



UJI KEMAMPUAN *Lactobacillus casei* SEBAGAI AGENSIA PROBIOTIK

Ability Test of *Lactobacillus Casei* as A Probiotic Agents

Rofiq Sunaryanto*, Efrida Martius, Bambang Marwoto

Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT, Gedung 630 Kawasan PUSPIPTEK, Setu,
Tangerang Selatan, Banten 15314

*E-mail: rofiq.sunaryanto@bppt.go.id

ABSTRACT

Probiotic product is one of the applications of biotechnology that utilize lactic acid bacteria, especially lactobacilli. Some important requirements for microbes that can be used as probiotic include resistance to low pH, ability to grow on bile salts and colonize, and having antimicrobial activity. Each species of the genus Lactobacillus has different characteristics. These characteristics are strongly influenced by the environment in which the bacteria live. This study was carried out in order to characterize Lactobacillus casei which was isolated from dadih. The result of the experiment showed that the isolated L. casei was able to grow on the bile salt at the concentration of 15%, resistant to acid media until pH 2, had antimicrobial activity (significantly inhibited the growth of Escherichia coli, Staphylococcus aureus, and Enterococcus faecalis). The local L. casei isolate has a potential application for use as probiotic microbe.

Keywords: *Lactobacillus casei, probiotic, lactic acid bacteria, characterization, dadih*

ABSTRAK

Produk probiotik merupakan salah satu aplikasi bioteknologi yang memanfaatkan bakteri asam laktat terutama jenis *Lactobacillus*. Beberapa syarat utama mikroba yang dapat difungsikan sebagai mikroba probiotik antara lain tahan terhadap pH rendah, mampu tumbuh pada garam empedu, mampu berkoloni, memiliki aktivitas antimikroba. Masing-masing spesies dari Genus *Lactobacillus* memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Karakteristik ini sangat dipengaruhi oleh lingkungan dimana bakteri tersebut hidup. Pada penelitian ini telah dilakukan karakterisasi *Lactobacillus casei* yang merupakan hasil isolasi dari susu kerbau fermentasi. Dari hasil percobaan menunjukkan bahwa *L. casei* hasil isolasi mampu hidup sampai dengan konsentrasi garam empedu 15%, tahan terhadap media asam sampai dengan pH 2, memiliki aktivitas antimikroba (positif menghambat *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Enterococcus faecalis*). *L. casei* yang merupakan isolat lokal memiliki karakteristik yang berpotensi untuk digunakan sebagai mikroba probiotik.

Kata kunci: *Lactobacillus casei, probiotik, bakteri asam laktat, karakterisasi, dadih*

PENDAHULUAN

Istilah probiotik berasal dari bahasa Yunani yang berarti 'untuk hidup'. Istilah ini digunakan pertama kali oleh Lilley dan Stillwell pada tahun 1965 yang diartikan sebagai substansi yang dihasilkan oleh satu mikrobia yang dapat menstimulasi pertumbuhan mikroba lain. Selanjutnya digunakan oleh Parker (1974) untuk menjelaskan organisme atau substansi yang memiliki kontribusi terhadap keseimbangan mikrobia intestin. Definisi probiotik selanjutnya di perbaiki oleh Fuller (1989) yang berarti suplemen makanan berupa mikrobia hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi inang yang mengkonsumsi melalui keseimbangan mikrobia intestin.

Syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestin dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin (Allen et al. 2011). Syarat lain yang perlu dimiliki oleh bakteri probiotik adalah kemampuannya menghasilkan substansi antimikrobia sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik. Berbagai jenis substansi antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri probiotik adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan diperkirakan juga bakteriosin yaitu protein atau polipeptida yang memiliki sifat anti bakteri (Ahmed et al. 2010). Syarat lain mikrobia probiotik adalah tumbuh baik secara *in vitro*, memiliki stabilitas dan viabilitas yang tinggi dan aman bagi manusia. Dari berbagai persyaratan yang diperlukan *Lactobacillus* dan bifidobakteria yang merupakan penghuni alami jalur intestin merupakan bakteri yang banyak digunakan sebagai agensia probiotik. Bakteri ini ditemukan pada membran mukosa. Dari uji secara *in vitro* diketahui bahwa *Lactobacillus* mampu menghambat berbagai jenis bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Vibrio*, *Listeria*, *Shigella* dan *Staphylococcus*. Kecuali asam laktat yang memiliki sifat antagonis, sejumlah *Lactobacillus* mampu menghasilkan komponen antimikroba yang disebut bakteriosin misalnya asidolin, asidofilin maupun laktosidin yang diperkirakan memiliki spektrum luas baik terhadap bakteri gram positif maupun negatif (Ahmed et al. 2010).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bakteri probiotik dapat memberikan

berbagai efek positif terhadap kesehatan melalui berbagai mekanisme. Dari berbagai efek yang muncul, efek yang paling utama adalah menjaga keseimbangan mikroflora pada intestin dan memiliki efek anti diare akibat patogen enterik. Mekanisme probiotik di dalam mikroflora yang seimbang adalah melalui kompetisi nutrisi, kompetisi reseptor untuk penempelan pada sel epitel, produksi anti mikrobia, dan stimulasi imunitas pada ekosistem endogenus (Lamprecht et al. 2012).

Probiotik dapat pula digunakan untuk mengatasi penderita laktosa intolerans (tidak mampu mencerna laktosa) apabila digunakan strain yang mampu menghasilkan β -galaktosidase di dalam proses fermentasi susu. Enzim ini akan memecah laktosa oleh enzim β -galaktosidase, laktosa yang dikonsumsi dan tidak tercerna tidak dapat diserap oleh tubuh dan langsung masuk ke intestin besar sehingga berakibat munculnya diare (Syukur et al. 2013).

Probiotik juga diketahui mempunyai efek anti kanker. Dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Daniluk (2012) bahwa *Lactobacillus acidophilus* yang berasal dari manusia yang resisten terhadap garam empedu dapat menurunkan 3 enzim yang memiliki peranan penting untuk pembentukan senyawa karsinogen. Tiga enzim ini adalah β -glucuronidase, azoreductase dan nitroreductase. Ketiga enzim ini dapat mengkatalisa prokarsinogen menjadi senyawa karsinogen didalam usus besar.

Mekanisme bekerjanya kedua bakteri ini diperkirakan karena kemampuannya menghasilkan berbagai komponen antimikroba. Dari uji secara *in vitro* diketahui bahwa *Lactobacillus* mampu menghambat berbagai jenis bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Vibro*, *Listeria*, *Shigella*, *Staphylococcus*. Sejumlah *Lactobacillus* mampu menghasilkan komponen antimikroba yang disebut bakteriosin misalnya asidolin, asidofilin, laktosidin. *Bifidobacterium* adalah bakteri yang mampu menghasilkan asam asetat, format, laktat dari fermentasi gula. Asam asetat yang dihasilkan yang dihasilkan memiliki aktivitas daya hambat terhadap bakteri Gram negatif. Sifat inilah yang menguntungkan penggunaan *Bifidobacterium* dibandingkan dengan *Lactobacillus* dalam menekan pertumbuhan bakteri Gram-negatif. Bayi yang minum asi ternyata di dalam fesesnya

memiliki kandungan asam asetat yang lebih tinggi dibandingkan dengan bayi yang tidak minum asi. Salah satu penyebabnya adalah karena adanya *Bifidobacterium* yang lebih tinggi pada bayi yang minum asi. Bayi yang minum asi terbukti memiliki daya tahan yang lebih baik dibandingkan dengan bayi yang tidak minum asi. Sehingga ada usaha untuk menambahkan *Bifidobacterium* ke dalam susu formula dengan tujuan untuk meningkatkan populasi *Bifidobacterium* di dalam intestin (Gilliland 1989).

Genus *Lactobacillus* mempunyai beberapa kelebihan yang berpotensi untuk digunakan sebagai agen probiotik, diantaranya adalah mampu bertahan pada pH rendah, tahan terhadap garam empedu, memproduksi antimikrobia dan daya antagonistik terhadap patogen enterik, mampu mengasimilasi serum kolesterol dan mendekongugasi garam empedu serta dapat tumbuh baik pada medium sederhana (Rahayu 2001). Beberapa penelitian telah berhasil mendapatkan beberapa strain *Lactobacillus* dari berbagai bahan minuman fermentasi misalnya yoghurt, makanan fermentasi tradisional seperti tape, growol dan gatot (Ngatirah *et al.* 2000). Berdasarkan produk fermentasinya *Lactobacillus* dibagi menjadi dua yaitu homofermentatif jika memfermentasikan gula menjadi asam laktat sebagai produk utama dan sebagian kecil asam asetat serta karbondioksida, dan heterofermentatif jika produk fermentasinya berupa alkohol dan asam laktat (Frazier 1981). Bakteri asam laktat homofermentatif meliputi beberapa spesies yang dapat tumbuh pada suhu optimal 37°C atau di atasnya yaitu *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *L. acidophilus*, *Lactobacillus thermophilus* dan *Lactobacillus delbrueckii*. Sedangkan *Lactobacillus* heterofermentatif yang bersifat termofilik yaitu *Lactobacillus fermentum*. *Lactobacillus* homofermentatif yang tumbuh pada suhu bawah suhu optimal adalah *L. casei*, *L. plantarum* dan *L. leichmanii*. Sedangkan *Lactobacillus* heterofermentatif meliputi *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. pastorianus* (Frazier 1981).

Karakteristik *Lactobacillus* yang sangat penting untuk makanan yaitu kemampuannya dalam mengkonversi gula menjadi beberapa produk termasuk asam laktat yang berguna pada pembuatan

industri makanan (Sofjan *et al.* 2003). *Lactobacillus* ditemukan pada substrat yang kaya akan karbohidrat dengan berbagai habitat, seperti membran mukosa manusia dan binatang (rongga mulut, intestin, vagina) atau makanan hasil fermentasi dan makanan yang membusuk. Dari berbagai hasil penelitian diketahui bahwa fermentasi makanan yang terdapat di Indonesia, Laos dan Thailand didominasi oleh *L. plantarum* (Sofjan *et al.* 2003).

BAHAN DAN METODE

Isolat *Lactobacillus casei*

Isolat yang dikarakterisasi adalah *L. casei* dari kultur koleksi Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT PUSPIPTEK Serpong Tangerang Banten, yang merupakan hasil isolasi dari dadih susu kerbau yang diambil dari Payakumbuh Sumatera Barat. Isolat ini telah diidentifikasi baik secara morfologi maupun fisiologi yang meliputi uji motilitas, pembentukan dekstran dari sukrosa, pembentukan asam dari berbagai sumber karbon seperti arabinosa, selobiosa, fruktosa, galaktosa, glukosa, glukonat, laktosa, maltosa, manitol, manosa, melibiosa, melezitosa, rafinosa, rhamnosa, ribosa, salisin, sorbitol, pati, sukrosa, trehalosa, xilosa, dengan konsentrasi masing-masing sumber karbon 1%.

Uji ketahanan terhadap pH rendah

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan 1% kultur berumur 24 jam ke dalam media MRS broth yang sebelumnya telah dilakukan pengaturan pH masing-masing pH 7,0; 3,0; 2,5; 2,0. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada akhir inkubasi dilakukan perhitungan jumlah bakteri dengan metode angka lempeng total (*plate count*) pada media MRS agar.

Uji kemampuan tumbuh pada garam empedu

Pengujian dilakukan dengan menginkubasikan 1% kultur berumur 24 jam ke dalam 5 mL media MRS broth dengan penambahan garam empedu pada konsentrasi 0,5%; 1,0%; 5,0%; 10% dan 15%. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada awal dan akhir inkubasi dilakukan perhitungan jumlah bakteri dengan metode angka lempeng total (*plate count*) pada MRS agar.

Uji aktivitas antimikroba

Aktivitas antimikroba secara kualitatif diuji menggunakan metode difusi sumur. Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *E. coli*, *S. aureus*, dan *E. faecalis*. Sebanyak 0,1 µL mikroba uji dipipet ke dalam petridisk yang telah disterilisasi dan dituangkan medium (NA) nutrient agar yang telah disterilisasi dan telah didinginkan sampai dengan suhu kurang lebih 40°C. Selanjutnya ditunggu sampai nutrient agar benar-benar memadat. Setelah dingin dibuat sumur dengan diameter 0,5 cm dan dimasukkan ke ruang dingin selama 4 jam. Selanjutnya ditempatkan dalam suhu kamar dan diinokulasikan 0,1 µL *L. casei* ke dalam sumur agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari dan didinginkan kembali pada suhu 4°C selama 12 jam. Aktivitas antimikroba ditunjukkan adanya daerah bening disepertaran sumur agar.

Untuk mengetahui aktivitas antimikroba secara kuantitatif maka dilakukan uji kontak antara mikroba uji dengan *L. casei* dalam medium susu yang telah difermentasikan dengan *L. casei*. Dalam medium susu fermentasi diinokulasikan mikroba uji beberapa tetes, selanjutnya dihitung jumlah mikroba uji dalam medium susu fermentasi (sebagai jam ke-0). Selanjutnya pada jam ke-7 dihitung kembali jumlah penurunan mikroba uji. Prosentase kematian bakteri uji dihitung sebagai jumlah sel awal (jam ke-0) dikurangi jumlah sel hidup sisa pada jam ke-6 dibagi dengan jumlah sel awal (jam ke-0).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lactobacillus termasuk salah satu bakteri asam laktat. Penampakan koloni yang dibentuk oleh bakteri asam laktat berupa koloni bundar berwarna putih kekuningan dengan bentuk elips dan bersifat anaerob fakultatif dengan zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni. Adapun bentuk koloni *L. casei* yang digunakan dalam penelitian ini disajikan dalam Gambar 1.

Salah satu syarat strain bakteri probiotik adalah strain yang mempunyai kemampuan yang sesuai dengan kondisi

Tabel 1. Hasil pengamatan uji ketahanan terhadap pH rendah

pH	7	3	2,5	2
<i>L. casei</i> (CFU mL ⁻¹)	2,0 × 10 ¹⁰	2,4 × 10 ⁸	9,0 × 10 ²	6

saluran pencernaan yaitu strain harus tahan terhadap garam empedu dan kondisi pH lambung (pH 2,0) apabila dikonsumsi (Walker dan Gillian 1993 dalam Ngatirah *et al.* 2000). Hasil uji ketahanan terhadap pH rendah dapat dilihat pada Tabel 1. Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa *L. casei* mempunyai ketahanan terhadap pH rendah yang cukup besar meskipun penurunan jumlah koloni sangat tajam. Penurunan yang tajam terjadi setelah pH larutan dibawah pH 3. Pada rentang pH 3 sampai dengan pH 2,5 terjadi penurunan jumlah sel mencapai 10⁶ sel. Namun demikian pada pH 2 masih terdapat enam koloni yang mampu bertahan dan tumbuh pada pH 2. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Kashket (1998) dalam Meutia (2000) yang mengatakan bahwa bahwa bakteri asam laktat terutama *Lactobacillus* termasuk bakteri yang paling tahan pada kondisi asam (Kashket 1987 dalam Meutia 2003). Ngatirah *et al.* (2000) juga mendapatkan 3 isolat *Lactobacillus* yang tahan asam hingga pH 2,0 yang diisolasi dari berbagai makanan tradisional yang diduga berpotensi sebagai agensia probiotik. Sebagian besar mikroorganisme hanya mampu bertahan hidup sampai dengan pH 4. Rata-rata bakteri asam laktat hanya mampu bertahan pada pH 2,5-3. Hanya ada beberapa bakteri asam laktat yang mampu bertahan sampai dengan pH 2. Hal ini merupakan sifat keunggulan dari mikroba asam laktat. Sehingga ada beberapa teknik pengawetan makanan memanfaatkan mikroba asam laktat.



Gambar 1. Koloni *L. casei* yang terbentuk pada media MRS agar

Tabel 2. Hasil pengamatan uji ketahanan terhadap garam empedu

Konsentrasi garam empedu	0%	0,5%	1%	5%	10%	15%
<i>L. casei</i> (CFU mL ⁻¹)	$7,7 \times 10^8$	$7,5 \times 10^5$	$9,4 \times 10^3$	$5,3 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antimikroba *L. casei* terhadap mikroba uji dengan metode difusi sumur

No	Mikroba uji	Diameter zona bening (mm)
1	<i>E. coli</i>	13,75
2	<i>S. aureus</i>	16,75
3	<i>E. faecalis</i>	15,4

Salah satu parameter yang harus dimiliki oleh mikroba probiotik adalah tahan terhadap kondisi adanya garam empedu (*bile salt*). Pada Tabel 2 disajikan hasil pengamatan terhadap uji ketahanan *L. casei* terhadap garam empedu pada berbagai konsentrasi. *L. casei* hasil isolasi ini memiliki daya tahan terhadap garam empedu yang cukup tinggi, terbukti sampai dengan konsentrasi garam empedu 15% masih ada sekitar 1000 koloni yang mampu bertahan hidup.

Garam empedu bersifat sebagai senyawa aktif permukaan sehingga dapat menembus dan bereaksi dengan sisi membran sitoplasma yang bersifat lipofilik, menyebabkan perubahan dan kerusakan membran. Kombinasi tersebut bersifat bakterisidal bagi mikroorganisme komensal dalam tubuh manusia kecuali beberapa genus penghuni usus yang tahan terhadap empedu (Meutia 2003). Kemampuan tumbuh pada garam empedu yang dimiliki *Lactobacillus* dikarenakan *Lactobacillus* juga merupakan salah satu genus penghuni saluran pencernaan manusia. Penelitian yang dilakukan oleh Purwandhani *et al.* (2000) telah berhasil mengisolasi *Lactobacillus* dari feses bayi.

Kemampuan isolat *L. casei* hasil isolasi dari susu kerbau yang telah terfermentasi untuk tumbuh pada garam empedu dengan konsentrasi yang dikondisikan seperti pada saluran pencernaan manusia membuktikan bahwa isolat ini juga mempunyai kemampuan yang sama dengan *Lactobacillus* yang diisolasi dari pencernaan manusia. Kemampuan ini memenuhi salah satu syarat untuk menjadi strain probiotik

Tabel 4. Hasil uji kontak antara *L. casei* dengan bakteri uji setelah 7 jam

Bakteri uji	Jumlah koloni (koloni/mL)		Persentase kematian
	pada jam ke-0	pasca kontak selama 7 jam	
<i>E. coli</i>	$1,3 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	23,1%
<i>S. aureus</i>	$1,5 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	33,3%
<i>E. faecalis</i>	$1,1 \times 10^8$	$8,0 \times 10^7$	27,3%

yaitu mampu bertahan dalam saluran pencernaan manusia (Purwandhani *et al.* 2000).

Uji kemampuan sifat-sifat yang harus dimiliki oleh mikroba probiotik adalah kemampuan menghambat bakteri lain khususnya bakteri patogen. Uji ini dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumur, dan secara kuantitatif digunakan uji kontak. Hasil percobaan uji aktivitas antimikroba *Lactobacillus* terhadap mikroba uji disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa *L. casei* positif menghambat *E. coli*, *S. aureus*, dan *E. faecalis*. Namun demikian kemampuan daya hambat *L. casei* terhadap ketiga bakteri uji terlihat berbeda-beda. Terlihat *L. casei* paling kuat menghambat *S. aureus* dengan diameter hambatan sebesar 16,75 mm, selanjutnya *E. faecalis* dengan diameter hambatan 15,4 mm dan *E. coli* dengan diameter hambatan 13,75 mm. Untuk mengetahui daya hambat *L. casei* secara kuantitatif terhadap ketiga bakteri uji maka dilakukan uji kontak antara bakteri uji dengan *L. casei* setelah 7 jam. Hasil percobaan uji kontak antara bakteri uji dengan *L. casei* disajikan dalam Tabel 4

Dari Tabel 4 terlihat bahwa *L. casei* lebih efektif menghambat *S. aureus* dibandingkan dengan *E. faecalis* dan *E. coli*, dengan adanya *L. casei* terjadi penurunan jumlah koloni sampai dengan 33,3%. Selanjutnya pada bakteri uji *E. faecalis* terjadi penurunan jumlah koloni sebanyak 27,3% dan pada bakteri uji *E. coli* terjadi penurunan jumlah koloni sebanyak 23,1%.

KESIMPULAN

Dari percobaan yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa *L. casei* hasil isolasi dari susu kerbau fermentasi memiliki potensi sebagai agensia probiotik. Isolat *L. casei* mampu bertahan hidup sampai dengan pH 2 dan mampu bertahan hidup dalam media dengan kandungan garam empedu sampai dengan 15%. Disamping itu *L. casei* hasil isolasi dari susu kerbau positif menghambat *E. coli*, *S. aureus*, dan *E. faecalis*. Daya hambat *L. casei* terhadap *S. aureus* lebih kuat dibandingkan *E. faecalis* dan *E. coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed Z, Wang Y, Cheng Q, Imran I (2010) *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, from production to their application: an overview. Afr J Biotechnol 9:2843-2850
- Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF (2011) *Probiotics for treating acute infectious diarrhoea*. John Wiley & Sons Ltd. UK
- Daniluk U (2012) Probiotics, the New Approach for Cancer Prevention and/or Potentialization of Anti-Cancer Treatment. J Clin Exp Oncol 1:201-209
- Fardiaz S (1987) *Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor
- Frazier WC, Westhoff DC (1981) *Food Microbiol*. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi
- Gilliland SE, Walker DK (1990) Factor to Consider When Selecting a Culture of *L. acidophilus* as a Dietary Adjunct to Produce a Hypocholesterolemia Effect in Human. J Dairy Sci 73:905-911
- Lamprecht M, Bogner S, Schippinger G, Steinbauer K, Fankhauser F, Hallstroem S, Schuetz B, Greilberger G (2012) Probiotic supplementation affects markers of intestinal barrier, oxidation, and inflammation in trained men; a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. J Intl Soc Sports Nutr 9:1-13
- Meutia YR (2003) Evaluasi potensi Probiotik Isolat Klinis *Lactobacillus* sp. secara *in vitro* dan *in vivo*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Ngatirah, Harmayani E, Rahayu ES, Utami T (2000) Seleksi Bakteri Asam Laktat Sebagai Agensia Probiotik yang Berpotensi Menurunkan Kolesterol. Seminar Nasional Industri Pangan. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia. Surabaya
- Purwandhani SN, Rahayu ES, Harmayani E (2001) Isolasi *Lactobacillus* yang Berpotensi sebagai Kandidat Probiotik. Seminar Nasional Industri Pangan. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan. Surabaya
- Rahayu ES (2001) Potensi dan Peranan Prebiotik dan Probiotik Dalam Makanan Sehat. Seminar Prebiotik, Probiotik dan Makanan Sehat. Fakultas Biologi Universitas Atmajaya. Yogyakarta
- Sofjan O, Aulaniam, Surisdiarta, Rosdiana A, Supiyati (2010) Isolasi dan identifikasi *Bacillus* sp. Dari Usus Ayam Petelur Sebagai Sumber Probiotik. J I Hayati 15: 153-166
- Syukur S, Bisping B, Noli ZA, Purwati E (2013) Antimicrobial Properties and Lactase Activity from Selected Probiotic *Lactobacillus brevis* Associated with Green Cacao Fermentation in West Sumatera Indonesia. J Prob Health 1:1-4