et al.*, 2004). Penambahan asam glutamat pada ransum ayam broiler selain memperbaiki kualitas karkas juga dapat meningkatkan laju pembentukan jaringan ikat selama periode pertumbuhan, sehingga meningkatkan bobot badan ayam broiler (Zhang *et al.*, 2008).

Sejumlah penelitian tentang produksi asam glutamat dari mikroorganisme telah banyak dilakukan. BAL merupakan salah satu bakteri gram positif yang menghasilkan asam glutamat dinilai ramah lingkungan yang dikenal dengan baik penghasil berbagai metabolit primer. Keberadaan gen *GDH* yang bertanggung jawab untuk memproduksi asam glutamat yang menjadi kelebihan BAL dari mikroba lainnya (Sano, 2009). BAL yang dapat menghasilkan asam glutamat diantaranya; *Lactobacillus plantarum* MNZ (Zerean *et al.*, 2012), *Bacillus* (Lawal *et al.*, 2011), *Lactobacillus* (Zalan *et al.*, 2010), *Lactobacillus strains* (Terek and Mostafa, 2010). Mencari sumber-sumber mikro-

organisme BAL produktif menghasilkan asam glutamat adalah langkah yang paling memungkinkan untuk dilakukan.

Sumatera Barat memiliki banyak sumber-sumber pangan fermentasi salah satunya adalah ikan Budu. Ikan Budu merupakan produk fermentasi ikan tenggiri (*Scomberomorus guttatus*) dan Talang-Talang (*Chorinemus lyson L*) yang diproduksi di daerah pesisir Kabupaten Padang Pariaman, Agam dan Pasaman (Yusra *et al.*, 2014). Pada produk fermentasi ikan Budu ini ditemukan bakteri genus *Bacillus* dan *Micrococcus* (*Bacillus sphaericus*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pantothenicus* dan *Micrococcus lactis*) (Yusra *et al.*, 2014). Selanjutnya, keanekaragaman jenis BAL tersebut perlu dieksplorasi sifat-sifat dan potensinya sebagai penghasil asam glutamat.

METODE

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Ikan Budu

Isolasi BAL dari pangan fermentasi menggunakan metode Adnan dan Tan (2007). Sampel di homogenizer dalam 0,85% NaCl dan dinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam dalam kondisi an-aerob. Untuk membedakan BAL dengan bakteri lainnya, 2 % CaCO₃ ditambahkan pada MRS agar yang mengandung 10% NaCl. Koloni yang terbentuk dengan adanya zona bening BAL. Skrining BAL penghasil asam glutamate

Skrining BAL Penghasil Asam Glutamat

Semua isolat BAL dilakukan seleksi kualitatif dan kuantitatif dalam menghasilkan asam glutamat. Seleksi dimulai dengan cara menambahkan 6 % glukosa dan 30 µg biotin pada MRS cair dan dinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C dalam kondisi an aerob (Zareian *et al.*, 2012). Medium fermentasi disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 20 menit. Seleksi kualitatif dengan menggunakan *thin layer chromatography plates* (TLC). Supernatan yang telah di setrifugase diteteskan pada TLC dan rendam

dalam campuran pelarut n-butanol, asam asetat dan air (4:1:1 v/v) untuk fase gerak. TLC dikeringkan, lalu semprot dengan 0,2% (w/v) *ninhidrin*, kemudian dipanaskan pada suhu 110°C selama 3 menit. Bintik dan warna nilai RF dibandingkan dengan standar asam glutamat (Ogbadu *et al.*, 1990).

Penentuan asam glutamat secara kuantitatif menggunakan metode Spies (1957) yang dimodifikasi Lawal *et al.* (2011). Menggunakan reaksi warna ninhidrin dan absorbansi yang diukur pada 570 nm. Sampel setiap aliquot dari media fermentasi, diambil 1 ml dan ditambahkan ke 1 ml reagen ninhidrin 0,1 % yang dilarutkan dalam etanol. Campuran dipanaskan dalam *water bath* selama 5 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Absorbansi larutan yang telah berubah warna dibaca menggunakan spektrofotometer 570 nm. Kandungan asam glutamat dalam sampel ditentukan dengan mengacu pada kurva standar konsentrasi asam glutamat.

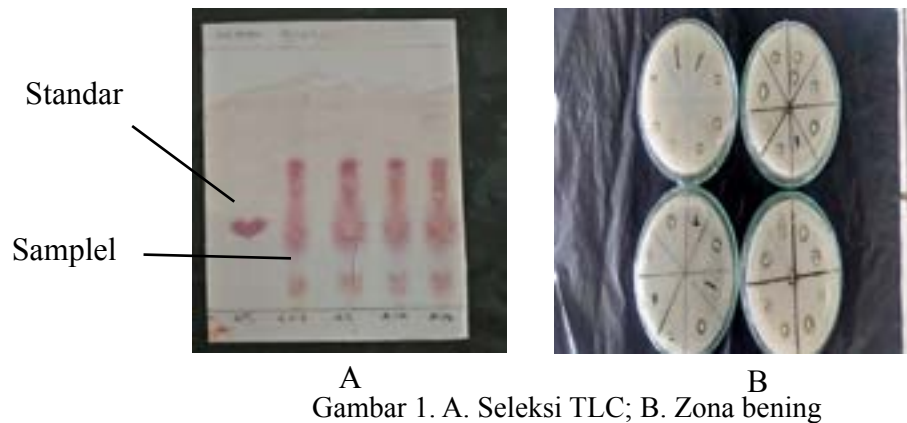
Identifikasi BAL terpilih penghasil asam glutamat

Isolat yang di isolasi sebagai BAL dikarakterisasi secara biokimia sesuai prosedur Collins dan Lyne (1976) dan Gordon *et al.* (1973). Tes yang digunakan adalah; pewarnaan Gram, katalase, oksidase, mortilitas, laktosa, glukosa, mannitol, VP, OF, arginine, aesculin, arabinose, raffinose, sorbitol, trehalase, maltose, melezitosis dan nitrat. Hasil yang diperoleh dicocokkan pada petunjuk *Bergey Bakteriologi Sistemik* (Sneath *et al.*, 1986).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Seleksi BAL penghasil Asam Glutamat dari Ikan Budu

Pada penelitian ini menggunakan fermentasi ikan budu yang diambil dari daerah Padang Pariaman Provinsi Sumatera Barat. Isolasi BAL dilakukan pada media MRS broth di inkubasi selama 7 hari. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 17 isolat BAL yang dilihat dari zona bening di



Gambar 1. A. Seleksi TLC; B. Zona bening

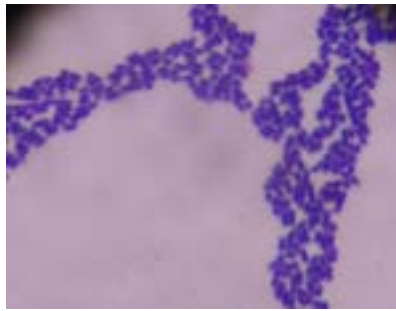
Tabel 1. Seleksi kualitatif dan kuantitatif BAL Penghasil Asam Glutamat.

Isolat	Seleksi BAL Penghasil Asam Glutamat	
	Kualitatif	Kuantitatif (mg/ml)
IB.1	+	8.86
IB.2	+	8.75
IB.3	+	8.69
IB.4	+	8.75
IB.5	+	8.36
IB.6	+	7.53
IB.7	+	12.36
IB.8	+	3.53
IB.9	+	13.03
IB.10	+	3.19
IB.11	+	8.36
IB.12	+	7.19
IB.13	-	-
IB.14	+	3.25
IB.15	+	9.36
IB.16	+	6.81
IB.17	+	7.31

sekitar media MRS agar yang ditambahkan 2% CaCO_3 . Isolasi BAL berdasarkan zona bening dapat dilihat pada Gambar 1. Setelah dilakukan seleksi BAL kemudian dilakukan seleksi BAL penghasil asam glutamat dengan menggunakan MRS Broth yang ditambah 0.3 μg biotin dan 12% glukosa sebagai inducer yang diinkubasi selama 72 jam. Penelitian ini didapatkan 17 isolat BAL berdasarkan zona bening asam glutamat dapat dilihat pada Gambar 1. Isolat BAL yang terisolasi diseleksi untuk menghasilkan asam glutamat secara kualitatif dengan menggunakan TLC dan kuantitatif dengan *spectrophotometer* panjang gelombang 570 nm didapatkan

16 isolat yang dapat menghasilkan asam glutamat. Isolat BAL penghasil asam glutamat seleksi secara kualitatif dan kuantitatif dari ikan budu disajikan pada Tabel 1.

Produksi asam glutamat tertinggi terdapat pada isolat BAL isolat IB.9 dengan produksi 13.03 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa isolat IB.9 berpotensi dalam menghasilkan asam glutamat dibandingkan dengan isolat lainnya. Perbedaan produksi asam glutamat tiap isolat disebabkan karena perbedaan kemampuan setiap strain BAL. Menurut Kiboem *et al.* (2001) setiap isolat *Lactobacillus* mempunyai kemampuan



Gambar 2. Morphologi Isolat BAL IB.9 ikan Budu perbesaran 1000 x.

Tabel 2. Karakteristik Isolat BAL asal Ikan Budu.

No	Perlakuan	Koloni Yang Diproses
		IB.9
1	Caloni (warna, bentuk)	Putih, <i>Bacil</i>
2	Gram	+
3	Aerob/anaerob	Aerob
4	TSIA	Kuning
5	Gas	-
6	Catalase	-
7	Oksidase	-
8	Mortalits	-
9	Laktosa	+
10	Glukosa	+
11	Mannitol	+
12	MR	-
13	VP	-
14	OF	-
15	KCN	-
16	Arginin	+
17	Aeaculin	+
18	Arabinose	-
19	Raffinose	+
20	Sorbitol	+
21	Trehalase	+
22	Maltose	+
23	Melezitose	+
24	Nitrat	-
Keterangan		<i>Lactobacillus Sp</i>

berbeda dalam memanfaatkan nutrisi pada media sehingga menghasilkan asam amino berbeda termasuk asam glutamat. Produksi asam glutamat yang dihasilkan oleh isolat IB.9 ini lebih tinggi dibandingkan produksi asam glutamat yang dilaporkan oleh Lawal *et al.* (2011) produksi asam glutamat dari *Bacillus spp.* 8.3 mg/ml, Zareian *et al.* (2012) dengan produksi 489 $\mu\text{mol/L}$ dari *Lactobacillus*

plantarum dan Tarek and Mustafa (2010) dengan produksi asam glutamat 68,7 mg/L.

Karakteristik BAL

Karakteristik BAL penghasil asam glutamat dilakukan pada isolat tertinggi dalam menghasilkan asam glutamat. Tabel 2 terlihat bahwa isolat IB.9 yang ditemukan merupakan *Lactobacillus sp.* Setiap isolat mempunyai kemampuan berbeda dalam

menyerap sumber karbon dan menghasilkan asam. Sumber karbon yang digunakan adalah: laktosa, glukosa, mannitol, VP, OF, arginin, aesculin, arabinose, raffinose, sorbitol, trehalase, maltose, melexitose dan nitrat. Kemampuan isolat dalam menyerap karbohidrat merujuk pada karakteristik dan metabolisme *Lactobacillus* yang berpedoman pada *Bergey's manual of systemic bacteriology* (Sneath *et al.*, 1986).

Pewarnaan gram pada isolat IB.9 berwarna ungu yang menunjukkan bahwa isolat bersifat gram positif (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan pendapat Ray (2001) yang menyatakan bahwa prinsip pewarnaan gram yaitu kemampuan dinding sel mengikat zat warna dasar (kristal violet) setelah pencucian dengan alkohol 95%. Keadaan ini berhubungan dengan komposisi senyawa penyusun dinding sel. Pada bakteri gram positif mengandung peptidoglikan lebih banyak dan lemak lebih sedikit dibandingkan bakteri gram negatif. Hal ini sesuai dengan pendapat Zareian *et al.* (2012) bahwa sebagian besar asam glutamat diproduksi oleh bakteri gram positif yang tidak membentuk spora, non-motil, dan membutuhkan biotin untuk tumbuh. Isolat IB.9 menunjukkan hasil negatif dalam pembentukan gas, hal ini sesuai dengan pendapat Purwohadisantoso *et al.* (2009) yang menyebutkan bahwa tidak terbentuknya gas sehingga menunjukkan bahwa isolat merupakan BAL homofermentatif.

Berdasarkan karakterisasi pada Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa isolat IB.9 merupakan *Lactobacillus sp.* Dengan ciri-ciri yaitu isolat bakteri berwarna putih susu dan memiliki sel berbentuk batang (*bacil*). Hal ini sesuai dengan pendapat Menurut Cullimore (2000) *Lactobacillus* memiliki sel yang berbentuk panjang, batang silinder (kadang-kadang melengkung) sedang yang lain pendek, sering berbentuk *coryne* atau batang bulat. Selnya juga sering membentuk rantai. Metabolismenya adalah metabolisme fermentatif dengan merubah setidaknya 50% karbon menjadi asam laktat. Identifikasi BAL penghasil asam glutamat dilakukan pada isolat

tertinggi dalam menghasilkan asam glutamat (Tabel 2).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat 17 isolat BAL dan terdapat 16 isolat yang dapat menghasilkan asam glutamat. Isolat tertinggi menghasilkan asam glutamat terdapat pada isolat IB.9 dengan produksi 13.03 mg/ml. Dua isolat isolat tertinggi IB.9 menghasilkan asam glutamat kemudian dikarakteristik sebagai *Lactobacillus sp* dengan negatif katalase dan oksidase, dapat mensintesis glukosa, laktosa, dan mannitol.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih saya sampaikan kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah mendukung penelitian ini dalam Program Pendidikan Magister Menuju Doktor (PMDSU).

DAFTAR PUSTAKA

- Ajinomoto Animal Nutrition. 2007. Influence of Glutamic Acid on Broiler Carcass Quality.
- Aman, Y. 2011. Ayam Kampung Unggul. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Berres, J.S.L., Vieira, W.A. Dozier III, M.E.M. Cortês, R. de Barros, E.T. Nogueira and M. Kutschenko. 2010. Broiler responses to reduced-protein diets supplemented with valine, isoleucine, glycine, and glutamic acid. Poultry Science Association, Inc. Vol. 19 :68–79.
- Collins, C.H. and D.M. Lyne. 1976. Microbiological method. pp. 238-253.
- Cullimore, R.D. 2000. Principal Atlas For Bacterial Identification. Lewis Publisher. United States of America.

- Direktorat Jenderal Peternakan. 2015. Statistik Peternakan. Direktorat Jenderal Peternakan, Jakarta.
- Fujimura, S., H. Koga, H. Takeda, N. Tone, M. Kadowaki and T. Ishibashi. 1996. Role of taste-active components, glutamic acid, 5'-inosinic acid and potassium ion in taste of chicken meat extract. *Animal Science and Technology* 67, 423–429.
- Fujimura, S., F. Sakai and M. Kadowaki. 2001. Effect of restricted feeding before marketing on taste active components of broiler chickens. *Journal of Animal Science* 72: 223–229.
- Gordon, R.E., W.C. Haynes and C.H. Pang. 1973. The genus *Bacillus*. Washington DC. US department of agriculture. Agricultural Handbook. Hal.42.
- Imanari, M., Kadowaki and Fujimura. 2004. Regulation of taste-active components of meat by dietary branched-chain amino acids. *Proc.50th int/ cong. Meat Sci. Technol* : 1276-1277.
- Kasih, N.S. 2012. Pengaruh Lama Penyimpanan Daging Ayam Segar Dalam Refrigerator Terhadap pH, Susut Masak, dan Organoleptik. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Islam Kalimantan Muhammad Aryad Al Banjary. Banjarmasin.
- Kato, H. and T. Nishimura. 1987. Taste components and condition of beef, pork and chicken. In: Kawamura Y, Kare RM (eds), *Umami, A Basic Taste*, pp. 289–306. Marcel Dekker, New York. Kong SE, Hall JC
- Kiboem, L., J. Lee, Y.H. Kim, S.H. Moon and Y.H. Park. 2001. Unique properties of four *Lactobacillus* in amino acid production and symbiotic mixed culture for lactic acid biosynthesis. *Gun. Microb.* Vol 43 : 123-131.
- Kondoh, T., H.N. Mallick and K. Torii. 2009. Activation of the gut-brain axis by dietary glutamate and physiologic significance in energy homeostasis. *Am. J. Clin. Nutr.* Vol: 90, 832S–837S.
- Lawal, A.K., B.A. Oso, A.I. Sanni and O.O. Olatunji. 2011. L-Glutamic acid production by *Bacillus* spp. Isolated from vegetable proteins. *African Journal of Biotechnology* . 10: 5337-5345.
- Lawrie, R. and D.H. Ledward. 2006. *Lawrie's Meat Science*, 7th edn. Woodhead, Cambridge. assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresour. Technol.* 2007, 98, 1380–1385.
- Ogbadu, L. J., Okagbue, R. N, and Ahmed, A. A. 1990. Glutamic acid production by *Bacillus* isolates from fermented vegetable proteins. *J. Microbiol.* 6: 377-382.
- Pierre-Andre, G. and M. Yves. 2004. *Amino Acids: Beyond the Building Blocks* Poult. Sci 83:650-657.
- Purwohadisantoso, K., E. Zubaidah and T. Saparianti. 2009. Isolation of lactic acid bacteria from cabbage and their potential inhibition to pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* and *Salmonella thypimurium*). *Jurnal Teknologi Pertanian* 10(1): 19-27.
- Ray, B. 2001. *Dasar-dasar Mikrobiologi Pangan*. Diterjemahkan oleh Rindit Pambayun dan Rahmat Hari Purnomo. Jurusan Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
- Sano, C. 2009. History of glutamate production. *Am. J. Clin. Nutr.* 90, 728S–732S.
- Sneath, P.H.A., Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt. 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*; Williams and Wilkins ; Baltimore. MD. USA.
- Spies, J. R. 1957. Colorimetric procedures for amino acids methods in *Enzymology*. 3: 468-471
- Tarek, M. El-Nemr and H.E. Mostafa. 2010. Screening Of potensial infans *Lactobacili* isolat for amino acids

- production. Alexandria. African Journal Of Microbiology research vol. 4 (4), pp. 226-232.
- Winarno, F.G. 1990. Teknologi Fermentasi. Proyek Pengembangan Pusat Fasilitas bersama . Antar Universitas, PAU Pangan dan Gizi, UGM, Yogyakarta.
- Winarno, F.G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Young, J.F., A.H. Karlsson and P. Henckel. 2004. Waterholding capacity in chicken breast muscle is enhanced by pyruvate and reduced by creatine supplements. Poultry Science 83: 400–405.
- Young, V.R. and A.M. Ajami. 2000. Glutamate: an amino acid of particular distinction. Journal of Nutrition. Vol .130: 892S–900S.
- Yusra, A. Fauza, Novelina, dan Periadnadi. 2014. Isolasi dan identifikasi mikroflora indigenous dalam budu. Agritech : 34
- Zalan, Z., J. Hudacek, J. Stetina, and J. Chumchalova. 2010, Production of organic acids by *Lactobacillus strains* in three different media. Eur. Food Res. Technol. 230, 395–404.
- Zhang, G.Q., Q.G. Ma and C. Ji. 2008. Effects of dietary inosinic acid on carcass characteristics, meat quality, and deposition of inosinic acid in broilers. Poultry Sci
- Zareian, M., A. Ebrahimpour, F.A. Bakar, A.K.S. Mohamed, B. Forghani, M.S.B. Ab-Kadir and N. Saari. 2012. A glutamic acid-producing lactic acid bacteria isolated from Malaysian Fermented foods. International Journal of Molecular Sciences.