

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PROTEOLITIK DARI FESES HEWAN LUWAK (*Paradoxurus hermaphroditus*)

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PROTEOLYTIC BACTERIA FROM CIVET FECES (*Paradoxurus hermaphroditus*)

Oleh: Nur Hidayah Fitria Rahmawati

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univeristas Negeri Yogyakarta

Email : nuhi.fitria@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya bakteri proteolitik pada feses luwak, menentukan karakteristik fenotipik bakteri proteolitik terpilih dari feses luwak, dan menentukan kondisi optimum pertumbuhan bakteri proteolitik terpilih dari feses luwak. Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif. Hasil isolasi bakteri feses luwak telah diperoleh sebanyak 40 isolat campuran yang terdiri dari 37 isolat bukan proteolitik dan 3 isolat proteolitik. Dua isolat (Bp1 dan Bp19) bakteri proteolitik terpilih berhasil diisolasi dan dikarakterisasi secara morfologi dan biokimia. Pertumbuhan bakteri proteolitik dengan kode isolat Bp1 berada pada kondisi optimum yaitu pada fase eksponensial dengan nilai *Optical Density* (OD) sebesar 1,351 dimedia Nutrient Broth (NB) dan 1,381 pada media NB dan susu skim. Isolat Bp19 memiliki nilai optimum OD sebesar 1,168 pada media Nutrient Brooth serta 1,218 dimedia Nutrient Brooth dan susu skim. Berdasarkan karakterisasi yang telah dilakukan yaitu isolat Bp1 diduga merupakan genus *Bacillus* dengan persentase kesamaan sebesar 80% dan isolat Bp19 diduga merupakan genus *Proteus* dengan persentase kesamaan sebesar 90,9%.

Kata kunci: bakteri proteolitik, feses luwak, protease

Abstract

The aims of this study were to know the existance of proteolytic bacteria in the civet feces, to determine phenotypic characters of proteolytic bacteria selected from civet feces, and to determine optimum condition of the growth of proteolytic bacteria selected from civet feces. This experiment was the explorative experiment. The result of bacteria isolation from the civet feces were 40 mixture isolates consist of 37 nonproteolytic isolates and 3 proteolytic isolates. Two isolates (Bp1 and Bp19) of selected proteolytic bacteria were characterized in morphology and biochemistry. The growth of proteolytic bacteria with isolate code Bp1 had the optimum condition at exponential phase with *Optical Density* (OD) 1,351 on media containing Nutrient Broth (NB) and 1,381 on Nutrient Broth media and skim milk. Isolate code Bp19 had optimum condition with OD 1,168 on Nutrient Broth and 1,218 on Nutrient Broth media and skim milk. Based on the characterization, isolate Bp1 has allegated as *Bacillus* genus with similarity percentage 80% and isolate Bp19 has allegated as *Proteus* genus with similarity percentage 90,9%.

Keywords: proteolytic bacteria, civet feces, protease

PENDAHULUAN

Kopi luwak memiliki keistimewaan dibandingkan kopi lainnya. Hal tersebut dikarenakan kopi luwak dikenal sebagai kopi paling mahal dan khas (unik) sampai sekarang diproduksi dalam jumlah sangat terbatas. Keistimewaan kopi luwak karena sebelum menjadi kering, biji kopi telah melewati

pencernaan perut luwak jenis *Paradoxurus hermaphroditus* (Yusianto, 2014: 1).

Kopi yang dihasilkan dari pencernaan tidak sempurna dari hewan luwak menjadi kopi termahal di pasaran dunia. Sebuah penelitian yang dilakukan di Kanada membuktikan bahwa kandungan protein diperut luwak, membuat biji kopi terfermentasi dan matang lebih sempurna.

Hal ini yang menyebabkan kopi luwak merupakan salah satu produk organik yang aman bagi kesehatan dan bebas pestisida, pupuk kimia, hormon pertumbuhan, dan benih transgenik (Ikhwan, 2013: 4).

Keberadaan mikroorganisme terutama bakteri, diduga memiliki peran dalam proses fermentasi di dalam saluran pencernaan hewan luwak. Salah satu kelompok bakteri yang berperan dalam saluran pencernaan yaitu bakteri proteolitik yang dapat mendegradasi protein sehingga mempengaruhi cita rasa kopi luwak. Dengan demikian, penelitian ini akan dilakukan isolasi dan karakterisasi untuk mengetahui kelompok bakteri yang berperan di dalam pencernaan hewan luwak yaitu bakteri proteolitik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya bakteri proteolitik pada feses kopi luwak, menentukan fase optimum kurva pertumbuhan bakteri proteolitik terpilih dari feses kopi luwak, dan menentukan karakteristik fenotipik bakteri proteolitik terpilih dari feses kopi luwak. Manfaat penelitian ini bagi masyarakat yaitu memberikan informasi bagi masyarakat bahwa pada feses luwak yang memakan kopi ditemukan adanya bakteri proteolitik, mendapatkan isolat bakteri proteolitik dari feses luwak, dan mengetahui karakter fenotipik bakteri proteolitik dari feses luwak.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan 1 September – 3 November 2015 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Riset, Jurusan Pendidikan

Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta.

Target/Subjek Penelitian

Populasi dari penelitian ini yaitu bakteri yang terdapat pada feses kopi luwak kandang dan sampel yang digunakan adalah bakteri proteolitik yang terisolasi dari 5 gram feses kopi luwak kandang.

Prosedur

1. Melakukan Isolasi Bakteri Proteolitik (Fauzi, 2008: 16)
 - a. Diambil feses kopi luwak kandang
 - b. Disuspensikan kultur bakteri dengan cara : 5 gr kotoran luwak dimasukkan ke dalam sebuah erlenmeyer berisi 50 ml akuades steril kemudian digojok hingga homogen
 - c. Diencerkan 1 ml suspensi kultur ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades steril
 - d. Digojok hingga homogen dan dibuat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-8}
 - e. Dilakukan isolasi bakteri dengan diinokulasikan 1 ml suspensi kultur ke dalam cawan petri pada konsentrasi 10^{-7} dan 10^{-8}
 - f. Dituangkan media NA dengan pour plate (metode tuang)
 - g. Diinkubasi pada suhu kamar selama 24-48 jam
2. Uji kemampuan proteolitik (Zahiroh, 2013: 11)
 - a. Kultur murni ditumbuhkan pada cawan petri dengan digoreskan pada media padat susu skim 1% (komposisi 1 gr susu skim; 2 gr *Nutrient Agar (NA)*; 100 ml akuades)

- dengan metode cawan gores kuadran (*streak plate*) dengan tiga kali pengulangan
- b. Diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam
 - c. Diamati adanya zona bening yang terbentuk sebagai indikasi aktivitas protease
3. Karakterisasi Isolat Proteolitik
- a. Pengecatan gram dengan langkah sebagai berikut :
 - 1) Disiapkan gelas benda yang sudah bersih dengan alkohol lalu melewati semua sisinya beberapa kali di atas nyala api bunsen hingga kering
 - 2) Ose steril digunakan untuk meneteskan 2 tetes akuades pada bagian tengah gelas benda
 - 3) Diambil secara aseptik dan disuspensikan satu ose isolat bakteri proteolitik pada akuades di permukaan gelas benda
 - 4) Dikeringanginkan dan difiksasi dengan melewati gelas benda di atas api bunsen
 - 5) Dibubuhkan gram A (kristal violet) pada olesan secara merata selama 30 detik lalu dialiri dengan akuades hingga tetesan airnya jernih lalu dikeringanginkan
 - 6) Dibubuhkan gram B (larutan iodine) pada olesan secara merata selama 30 detik lalu dialiri dengan akuades hingga tetesan airnya jernih lalu dikeringanginkan
 - 7) Dibubuhkan gram C (etil alkohol) pada olesan untuk dekolorisasi selama 10 detik dan segera mengalirinya dengan akuades
 - 8) Dibubuhi dengan gram D (Safranin) selama 30 detik lalu dialiri dengan akuades lalu dikeringanginkan
 - 9) Diamati di bawah mikroskop
 - b. Uji Katalase
 - c. Uji Fermentasi Glukosa
 - d. Uji Fermentasi Maltosa
 - e. Uji Fermentasi Laktosa
 - f. Uji Hidrolisa Gelatin
 - g. Uji Hidrolisa Pati/Amilum
 - h. Uji CO₂
 - i. Uji Sitrat
 - j. Uji Motilitas
4. Pembuatan kurva tumbuh (Zahiroh, 2013: 12)
- 1) Isolat bakteri proteolitik yang terpilih diremajakan pada media NB dan *skim milk* dan ditumbuhkan pada suhu kamar selama \pm 48 jam
 - 2) Isolat bakteri proteolitik yang terbentuk ditumbuhkan pada media *skim milk* cair untuk menentukan kurva pertumbuhan melalui pengukuran kekeruhan (*Optical Density*) pada suhu ruangan dan dishaker dengan kecepatan 100 rpm
 - 3) Diamati setiap 3 jam menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 600 nm selama 48 jam

Data, Instrumen, dan Teknik Pengumpulan Data

Alat-alat yang digunakan yaitu autoklaf, bunsen, inkubator, cawan petri, jarum ose kolong, jarum inokulum, kaca benda, kertas label, *Laminar Air Flow cabinet*, lemari pendingin, mikropipet, mikroskop, neraca analitik, penjepit kayu, pengaduk magnetik, rak tabung reaksi, shaker, tabung cuvet, dan peralatan gelas dengan berbagai ukuran yang umumnya digunakan di laboratorium, meliputi: botol kultur, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, dan tabung durham. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan yaitu akuades, alkohol 70%, etil alkohol, feses kopi

luwak, glukosa, H_2O_2 , iodine, larutan kristal violet, larutan safranin, maltosa, media *skim milk*, nutrisi agar (*Merck*), nutrisi gelatin (*Merck*), nutrient broth (*Merck*), phenol red, *Simon Citrat Agar* (SCA), starch agar (*Merck*), sukrosa, dan *Sulfide Indole Motility* (SIM).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Isolasi Feses Kopi Luwak

No	Kode isolat	Pengenceran	Bakteri Proteolitik
1	Bp1	10^{-7}	+
2	Bp2	10^{-7}	-
3	Bp3	10^{-7}	-
4	Bp4	10^{-7}	-
5	Bp5	10^{-7}	-
6	Bp6	10^{-7}	-
7	Bp7	10^{-7}	-
8	Bp8	10^{-7}	-
9	Bp9	10^{-7}	-
10	Bp10	10^{-7}	-
11	Bp11	10^{-7}	-
12	Bp12	10^{-7}	-
13	Bp13	10^{-7}	-
14	Bp14	10^{-7}	-
15	Bp15	10^{-7}	-
16	Bp16	10^{-7}	-
17	Bp17	10^{-7}	-
18	Bp18	10^{-7}	-
19	Bp19	10^{-8}	+
20	Bp20	10^{-8}	-
21	Bp21	10^{-8}	-
22	Bp22	10^{-8}	-
23	Bp23	10^{-8}	-
24	Bp24	10^{-8}	-
25	Bp25	10^{-8}	-
26	Bp26	10^{-8}	-
27	Bp27	10^{-8}	-
28	Bp28	10^{-8}	-
29	Bp29	10^{-8}	+
30	Bp30	10^{-8}	-
31	Bp31	10^{-8}	-
32	Bp32	10^{-8}	-
33	Bp33	10^{-8}	-
34	Bp34	10^{-8}	-
35	Bp35	10^{-8}	-
36	Bp36	10^{-8}	-
37	Bp37	10^{-8}	-
38	Bp38	10^{-8}	-
39	Bp39	10^{-8}	-
40	Bp40	10^{-8}	-

Luwak yang diambil fecesnya merupakan hewan luwak jantan yang telah dipelihara selama ± 1 tahun di dalam sangkar dengan usia 2 tahun. Pengambilan sampel feces kopi luwak yaitu pada salah satu peternak hewan luwak di Kelurahan Mungseng, Temanggung, Jawa Tengah.

Hasil isolat yang diambil sebanyak 40 isolat. Hasil seleksi dengan media Nutrient Broth (NB) dan susu skim didapatkan bahwa hasil isolat yang memiliki zona bening paling terang yaitu sebanyak 2 isolat yang mengindikasikan sebagai isolat bakteri proteolitik.

Tabel 1 menunjukkan bahwa isolat bakteri proteolitik diperoleh dari isolat kode Bp1 pada pengenceran 10^{-7} , Bp 19 pada pengenceran 10^{-8} , dan isolat Bp29 pada pengenceran 10^{-8} .

Ketiga isolat yang menunjukkan indikator sebagai bakteri proteolitik karena terbentuknya zona bening di sekitar koloni, maka dipilih dua isolat untuk dilakukan karakterisasi dan diukur kurva pertumbuhannya.

Isolasi Bakteri Proteolitik

Isolat murni setelah didapatkan, kemudian diambil isolat yang memiliki zona bening paling terang yaitu isolat dengan kode Bp1 dan isolat dengan kode Bp19. Kedua isolat tersebut dikarakterisasi dengan uji biokimiawi dan dilihat secara fenotipnya.

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Isolat Bp1 dan Isolat Bp19

No	Parameter Karakterisasi	Isolat Bp1	Isolat Bp19
1	Warna koloni	Putih	Putih
2	Elevasi koloni	Raised	Convex
3	Tepi koloni	Entire	Serrate
4	Permukaan koloni	Kering seperti bubuk	Halus mengkilap
5	Konfigurasi koloni	Round	Round
Karakterisasi Mikroskopis			
6	Pewarnaan gram	Positif	Negatif
7	Susunan sel	Berantai	Berpasangan
8	Bentuk sel	Bacillus	Bacillus
Karakterisasi Biokimia			
9	Uji katalase	Positif	Positif
10	Uji fermentasi glukosa	Positif	Positif
11	Uji fermentasi maltose	Positif	Positif
12	Uji fermentasi laktosa	Positif	Negatif
13	Uji hidrolisa gelatin	Negatif	Negatif
14	Uji hidrolisa amilum	Negatif	Positif
15	Uji CO ₂	Positif	Positif
16	Uji sitrat	Negatif	Positif
17	Uji motilitas	Negatif	Positif

Karakterisasi Bakteri Proteolitik

Karakterisasi bakteri proteolitik diketahui dengan melakukan beberapa pengamatan yaitu pengamatan morfologi, pewarnaan gram, dan uji biokimia. Pengamatan morfologi yakni meliputi warna koloni, elevasi koloni, tepi koloni, permukaan koloni, dan konfigurasi koloni. Pengamatan secara mikroskopis yaitu dengan melakukan pewarnaan gram untuk mengetahui sifat gram, susunan sel, dan bentuk sel. Sedangkan uji biokimiawi yakni untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi dari suatu biakan isolat murni melalui sifat-sifat fisiologi

yaitu dengan melakukan uji katalase, uji fermentasi glukosa, uji fermentasi maltosa, uji fermentasi laktosa, uji hidrolisa gelatin, uji hidrolisa amilum, uji CO₂, uji sitrat, dan uji motilitas.

Berdasarkan tabel 2 dari isolat terpilih yang telah dilakukan karakterisasi, maka dapat dilihat bahwa isolat Bp1 dan Bp19 memiliki sifat fenotip yang hampir sama. Namun ada beberapa perbedaan antara isolat Bp1 dan Bp19 yaitu pada sifat gram, uji fermentasi laktosa, uji hidrolisa amilum, uji sitrat, dan uji motilitas.

Pengamatan bakteri proteolitik berdasarkan sifat gram didapatkan hasil pengamatan yaitu pada isolat Bp1 merupakan bakteri gram positif yang diketahui dari pengamatan melalui mikroskop dari isolat yang telah dikolorisasi yakni berwarna ungu dan ketika dilihat di mikroskop sel berbentuk yaitu *bacillus* (batang). Sedangkan isolat Bp19 merupakan bakteri gram negatif yang diketahui dari pengamatan melalui mikroskop dari isolat yang telah dikolorisasi berwarna merah dengan bentuk sel yakni *bacillus* (batang).

Beberapa uji yang telah dilakukan pada feses dari kopi luwak, maka berdasarkan penelitian yang dilakukan Massimo Marcone dari Universitas Guelph, Ontario, Kanada menunjukkan bahwa sekresi enzim proteolitik dapat memecah kandungan protein yang terdapat pada biji kopi. Hasilnya, peptida dan asam amino bebas menjadi berkurang. Perubahan jumlah protein dan asam amino bebas tersebut menghasilkan rasa yang unik (Marcone, 2004 dalam Fuferti dkk, 2013: 68).

Tabel 3. Hasil Karakterisasi Isolat Bp1

No	Karakter	Isolat Bp1	Genus Acuan (<i>Bacillus</i>) Berdasar Bergey's	Genus Acuan (<i>Bacillus</i>) Berdasar Brooks
1	Warna koloni	Putih		Putih/ke-abu-abuan
2	Konfigurasi koloni	Round	Round	
3	Pewarnaan gram	Positif	Positif	
4	Susunan sel	Berantai	Berantai	
5	Bentuk sel	Bacillus (batang)	Bacillus (batang)	
6	Enzim katalase	Positif	Positif	
7	Produksi asam glukosa	Positif	Positif	
8	Produksi laktat	Positif	d	
9	Motilitas	Negatif	Positif	
10	Hidrolisis gelatin	Negatif	-	Positif
Persentase Kesamaan (%) = 80%				

d = hasil karakter dapat menunjukkan hasil yang positif atau negatif

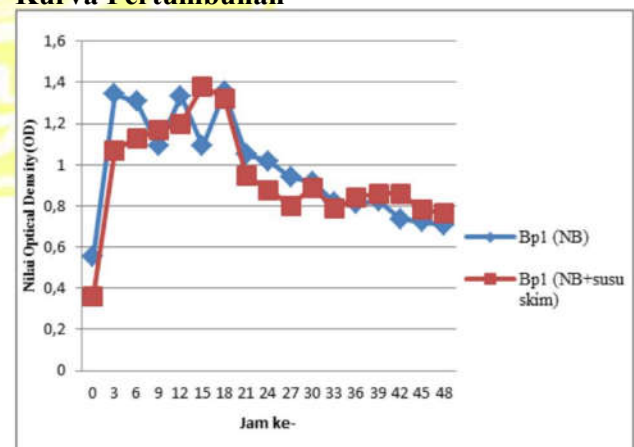
Berdasarkan tabel 3 dari hasil karakterisasi dengan 10 karakter di atas menunjukkan bahwa isolat Bp1 memiliki kemiripan genus acuan *Bacillus* dengan persentase kesamaan sebesar 80% berdasarkan Bergey's Manual dan Brooks.

Tabel 4. Hasil Karakterisasi Isolat Bp19

No	Karakter	Isolat Bp19	Genus Acuan (<i>Proteus</i>) Berdasar Bergey's
1	Pewarnaan gram	Negatif	Negatif
2	Bentuk sel	Bacillus	Bacillus
3	Uji katalase	Positif	Positif
4	Fermentasi glukosa	Produksi asam	Positif
5		Produksi gas	Positif
6	Fermentasi maltosa	Positif	Negatif
7	Fermentasi laktosa	Negatif	Negatif
8	Hidrolisa gelatin	Negatif	Negatif
9	Sitrat	Positif	Negatif
10	Motilitas	Positif	Positif
11	Enzim katalase	Positif	Positif
Persentase kesamaan = 90,9%			

Berdasarkan pada tabel 4 dari hasil karakterisasi dengan 16 parameter menunjukkan bahwa isolat Bp19 memiliki kemiripan genus acuan *Proteus* dengan persentase kesamaan sebesar 90,9% berdasarkan Bergey's Manual.

Kurva Pertumbuhan



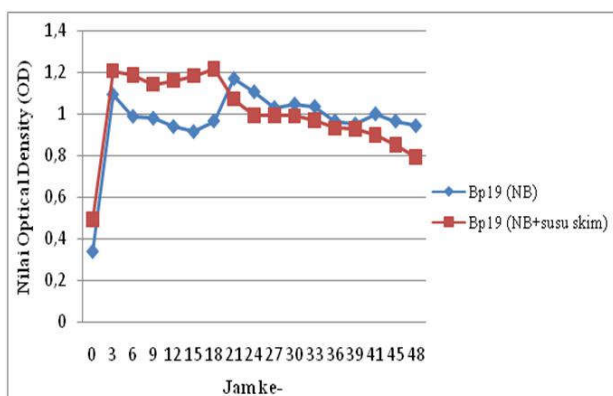
Grafik 1. Kurva pertumbuhan bakteri dengan kode isolat Bp1 pada media Nutrient Broth (NB) dan NB & susu skim

Keterangan :

Bp = bakteri proteolitik

Grafik 1 menunjukkan bahwa pada isolat Bp1 dengan media NB terjadi fase lag dimulai dari jam ke-0 sampai jam ke-3. Lalu pada fase eksponensial dimulai dari jam ke-3 hingga jam ke-18 dan fase stasioner dari jam ke-18 hingga jam ke-48. Sedangkan pada isolat Bp1 di media NB dan susu skim terjadi fase lag dimulai dari jam ke-0 sampai jam ke-3. Lalu pada fase eksponensial dimulai dari jam ke-3 hingga jam ke-15 dan fase stasioner dari jam ke-15 hingga jam ke-48. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa pertumbuhan bakteri dengan kode isolat Bp1 pada media NB dapat bekerja secara optimal hingga jam ke-18 yaitu sebesar 1,353 dan isolat Bp1 dengan media NB dan susu skim pada jam ke-15 yakni sebesar 1,381.

Media NB pada isolat Bp1 mengalami fase lag yang sama dengan isolat Bp1 pada media campuran NB dan susu skim yakni pada jam ke-0 hingga jam ke-3. Fase eksponensial pada isolat Bp1 di media NB lebih lama yaitu dari jam ke-3 hingga jam ke-18 daripada Bp1 di media NB dan susu skim. Fase selanjutnya yaitu isolat Bp1 pada media NB & susu skim mengalami fase stasioner lebih awal dibandingkan pada media NB.



Grafik 2. Kurva pertumbuhan bakteri dengan kode isolat Bp19 pada media Nutrient Broth (NB) dan NB & susu skim

Grafik 2 menunjukkan kurva pertumbuhan bakteri proteolitik terpilih dengan media NB dan susu skim. Berdasarkan kurva tersebut dapat dilihat bahwa pada isolat Bp19 di media NB mengalami fase lag pada jam ke-0 sampai jam ke-3. Fase ini merupakan bentuk adaptasi bakteri proteolitik Bp19 di media NB.

Fase eksponensial mulai dari jam ke-3 hingga jam ke-21. Fase selanjutnya yaitu fase stasioner dari jam ke-21 hingga jam ke-48. Sedangkan pada isolat Bp19 di media NB dan susu skim terjadi fase lag pada jam ke-0 sampai jam ke-3, fase eksponensial mulai dari jam ke-3 hingga jam ke-18, dan pada fase stasioner dari jam ke-18 hingga jam ke-48.

Berdasarkan grafik 2 dapat diketahui bahwa nilai *Optical Density* (OD) dari kurva pertumbuhan bakteri dengan kode isolat Bp19 pada media NB dapat bekerja secara optimal yaitu mengalami pertumbuhan secara maksimal hingga jam ke-21 yaitu pada nilai *Optical Density* (OD) sebesar 1,168 dan isolat Bp1 dengan media NB dan susu skim pada jam ke-18 yakni sebesar 1,218.

Isolat Bp19 mengalami fase lag yang sama pada media NB serta NB & susu skim, yaitu dari jam ke-0 hingga jam ke-3. Isolat Bp19 di media NB mengalami fase eksponensial yang lebih panjang dibandingkan isolat Bp19 pada media NB & susu skim. Fase selanjutnya yaitu isolat Bp19 pada media NB & susu skim mengalami fase stasioner lebih awal dibandingkan isolat Bp19 pada media NB. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan bahwa aktivitas pertumbuhan pada isolat Bp19 pada media NB paling optimum karena

mengalami fase eksponensial yang paling panjang.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Terdapat bakteri proteolitik pada sampel feses kopi luwak dengan kode isolat Bp1 dan kode isolat Bp19. Hasil penelitian menunjukkan bakteri proteolitik dari feses kopi luwak yang telah diisolasi dan diseleksi diperoleh 2 isolat lalu dikarakterisasi dengan uji biokimia. Berdasarkan hasil karakterisasi dengan 17 parameter menunjukkan bahwa isolat Bp1 memiliki kemiripan genus acuan *Bacillus* dengan persentase kesamaan sebesar 80% dan isolat Bp19 dengan 17 parameter menunjukkan bahwa mempunyai kemiripan genus acuan *Proteus* dengan persentase kesamaan sebesar 90,9%. Kurva pertumbuhan isolat Bp1 memiliki nilai optimum yaitu saat fase eksponensial sebesar 1,353 pada media NB dan 1,381 pada media NB dan susu skim. Sedangkan isolat Bp19 di media NB memiliki nilai optimum sebesar 1,168 pada media NB dan 1,218 di media NB dan susu skim dan aktivitas pertumbuhan pada isolat Bp19 pada media NB paling optimum karena mengalami fase eksponensial yang paling panjang.

Saran

Perlu dilakukan uji biokimiawi yang lebih mendalam supaya mendapatkan informasi yang lebih mendetail mengenai karakteristik bakteri proteolitik dan dilakukan isolasi dan karakterisasi

lebih lanjut selain bakteri proteolitik pada feses kopi luwak.

DAFTAR PUSTAKA

- Bergey. (2000). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. United States: William and Wilkins A Wolters Kluwer Company.
- Brooks GF, Butel js, Morse SA. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Alih bahasa: Mudihardi E, Kuntaman, Wasito EB et al. Jakarta: Salemba Medika.
- Fauzi, Mukhammad. (2008). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Biji Kopi Luwak (*Civet Coffe*). *Laporan Penelitian*. Fakultas Teknologi Jember Universitas Jember.
- Fuferti, Z. Megah Aysah dkk. (2013). Perbandingan Karakteristik Fisis Kopi Luwak (*Civet coffee*) dan Kopi Biasa Jenis Arabika. *Journal of Pillar of Physics* (2), 68-75.
- Ikhwan, Bonar. (2013). "Pesona Kopi Luwak". *Warta Ekspor*. Hlm. 3-5.
- Yusianto. (2014). Kopi Luwak dan Pengujian Keasliannya. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. *Laporan Penelitian*.
- Zahiroh, Siti. (2013). *Fermentasi Biji Kopi Menggunakan Bakteri Selulolitik, Xilanolitik, dan Proteolitik Asal Luwak*. Skripsi. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.