



ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI PANGAN FERMENTASI CINCALOK SEBAGAI PENGHASIL γ -AMINOBUTYRIC ACID

**Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Fermented Food
Cincalok as Producer of γ -Aminobutyric Acid**

Adhitya Naufal Pribadhi*, Endang Kusdiyantini, Rejeki Siti Ferniah

Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH Tembalang, Semarang - 50275, Indonesia

*Email: adhityanaufal7@gmail.com

ABSTRACT

Cincalok is a fermented food originating from West Kalimantan. This study aimed to obtain lactic acid bacterial isolates (LAB) capable of producing γ -aminobutyric acid (GABA), to characterize the LAB isolates obtained, and to obtain GABA by the Thin Layer Chromatography (TLC) method. Bacterial growth and GABA production was carried out by adding 5% MSG and without MSG, and measured spectrophotometrically. In this study, 4 LAB bacterial isolates were obtained which were coded CIN-1, CIN-2, CIN-3, and CIN-4. GABA identification of all the LAB isolates using TLC Silica Gel 60 F254 with butanol: acetic acid: distilled water (5: 3: 2) as eluent yielded Rf 0.61 and Rf MSG 0.38. The highest growth was achieved by isolate CIN-3 with an absorbance of 1.488 (at 48 hour) in non-MSG medium, while the addition of 5% MSG resulted in an absorbance of 1.631 (at 42 hour). GABA production was achieved by isolate CIN-3 with 5% MSG treatment with a concentration of 201.472 mM and without MSG with a concentration of 171.195 mM.

Keywords: cincalok, GABA, lactic acid bacteria, MSG, thin layer chromatography

ABSTRAK

Cincalok merupakan pangan fermentasi yang berasal dari Kalimantan Barat. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri asam laktat (BAL) yang mampu menghasilkan γ -aminobutyric acid (GABA), melakukan karakterisasi isolat BAL yang diperoleh dan dapat diperoleh GABA dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pertumbuhan bakteri dan produksi GABA dilakukan dengan penambahan MSG 5% dan tanpa MSG, dan diukur menggunakan spektrofotometer. Dalam penelitian ini diperoleh 4 isolat bakteri BAL yang diberi kode CIN-1, CIN-2, CIN-3, dan CIN-4. Identifikasi GABA dari semua isolat BAL tersebut menggunakan KLT Silica Gel 60 F254 dengan eluen butanol: asam asetat: aquades (5: 3: 2), menghasilkan Rf 0,61 dan Rf MSG 0,38. Pertumbuhan tertinggi terjadi pada isolat CIN-3 non MSG dengan absorbansi 1,488 (jam ke-48), sedangkan dengan penambahan MSG 5% menghasilkan absorbansi 1,631 (jam ke-42). Produksi GABA dicapai isolat CIN-3 dengan perlakuan MSG 5% dengan konsentrasi 201.472 mM dan tanpa MSG dengan konsentrasi 171,195 mM.

Kata Kunci: bakteri asam laktat, cincalok, GABA, kromatografi lapis tipis, MSG

PENDAHULUAN

Pangan fermentasi di Indonesia sangat beragam, seperti tempoyak (Mardalena 2016) dadih (Afriani 2010), bekasam (Desniar et al. 2011). Pangan fermentasi dari Kalimantan Barat yaitu cincalok memiliki komposisi yaitu udang rebon, dicampur gula dan garam dengan perbandingan tertentu serta disimpan dalam waktu yang tertentu. Formula cincalok yang digunakan dengan perbandingan komposisi antara udang, gula, garam dan serbuk bawang sebesar 20 : 4 : 1 : 1. Hasil penelitian yang telah dilakukan Dyastuti et al. (2013) terhadap pangan fermentasi cincalok yang telah diuji perhitungan mikroanya menunjukkan keberadaan bakteri asam laktat (BAL). BAL yang diperoleh merupakan genus *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Enterococcus*.

Salah satu mikroba yang berperan pada fermentasi pangan adalah BAL. Bakteri ini termasuk kelompok bakteri yang menghasilkan asam laktat dari fermentasi gula atau karbohidrat dan biasanya dimanfaatkan dalam berbagai industri. Bakteri ini memiliki manfaat, yaitu mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang memberikan rasa pangan fermentasi yang khas serta aroma yang spesifik. Pangan fermentasi yang mengandung BAL dapat mudah dicerna dikarenakan pangan yang sulit dicerna oleh tubuh telah diubah terlebih dahulu menjadi pangan yang lebih mudah dicerna. Fungsi lain dari BAL adalah sebagai antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan pembusuk, sehingga produk pangan dapat disimpan dalam waktu yang lama (Handayani et al. 2016).

BAL yang terdapat pada pangan fermentasi dapat menghasilkan γ -aminobutyric acid (GABA). GABA merupakan hasil dari dekarboksilasi glutamat dengan bantuan enzim *glutamate decarboxylase* (Handayani et al. 2016). Pangan fermentasi yang berasal dari Korea, yaitu kimchi, menghasilkan produksi GABA dari *Lactobacillus brevis* IFO 12005, *L. brevis* OPK 3, *L. buchneri* (Yokoyama et al. 2002, Park dan Oh 2007). Saat ini, GABA banyak digunakan pada obat-obatan dan sebagian besar terdapat pada pangan seperti keju, teh gabaron dan shochu.

Dengan berbagai macam manfaat GABA, menyebabkan peningkatan produksi GABA secara komersial. Metode biosintesis GABA jauh lebih banyak menjanjikan daripada metode sintesis kimia karena memiliki prosedur reaksi sederhana, efisiensi katalitik tinggi dan kompatibilitas terhadap lingkungan (Dhakal et al. 2012).

Achmad et al. (2012) mengkarakterisasi *Lactobacillus RED₁* dari cincalok dengan pengujian berupa toleransi asam, aktivitas enzim (amilase, protease dan lipase) dan kemampuannya terhadap aktivitas antimikroba. Peningkatan kualitas cincalok dapat dilakukan dengan pemberian serbuk bawang putih dan serbuk cabai (Dyastuti et al. 2013). Menurut Nofiani dan Ardiningsih (2018), cincalok komersial relatif aman untuk dikonsumsi, sedangkan beberapa produk lain masih mengandung bakteri patogen seperti strain *Enterobacteriaceae*.

Penelitian mengenai BAL sebagai penghasil GABA yang terdapat pada pangan fermentasi cincalok di Indonesia masih sangat kurang. Dengan demikian, penelitian mengenai isolasi BAL yang memproduksi GABA pada pangan fermentasi cincalok sangat diperlukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat BAL yang mampu menghasilkan GABA tertinggi.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, UPT Laboratorium Terpadu dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang pada bulan Desember 2018 - Agustus 2019.

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan cincalok merek Mak Kundil yang berasal dari Kalimantan Barat (Jl. Prof. M. Yamin No.1a, Pontianak – 78112, GPS N 0° 2' 52.5804", E 109° 19' 3.1548"), media MRSA, CaCO₃, H₂O₂ 3%, butanol, asam asetat, cat pewarnaan Gram, aquades, alkohol 70%, pelat KLT, ninhydrin, dan minyak imersi.

Isolasi BAL

Cincalok sebanyak 1 g dipindahkan ke dalam wadah yang berisi aquades 9 mL

(pengenceran 10^{-1}) untuk dibuat pengenceran 10^{-2} hingga 10^{-8} . Hasil pengenceran ditumbuhkan pada media MRSA + CaCO₃ 0,75% dan diinkubasi pada inkubator pada suhu 37 °C selama 48 jam. Koloni bakteri yang tumbuh dipindahkan dengan menggunakan ose bulat dan ditanam kembali pada media MRSA dengan metode gores. Pemurnian koloni bakteri terus dilakukan hingga mendapatkan koloni bakteri tunggal.

Karakterisasi isolat BAL

Isolat BAL yang telah menjadi kultur murni dikarakterisasi secara mikroskopik, menggunakan pewarnaan Gram, uji katalase, uji motilitas dan uji produksi gas, sesuai dengan metode yang digunakan oleh Sunaryanto dan Marwoto (2012).

Identifikasi GABA dengan KLT

Identifikasi GABA dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan larutan monosodium glutamate (MSG) dan pregabalin sebagai penanda. Inokulum BAL yang diperoleh ditumbuhkan pada MRSB, dan dipindahkan ke tabung sentrifugasi. Sentrifugasi dilakukan pada kecepatan 6.000 rpm dengan suhu 4 °C selama 15 menit (Handayani et al. 2016). Supernatan yang diperoleh digunakan dalam metode KLT. Pregabalin berperan sebagai penanda dari GABA. Pelat yang telah ditotolkan spot supernatan bakteri dan penanda dimasukkan ke bejana yang berisi eluen n-butanol, asam asetat, dan aquades dengan perbandingan 5 : 3 : 2. Pelat silika diangkat dari bejana kemudian disemprot dengan larutan ninhydrin 0,4% (w/v). Hasil spot yang telah bergerak lalu dihitung nilai *Retention factor* (*Rf*)-nya berdasarkan nilai *Rf* standar GABA 0,61 (Agung Yogeswara et al. 2018).

$$Rf = \frac{a}{b}$$

Keterangan:

a = jarak yang ditempuh senyawa atau substansi

b = jarak yang ditempuh oleh pelarut

Pembuatan kurva pertumbuhan

Untuk pembuatan starter untuk kurva pertumbuhan, 1 ose LAB dipindahkan ke dalam 25 mL MRSB dengan penambahan

MSG 5% dan tanpa MSG (v/v). Selanjutnya starter diinkubasi selama ± 12 jam pada *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 37 °C. Inkubasi dilakukan hingga jumlah sel mencapai 10^7 CFU mL⁻¹ berdasarkan densitas optik 1,0 pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Starter sebanyak 5% (v/v) dipindahkan ke 100 mL media MRSB dengan perlakuan MSG 5% dan tanpa MSG (v/v), kemudian diinkubasi pada *rotary shaker* selama 72 jam pada kecepatan 120 rpm dan suhu 37 °C. Setiap 6 jam sekali dilakukan pengambilan sampel untuk mengamati pertumbuhan sel secara spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm.

Pengukuran GABA dengan spektrofotometer

Sebanyak 4 mL kultur isolat BAL diambil setiap 6 jam sekali selama 72 jam, disentrifugasi pada kecepatan 6.000 rpm, suhu 4 °C selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dianalisis dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nm.

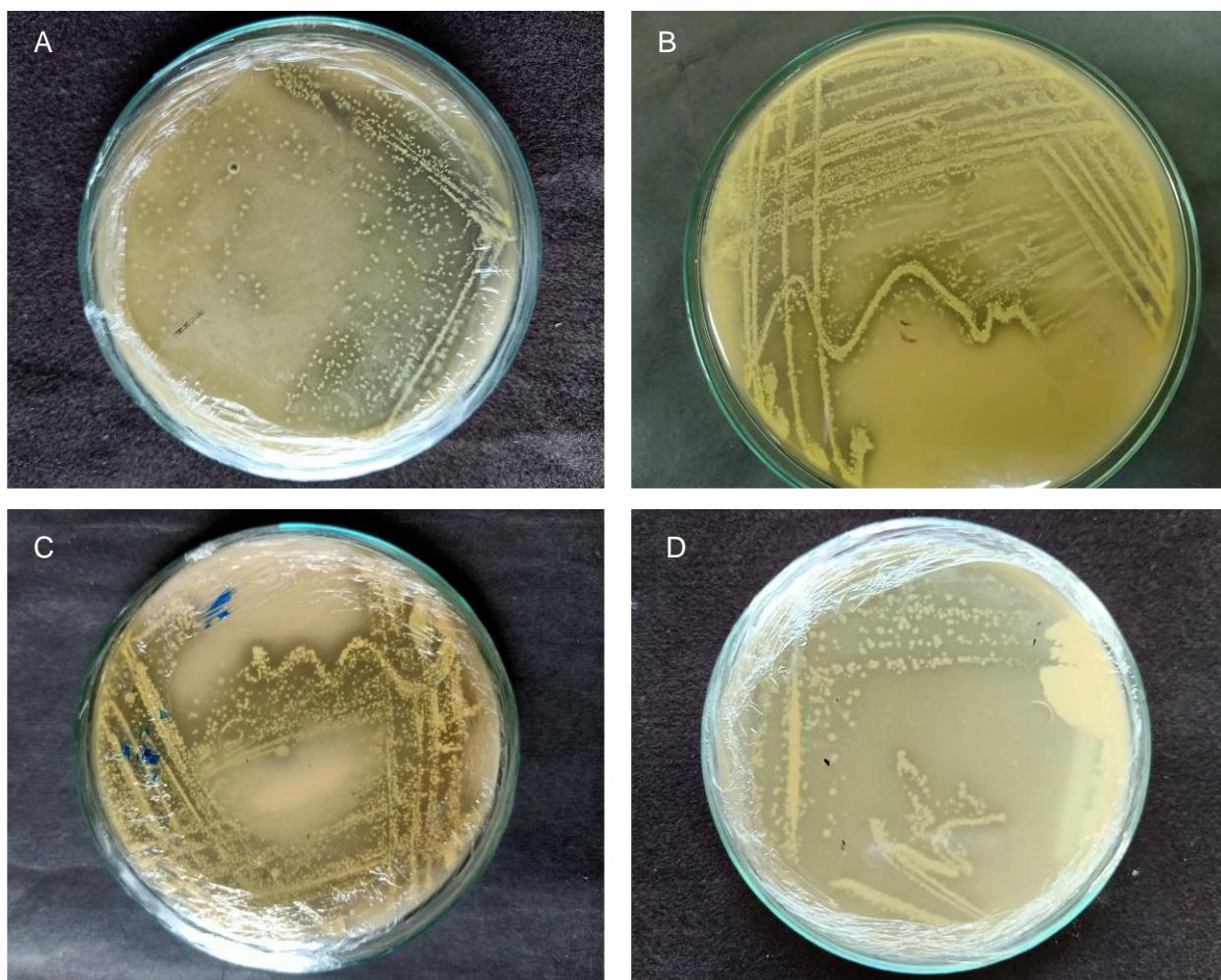
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat BAL dan karakteristiknya

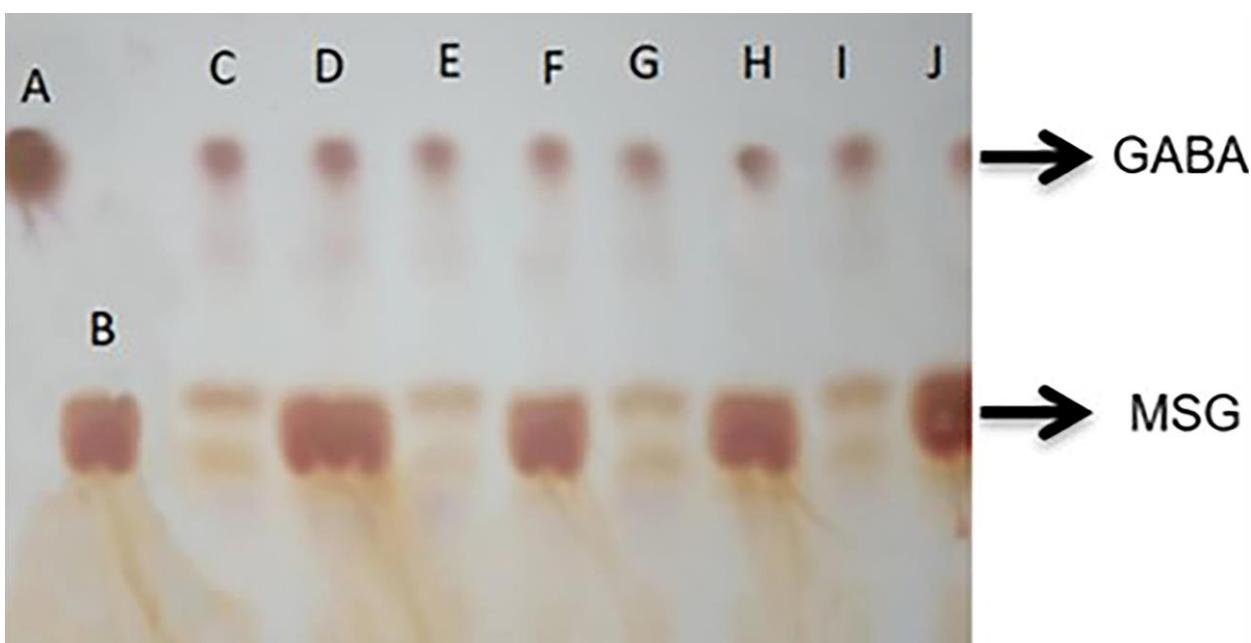
Dari studi sebelumnya, isolasi BAL dari pangan fermentasi cincalok menghasilkan empat isolat (Agung Yogeswara et al. 2018). Isolat tersebut diberi kode CIN-1, CIN-2, CIN-3 dan CIN-4 (Gambar 1). Isolat BAL tersebut selanjutnya dikarakterisasi secara makroskopik dan morfologi koloni.

Keempat isolat yang diperoleh menghasilkan zona bening pada media MRSA + CaCO₃ 0,75%. Ini disebabkan bakteri mampu mensekresikan asam pada media tersebut (Irwansyah et al. 2018). Karakterisasi secara morfologi koloni dan morfologi sel, uji fermentasi, motilitas serta uji katalase ditampilkan pada Tabel 1.

Isolat BAL tersebut memiliki sifat morfologi dengan bentuk koloni bulat, berwarna putih atau putih susu, permukaan cembung, tepian rata. Sifat BAL yaitu katalase negatif, non motil dan memiliki produksi gas yang dibedakan menjadi homofermentatif atau heterofermentatif, serta pewarnaan Gram berwarna ungu (positif) dengan bentuk batang atau bulat (Suciati et al. 2016).



Gambar 1. Isolat BAL: A). CIN-1, B). CIN-2, C). CIN-3, dan D). CIN-4



Gambar 2. Hasil identifikasi GABA dengan metode KLT: A). Pregabalin, B). MSG, C). Isolat CIN-1 non MSG, D). Isolat CIN-1 MSG, E). Isolat CIN-2 non MSG, F). Isolat CIN-2 MSG, G). Isolat CIN-3 non MSG, H). Isolat CIN-3 MSG, I). Isolat CIN-4 non MSG dan J). Isolat CIN-4 MSG

Tabel 1. Karakterisasi morfologi koloni dan sel isolat BAL dari cincalok

Karakterisasi	Kode Isolat			
	CIN-1	CIN-2	CIN-3	CIN-4
Bentuk koloni	bulat	bulat	bulat	bulat
Warna koloni	putih susu	putih kekuningan	putih susu	putih kekuningan
Elevasi	cembung	cembung	cembung	cembung
Tepian	rata	rata	rata	rata
Morfologi sel	batang	batang	bulat	bulat
Gram	(+)	(+)	(+)	(+)
Motilitas	(-)	(-)	(-)	(-)
Katalase	(-)	(-)	(-)	(-)
Produksi gas	HT	HM	HM	HM

Keterangan: HM (Homofermentatif)
HT (Heterofermentatif)

Tabel 2. Konsentrasi GABA tertinggi dari masing-masing isolat

		Isolat			
		CIN-1 Non MSG	CIN-2 Non MSG	CIN-3 Non MSG	CIN-4 Non MSG
Jam ke-		42	48	48	48
Konsentrasi	GABA	158,224	154,754	171,195	144,275
Isolat					
		CIN-1 MSG 5%	CIN-2 MSG 5%	CIN-3 MSG 5%	CIN-4 MSG 5%
		36	42	42	42
Jam ke-		193,143	169,291	201,472	170,797

Identifikasi GABA menggunakan KLT

Nilai R_f pregabalin 0,61 digunakan sebagai standar GABA, demikian pula nilai R_f GABA 0,61 yang ditunjukkan oleh isolat CIN-1, CIN-2 CIN-3, dan CIN-4 (Gambar 2). Ini menunjukkan keberadaan GABA yang dihasilkan oleh BAL pada cincalok yang berasal dari Kalimantan Barat yang digunakan dalam penelitian ini. Penelitian yang telah dilakukan oleh Agung Yugeswara et al. (2018) menunjukkan bahwa BAL yang diperoleh dari fermentasi kacang kedelai dan ikan dapat menghasilkan GABA dengan nilai R_f 0,61. Nilai R_f MSG yang diperoleh pada penelitian kali ini adalah 0,38, sedangkan nilai R_f MSG sebesar 0,35 dari penelitian yang dilakukan oleh Bamnia (2011). Selain cincalok Pangan fermentasi seperti *Nham* (Ratanaburee et al. 2013), keju Italia (Siragusa et al. 2007), dan kimchi (Cho et al. 2011) juga mengandung BAL yang dapat memproduksi GABA.

Pertumbuhan BAL

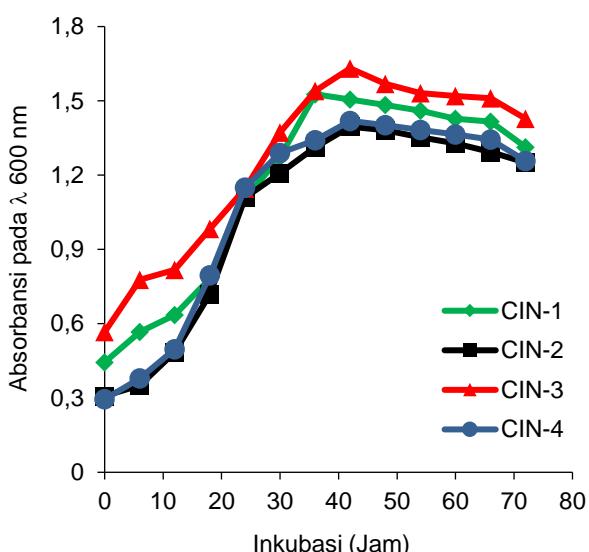
Isolat BALndiinkubasi selama 72 jam pada suhu 37°C untuk mengetahui kurva pertumbuhan. Pengukuran pertumbuhan BAL isolat CIN-1, CIN-2, CIN-3 dan CIN-4 diberi perlakuan tanpa MSG (Gambar 3) dan dengan penambahan MSG 5% (Gambar 4) pada media MRSB. Masing-masing isolat BAL memiliki pertumbuhan optimum yang berbeda-beda pada medium MRSB non MSG dan medium MRSB dengan penambahan MSG 5%. Puncak kurva pertumbuhan (absorbansi 1,250-1,488) dicapai pada jam ke-42 (CIN-1) dan ke-48 (CIN-2, CIN-3, dan CIN-4) pada medium MRSB non MSG. Sebaliknya, pada medium MRSB plus MSG 5% puncak kurva ini cenderung lebih tinggi (absorbansi 1,369-1,631) dan lebih cepat dicapai, yakni pada jam ke-36 (CIN-1) dan ke-42 (CIN-2, CIN-3, dan CIN-4). Isolat CIN-3 memperlihatkan pertumbuhan tertinggi pada kedua media tersebut, yakni medium MRSB

non MSG (absorbansi 1,488 pada jam ke-48) dan pada medium dengan penambahan MSG 5% (absorbansi 1,631 pada jam ke-42).

Secara umum, pertumbuhan mikroba dengan penambahan MSG 5% lebih cepat dibandingkan tanpa penambahan MSG dikarenakan MSG merupakan substrat dari GABA, sehingga pertumbuhan selnya lebih cepat berkembang biak. Kurva pertumbuhan bakteri di atas merupakan metabolit primer, dikarenakan kurva produksi mengikuti kurva pertumbuhan.

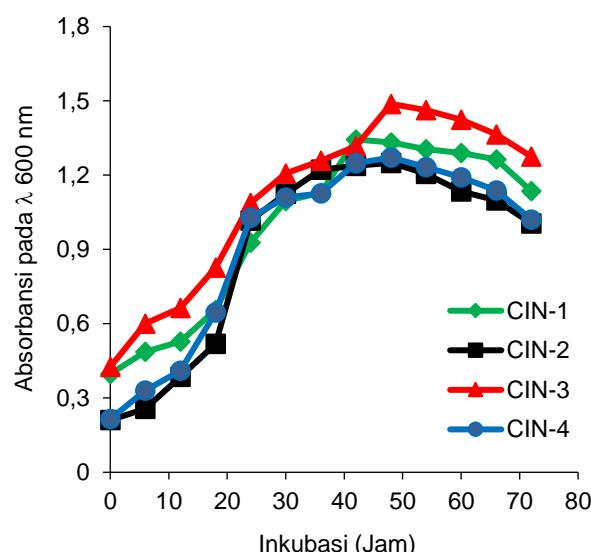
Produksi GABA dari BAL

Produksi GABA tertinggi dicapai pada jam ke-48 oleh isolat CIN-2, CIN-3 dan CIN-4

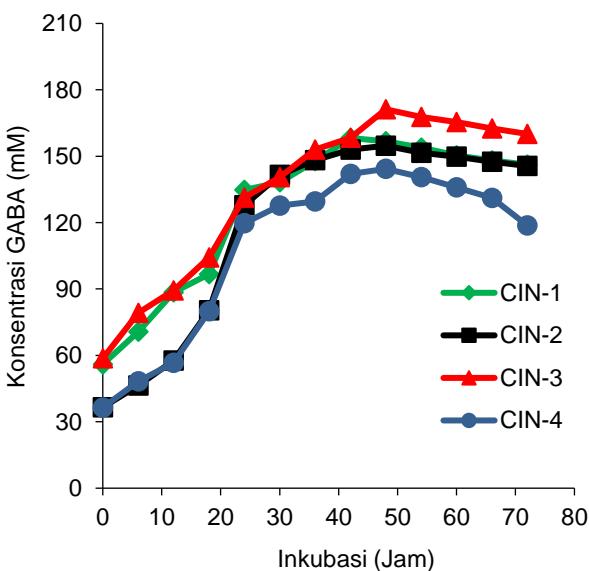


Gambar 3. Pertumbuhan isolat BAL non MSG pada medium MRSB

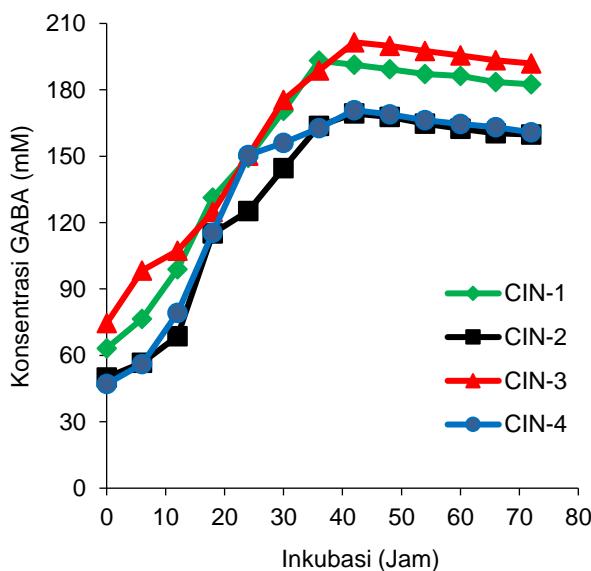
tanpa perlakuan MSG (Gambar 5) dan pada jam ke-42 dengan penambahan MSG 5% (Gambar 6). Isolat CIN-1 dengan penambahan MSG 5% menghasilkan produksi GABA tertinggi pada jam ke-36, sedangkan non MSG terjadi pada jam ke-42. Menurut Li et al. (2010), penambahan glutamat dalam media dapat meningkatkan biomassa dari mikroba. Glutamat merupakan substrat dari GABA. Aktivitas enzim GAD dapat meningkat dan mengikat substrat sehingga produksi GABA akan meningkat. Glutamat yang berlebihan pada konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan mikroba tersebut. Penambahan MSG pada konsentrasi 0,25-0,5 M dianggap paling baik untuk pertumbuhan *L. brevis*



Gambar 4. Pertumbuhan isolat BAL dengan penambahan MSG 5% pada medium MRSB



Gambar 5. Produksi GABA isolat BAL pada medium MRSB tanpa MSG



Gambar 6. Produksi GABA isolat BAL pada medium MRSB dengan penambahan MSG 5%

NCL912 dalam produksi GABA. Produksi GABA oleh mikroba disebabkan adanya aktivitas enzim *glutamate decarboxylase* yang mengkatalis *L-glutamate* (Ueno 2000).

Tabel 2 menampilkan produksi GABA dengan konsentrasi tertinggi dari masing-masing isolat. Produksi GABA tertinggi dari keempat isolat dengan perlakuan MSG 5% dicapai oleh CIN-3 dan yang terendah adalah oleh CIN-2. Penelitian ini konsisten dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Lee et al. (2013). Mereka memperoleh konsentrasi GABA 212 mM dengan perlakuan penambahan MSG 5% yang dilakukan pada isolat *L. buchneri* MS. Penambahan MSG 5% dapat mempercepat dan meningkatkan produksi GABA, dibandingkan dengan yang tidak diberi penambahan MSG. Kim et al. (2007) melaporkan *Lactobacillus brevis* BH2 yang dikultur pada medium MRS dengan pemberian MSG 5% memproduksi GABA sebesar 194 mM. Produksi GABA 14,86 mM dicapai oleh *Enterococcus faecium* JK29 dengan penambahan MSG 0,5% pada medium MRS teroptimasi (Lim et al. 2016), sedangkan penambahan 3% MSG pada medium MRS broth menyebabkan *Enterococcus avium* M5 memproduksi GABA dengan konsentrasi 18,47 mg mL⁻¹ (Lee et al. 2017). Menurut Yuan et al. (2019), MSG dapat memacu peningkatan konsentrasi GABA disebabkan konversi MSG di dalam media oleh enzim *glutamate decarboxylase* menjadi GABA.

KESIMPULAN

BAL dapat ditemukan pada pangan fermentasi cincalok. Keempat isolat BAL yang didapatkan memiliki kandungan GABA yang diidentifikasi melalui KLT. Pertumbuhan BAL dan produksi GABA dengan penambahan MSG 5% dapat meningkatkan jumlah biomassa dan kandungan GABA dibandingkan dengan yang tanpa MSG. Kandungan GABA tertinggi di antara semua isolat yang ditemukan dihasilkan oleh isolat CIN-3, yakni sebesar 201,472 mM.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada kedua orang tua saya yang telah menyemangati dan mendoakan. Serta rekan saya Adde dalam membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad DI, Nofiani R, Ardiningsih P (2012) Karakterisasi bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. RED₁ dari cincalok formulasi. J Kim Khatulistiwa 1: 1-5
- Afriani (2010) Pengaruh penggunaan starter bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap total bakteri asam laktat, kadar asam dan nilai pH dadih susu sapi. J Ilm Ilmu-Ilmu Peternak 13: 279-285. doi: 10.22437/jiiip.v0i0.114
- Agung Yogeswara IBA, Kusumawati IGAW, Sumadewi NLU, Rahayu ES, Indrati R (2018) Isolation and identification of lactic acid bacteria from Indonesian fermented foods as γ -aminobutyric acid-producing bacteria. Int Food Res J 25: 1753-1757. Corpus ID: 186201960
- Bamnia M (2011) Evaluation of γ -aminobutyric acid production by indigenously isolated lactic acid bacteria. Dissertation, Thapar University, Patiala, India
- Cho SY, Park MJ, Kim KM, Ryu JH, Park HJ (2011) Production of high γ -aminobutyric acid (GABA) sour kimchi using lactic acid bacteria isolated from mukeunjee kimchi. Food Sci Biotechnol 20: 403-408. doi: 10.1007/s10068-011-0057-y
- Desniar, Rusmana I, Suwanto A, Mubarik NR (2011) Penapisan bakteriosin dari bakteri asam laktat asal Bekasam. J Pengolah Has Perikan Indones 14: 124-133. doi: 10.17844/jphpi.v14i2.5321
- Dhakal R, Bajpai VK, Baek KH (2012) Production of GABA (γ -Aminobutyric Acid) by microorganisms: A review. Braz J Microbiol 43: 1230-1241. doi: 10.1590/S1517-83822012000400001
- Dyastuti EA, Nofiani R, Ardiningsih P (2013) Uji organoleptik cincalok dengan penambahan serbuk bawang putih (*Allium sativum*) dan serbuk cabai (*Capsicum annuum* L) J Kim Khatulistiwa 2: 70-73
- Handayani R, Sulistiani, Setianingrum N (2016) Identifikasi produksi GABA dari kultur bakteri asam laktat (BAL) dengan metode TLC. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indones 2: 208-213. doi: 10.13057/psnmbi/m020215

- Irwansyah, Raza'i TS, Wulandari R (2018) Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada saluran pencernaan ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*). Intek Akuakultur 2: 25-32. doi: 10.31629/intek.v2i2.531
- Kim SH, Shin BH, Kim YH, Nam SW, Jeon SJ (2007) Cloning and expression of a full-length glutamate decarboxylase gene from *Lactobacillus brevis* BH2. Biotechnol Bioprocess Eng 12: 707-712. doi: 10.1007/BF02931089
- Lee YS, Song TY, Kong WS, Yoon MH (2013) Characterization of γ -aminobutyric acid (GABA) produced by a lactic acid bacterium from button mushroom bed. J Mushrooms 11: 181-186. doi: 10.14480/jm.2013.11.4.181
- Lee KW, Shim JM, Yao Z, Kim JA, Kim HJ, Kim JH (2017) Characterization of a glutamate decarboxylase (GAD) from *Enterococcus avium* M5 isolated from jeotgal, a Korean fermented seafood. J Microbiol Biotechnol 27: 1216-1222. doi: 10.4014/jmb.1701.01058
- Li H, Qiu T, Gao D, Cao Y (2010) Medium optimization for production of γ -aminobutyric acid by *Lactobacillus brevis* NCL912. Amino Acids 38: 1439-1445. doi: 10.1007/s00726-009-0355-3
- Lim HS, Cha IT, Lee H, Seo MJ (2016) Optimization of γ -aminobutyric acid production by *Enterococcus faecium* JK29 isolated from a traditional fermented foods. Microbiol Biotechnol Lett 44: 26-33. doi: 10.4014/mbl.1512.12004
- Mardalena (2016) Fase pertumbuhan isolat bakteri asam laktat (BAL) tempoyak asal Jambi yang disimpan pada suhu kamar. J Sain Peternakan Indones 11: 58-66. doi: 10.31186/jspi.id.11.1.58-66
- Nofiani R, Ardiningsih P (2018) Physicochemical and microbiological profiles of commercial cincalok from West Kalimantan. J Pengolahan Hasil Perikanan Indones 21: 243-249. doi: 10.17844/jphpi.v21i2.22851
- Park KB, Oh SH (2007) Production of yogurt with enhanced level of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. Bioresource Technol 98: 1675-1679. doi: 10.1016/j.biortech.2006.06.006
- Ratanaburee A, Kantachote D, Charernjiratrakul W, Sukhoom A (2013) Enhancement of γ -aminobutyric acid (GABA) in Nham (Thai fermented pork sausage) using starter cultures of *Lactobacillus namurensis* NH₂ and *Pediococcus pentosaceus* HN8. Int J Food Microbiol 167: 170-176. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.014
- Siragusa S, De Angelis M, Di Cagno R, Rizzello CG, Coda R, Gobbetti M (2007) Synthesis of γ -aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses. Appl Environ Microbiol 73: 7283-7290. doi: 10.1128/AEM.01064-07
- Suciati P, Tjahjaningsih W, Masithah ED, Pramono H (2016) Aktivitas enzimatis isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan kepiting bakau (*Scylla* spp.) sebagai kandidat probiotik. J Ilm Perikan Kelaut 8: 94-108. doi: 10.20473/jipk.v8i2.11182
- Sunaryanto R, Marwoto B (2012) Isolasi, identifikasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari dadih susu kerbau. J Sains Teknol Indones 14: 228-233. doi: 10.29122/jsti.v14i3.931
- Ueno H (2000) Enzymatic and structural aspects on glutamate decarboxylase. J Mol Catal B Enzym 10: 67-79. doi: 10.1016/S1381-1177(00)00114-4
- Yokoyama S, Hiramatsu J, Hayakawa K (2002) Production of γ -aminobutyric acid from alcohol distillery lees by *Lactobacillus brevis* IFO-12005. J Biosci Bioeng 93: 95-97. doi: 10.1016/S1389-1723(02)80061-5
- Yuan H, Wang H, Fidan O, Qin Y, Xiao G, Zhan J (2019) Identification of new glutamate decarboxylase from *Streptomyces* for efficient production of γ -aminobutyric acid in engineered *Escherichia coli*. J Biol Eng 13: 24. doi: 10.1186/s13036-019-0154-7