

Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik dari Susu Kuda Bima

Lactic Acid Bacteria from Bima Horse's Milk as a Probiotic Candidates

DEWI ASNITA¹, ANJA MERYANDINI^{1,2*}

¹*Pusat Penelitian Bioteknologi-LPPM-IPB University, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680*

²*Departemen Biologi-FMIPA-IPB University, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680*

Diterima 9 Januari 2023/Diterima dalam Bentuk Revisi 10 Mei 2023/Disetujui 13 Mei 2023

Awareness of the role of healthy food has led to increased public interest in healthy food that has additional functions than as energy fulfillment. One form of the healthy foods is food that contains probiotics, so this study aims to select lactic acid bacteria from milk as probiotic candidates. Lactic acid bacteria isolates from goat, horse and buffalo milk in Indonesia were studied to find the best probiotic candidates out of 100 isolates. Parameters which are measured in this study included resistance to gastric acid, bile salts, aggregation, autoaggregation abilities, and sensitivity to antibiotics. One isolate from Bima horse's milk has the potency as a probiotic candidate. The bacterial isolate from Bima horse's milk has the character of being resistant to acids, and bile salts, sensitive to the two antibiotics tested and can aggregate with *Salmonella* Thypimurium. From molecular identification, the selected Bima horse's milk isolate has similarities with *Lactocaseibacillus rhamnosus* strain MG5511.

Key words: probiotic, lactic acid bacteria, Bima horse's milk, *Lactocaseibacillus rhamnosus*

PENDAHULUAN

Kesadaran akan peranan makanan yang sehat telah menyebabkan minat masyarakat akan makanan yang bukan hanya sebagai penyedia energi menjadi meningkat. Masyarakat menginginkan peran aktif makanan dalam kesejahteraan, perpanjangan hidup serta dalam pencegahan inisiasi, promosi dan perkembangan kanker, penyakit kardiovaskular dan osteoporosis (Grajek *et al.* 2005; Begum *et al.* 2017). Salah satu bentuk makanan sehat adalah makanan yang mengandung probiotik sehingga penelitian ini bertujuan menyeleksi bakteri asam laktat asal susu sebagai kandidat probiotik. Banyak penelitian telah mengkonfirmasi kesehatan saluran pencernaan sangat berperan pada kesehatan individu. Sistem pencernaan manusia mengandung berbagai mikrobiota yang membantu mencerna makanan. Ketidakseimbangan mikrobiota saluran pencernaan dapat pula menyebabkan gangguan neurologis, gangguan inflamasi dan timbulnya penyakit autoimun (Begum *et al.* 2017; Pino *et al.* 2022; Zhu *et al.* 2022; Koduru *et al.* 2022; Patra *et al.* 2022).

Salah satu cara menjaga kesehatan saluran pencernaan adalah dengan mengkonsumsi

probiotik. Probiotik adalah organisme hidup, yang jika diberikan dalam jumlah yang cukup bisa memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan inang (FAO/WHO 2002). Mengonsumsi probiotik dapat mengubah mikrobiota usus dengan meningkatkan jumlah dan diversitas mikroba menguntungkan, yang akan mengubah produk metabolitnya dan akan mereduksi peradangan (Plaza-Diaz *et al.* 2019). Perubahan komposisi mikrobiota dapat turut berperan dalam mencegah penyakit Alzheimer (Kowalski & Mulak 2019). Bakteri Asam Laktat (BAL) dikenal sebagai probiotik karena memiliki kriteria yang dapat memberikan pengaruh positif bagi inangnya seperti non patogen, mampu beradaptasi dalam saluran pencernaan, memiliki kemampuan antagonistik terhadap bakteri enterik dan mampu menempel serta mempertahankan jumlah sel hidupnya dalam saluran pencernaan manusia (Perricone *et al.* 2015; Panjaitan *et al.* 2018; Mulaw *et al.* 2019).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang banyak terdapat dalam saluran pencernaan hewan dan manusia. Beberapa penelitian mengisolasi bakteri asam laktat dari buah, kakao maupun madu (Karyawati *et al.* 2018; Meryandini *et al.* 2019; Riani *et al.* 2020). Susu yang diproduksi hewan baik itu kuda, kambing maupun manusia diketahui mengandung bakteri asam laktat

*Penulis korespondensi:

E-mail: ameryandini@apps.ipb.ac.id

(Łubiech & Twaru'zek 2020; Fidien *et al.* 2021; Veettil & Chitra 2022). Sebanyak 100 isolat yang diduga termasuk dalam golongan bakteri asam laktat sudah diisolasi dari susu kambing, kuda dan kerbau, sehingga pada penelitian diseleksi bakteri yang memiliki karakter sebagai kandidat probiotik. Beberapa parameter yang merupakan syarat probiotik diamati pada penelitian ini.

BAHAN DAN METODE

Isolat Bakteri Probiotik. Sebanyak 100 isolat kandidat bakteri asam laktat yang sudah diisolasi oleh PT Haldin Pacific Semesta berasal dari kambing asal Tangerang (kode MB1-3), kuda asal Bima (kode KD1-6, 8-9), dan kerbau (kode KB1-2) asal Sumbawa, yang sedang menyusui. Sebanyak 32 isolat berasal dari susu kambing, 52 isolat dari susu kuda dan 16 isolat dari susu kerbau.

Peremajaan Isolat dan Produksi Asam Laktat. Kandidat isolat BAL diremajakan secara anaerobik pada 10 ml media kaldu deMann Rogosa Sharpe (MRS) steril selama 48 jam pada suhu 37°C. Bakteri yang telah tumbuh digoreskan pada media padat MRS untuk melihat kemurniannya, kemudian disimpan pada agar miring sebagai stok.

Inokulum disiapkan dengan menginokulasikan sebanyak 1 ose kandidat isolat BAL berumur 48 jam pada MRSA ke 5 ml media MRSB kemudian diinkubasi selama 24 jam. Kultur dipanen dan diinokulasikan secara point inoculation pada media MRSA yang mengandung CaCO₃ 1% (b/v) kemudian diinkubasi selama 48 jam dan dilihat pembentukan zona beningnya. Isolat yang terpilih adalah isolat yang memiliki zona bening di sekitar koloninya.

Toleransi Isolat Bal Terhadap Garam Empedu. Kemampuan tumbuh BAL dalam media mengandung garam empedu dilakukan berdasarkan Panjaitan *et al.* (2018). MRS broth dengan kandungan 0,5% (w/v) Oxgall diinokulasikan dengan kultur BAL berumur 24 jam dan diinkubasi selama 5 jam pada suhu 37°C. Kemampuan tumbuh isolat diamati melalui OD dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Isolat yang mampu tumbuh diuji kembali ketahanannya terhadap garam empedu dengan penghitungan berdasarkan selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh di awal inokulasi (T0) dan setelah 5 jam inkubasi (T5).

Toleransi Isolat Bal Terhadap Kondisi Asam. Kemampuan tumbuh isolat BAL pada media dengan pH rendah dilakukan berdasarkan metode Phong *et al.* (2017) dengan modifikasi. Media MRS broth disesuaikan pHnya menjadi pH 2,0 menggunakan HCl 1 N dan diinokulasikan dengan 1% (6,0 log CFU/ml) kultur BAL dan diinkubasi selama 2 jam pada

suhu 37°C. Kemampuan tumbuh isolat pada media dengan pH 2 dihitung berdasarkan selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh pada diawal inokulasi (T0) dan setelah 2 jam inokulasi (T2).

Kepekaan Terhadap Antibiotik. Kepekaan isolat BAL terhadap antibiotik dilakukan dengan metode difusi cakram (Bauer *et al.* 1966). Antibiotik yang digunakan adalah kloramfenikol (stok 20 mg/ml) dan Ciprofloxacin (stok 0,1 mg/ml) (Hamida *et al.* 2015; Liu *et al.* 2020) Larutan antibiotik tersebut kemudian disterilkan menggunakan membran filter (ukuran pori 0,22 µm). Cawan petri yang mengandung MRS padat sebelumnya telah diinokulasikan dengan 200 µl (7,0-8,0 log CFU/ml) kultur BAL. Setelah piringan agar memadat, kertas cakram steril diletakkan di atas permukaan agar secara aseptis dan ditambahkan sebanyak 20 µl masing-masing larutan, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diukur diameter zona bening yang terbentuk.

Autoagregasi dan Koagregasi. Kemampuan autoagregasi dan koagregasi dilakukan berdasarkan metode Panjaitan *et al.* (2018). Pengamatan autoagregasi dilakukan dengan menumbuhkan isolat BAL pada media MRS broth selama 18 jam pada suhu 37°C, kemudian dipanen dan pelet yang diperoleh kemudian dicuci sebanyak 2 kali dengan *phosphate buffer saline* (PBS) dan disuspensikan kedalam PBS hingga mencapai jumlah 10⁸ CFU/ml. Kemampuan autoagregasi ditentukan dengan mengukur absorbansi awal (jam ke-0) dan absorbansi akhir (jam ke-5) pada suhu ruang menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Persentase autoagregasi dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Autoagregasi (\%)} = 1 - (A_t / A_0) \times 100$$

Keterangan:

A_t = nilai absorbansi pada jam ke-5 inkubasi

A₀ = nilai absorbansi pada jam ke-0 inkubasi

Kemampuan koagregasi dilakukan sama seperti autoagregasi, akan tetapi ditambahkan dengan sel bakteri patogen. Masing-masing suspensi BAL dan bakteri patogen diambil sebanyak 2 ml dan dicampurkan ke dalam tabung kosong. Tabung kontrol berisi 4 ml masing-masing suspensi sel bakteri patogen yang digunakan. Koagregasi dihitung dengan mengukur absorbansi awal (jam ke-0) dan absorbansi akhir (jam ke-5) setelah inkubasi pada suhu ruang menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Persentase koagregasi dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Koagregasi (\%)} = [(A_x + A_y) / 2 - A_x + y] / (A_x + A_y) \times 100$$

Keterangan:

Ax = absorbansi suspensi isolat BAL
 Ay = absorbansi suspensi isolat patogen
 Ax + y = absorbansi campuran suspensi isolat BAL dan pathogen

Identifikasi Molekular BAL. Isolat BAL kandidat probiotik diidentifikasi secara molekuler primer universal 63F (5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC-3') dan 1387R (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3') (Marchesi *et al.* 1998). Kondisi PCR sebanyak 35 siklus terdiri atas pre-denaturasi pada 94°C selama 5 menit, denaturasi pada 94°C selama 30 detik, penempelan pada 55°C selama 45 detik, pemanjangan pada 72°C selama 1 menit 30 detik, setelah pemanjangan pada 72°C selama 10 menit, dan pendinginan pada suhu 4°C. Produk PCR kemudian dikirim pada jasa sekuensing 1st Base Malaysia untuk memperoleh runutan basa nukleotida. Hasil runutan basa nukleotida dianalisis menggunakan program *nucleotide basic local alignment search tool* (BLAST-n).

HASIL

Produksi Asam Laktat. Dari 100 isolat yang diujikan hanya 43 isolat yang mempunyai zona bening, sehingga 43 isolat ini dilanjutkan pada seleksi berikutnya.

Toleransi Isolat BAL Terhadap Garam Empedu. Dari Tabel 1 dapat terlihat bahwa terdapat 14 isolat memiliki kenaikan OD diatas 0,2 dan terpilih untuk diuji lebih lanjut yaitu KD1.6, KD2.15, KD3.20, KD5.31, KD6.32, KD6.33, KD6.35, KD6.36, MB1.10, MB1.11, MB1.14, MB1.19, MB2.2 dan MB3.29 memiliki ketahanan terhadap garam empedu yang lebih baik dari isolat lain, sehingga ke 14 isolat ini dilanjutkan dengan menghitung jumlah koloni setelah inkubasi pada media yang mengandung garam empedu (Tabel 2).

Toleransi Terhadap Kondisi Asam. Dari 14 isolat yang diuji hanya 11 isolat yang mampu tumbuh pada kondisi asam yaitu yang mengalami penurunan tidak sampai 3 log CFU. Pada Tabel 3 terbaca bahwa semua isolat yang diuji mengalami penurunan jumlah sel bila diinkubasi pada kondisi asam, namun isolat MB1.14 merupakan isolat yang paling tahan terhadap kondisi asam.

Kepekaan Terhadap Antibiotik. Isolat yang diuji semuanya peka terhadap kloramfenikol, sedangkan isolat MB1.10, MB1.19, MB2.2, KD1.6, KD2.15, KD6.33 menunjukkan tergolong intermediet terhadap antibiotik Ciprofloxacin seperti yang ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 1, Densitas optik isolat bakteri asam laktat sebelum dan setelah inkubasi dalam media yang mengandung 0,3% bile salt

Kode isolat	OD 0 jam	OD 6 jam
KD1,3	0,267	0,29
KD1,6	0,309	0,573
KD1,7	0,265	0,256
KD1,8	0,338	0,266
KD2,14	0,222	0,22
KD2,15	0,272	0,991
KD3,19	0,303	0,389
KD3,20	0,319	1,084
KD4,22	0,281	0,329
KD4,23	0,35	0,43
KD4,24	0,47	0,656
KD5,27	0,496	0,365
KD5,28	0,216	0,241
KD5,30	0,26	0,315
KD5,31	0,262	0,497
KD6,32	0,267	0,538
KD6,33	0,236	0,532
KD6,35	0,244	0,519
KD6,36	0,245	0,587
KD8,37	0,24	0,432
KD8,38	0,156	0,232
KD8,39	0,144	0,218
KD8,40	0,249	0,333
KD8,41	0,224	0,398
KD9,46	0,189	0,23
KD9,50	0,135	0,222
KD9,51	0,188	0,19
KD9,52	0,302	0,395
MB1,10	0,171	0,522
MB1,11	0,25	0,679
MB1,14	0,167	0,447
MB1,15	0,27	0,195
MB1,19	0,219	0,62
MB1,20	0,173	0,224
MB1,21	0,305	0,352
MB2,2	0,205	0,519
MB2,4	0,267	0,132
MB2,5	0,268	0,4
MB3,27	0,449	0,509
MB3,29	0,192	0,509
MB3,30	0,377	0,263
MB3,32	0,301	0,409

Tabel 2, Densitas BAL setelah 5 jam waktu inkubasi pada media MRS yang mengandung 0,5% garam empedu

Kode isolat	Jumlah bakteri (log CFU/ml)	
	0 jam	6 jam
KD 1,6	7,1±0,8	5,8±0,4
KD 2,15	7,2±0,6	6,7±0,0
KD 6,35	7,2±0,9	5,7±0,3
KD3,20	8,3±0,8	6,8±0,7
KD5,31	7,5±0,4	5,4±0,1
KD6,32	6,9±0,7	4,5±0,0
KD6,33	7,0±0,9	5,1±0,6
KD6,36	7,4±0,9	6,0±0,2
MB1,10	7,3± 0,7	6,8±0,7
MB1,11	6,9±1,1	6,6±0,7
MB1,14	7,2±0,5	6,2±0,2
MB1,19	7,2±0,6	6,7±0,5
MB2,2	7,5±0,2	6,5±0,7
MB3,29	6,1±0,5	5,1±0,3

Tabel 3, Densitas BAL setelah 2 jam waktu inkubasi pada pH 2

Kode isolat	Jumlah bakteri (log CFU/ml)	
	0 jam	setelah 3 jam inkubasi
KD2,15	9,1±0,6	6,7±0,5
MB3,29	9,0±0,6	6,2±0,6
MB1,14	7,3±0,1	6,9±0,3
KD6,35	7,4±0,8	6,4±0,6
KD6,36	7,8±0,6	6,1±0,6
MB1,10	8,0±0,1	6,0±0,0
MB2,2	8,6±0,3	6,3±0,2
MB1,11	8,7±0,5	7,1±0,0
KD1,6	7,8±0,5	6,1±0,8
KD3,20	7,6±0,5	6,2±0,4
KD5,31	7,5±1,1	5,6±0,7

Tabel 4. Interpretasi kepekaan isolat BAL kandidat probiotik terhadap antibiotik

Kode isolat	kloramfenikol	Ciprofloxacin
MB 1.10	S	I
MB 1.11	S	S
MB 1.14	S	S
MB 1.19	S	I
MB 2.2	S	I
MB 3.29	S	S
KD 1.6	S	I
KD 2.15	S	I
KD 3.20	S	S
KD 5.31	S	S
KD 6.32	S	S
KD 6.33	S	I
KD 6.35	S	S
KD 6.36	S	S

[Interpretasi kepekaan BAL terhadap antibiotik: R = Resisten, I = Intemediat, S = Sensitif]. Penentuan interpretasi berdasarkan: Kloramfenikol (R = diameter zona hambat \leq 12, I = 12 mm < diameter zona hambat < 18 mm, S = diameter zona hambat \geq 18 mm) Ciprofloxacin berdasarkan Mukherjee (1988) D > 12 = Sensitif, 4 < D \leq 12 = Intermediet, D = 4 = Resisten

Tabel 7. Persentase kemiripan sekuen gen 16S rRNA isolat BAL

Kode isolat	Spesies	Max score	Total score	Query cover	E-value	Similarity	Accession length	Accession no
KD2.15	<i>Enterococcus faecalis</i> strain ASV210624	2265	2265	100%	0.0	99.60%	1418	ON715862.1
KD320	<i>Lactacaseibacillus rhamnosus</i> strain MG5511	2187	2187	100%	0.0	100.00%	1441	ON631745.1

Kemampuan Autoagregasi dan Koagregasi.

Ketiga isolat yang diuji, memiliki kemampuan autoagregasi yang berbeda. Kemampuan autoagregasi tertinggi dimiliki oleh isolate KD 1.6, diikuti oleh isolat KD 3.20 dan KD 2.15 (Tabel 5). Kemampuan koagregasi tertinggi dengan isolat *Salmonella thypimurium* dimiliki oleh isolat KD2.15, sedangkan isolat KD1.6 tidak memiliki kemampuan koagregasi dengan *Salmonella Thypimurium* (Tabel 6).

Identifikasi Molekuler.

Diidentifikasi secara molekuler menggunakan gen 16S RNA diketahui bahwa isolat KD2.15 berkerabat dengan *Enterococcus faecalis* dan isolat KD3.20 memiliki kekerabatan dengan *Lactacaseibacillus rhamnosus strain* MG5511 (Tabel 7).

PEMBAHASAN

Bakteri Asam laktat dapat diperoleh dari berbagai sumber seperti dari susu. Penelitian oleh Fidien *et al.* 2021 mengidentifikasi 8 isolat bakteri asam laktat dari

Tabel 5. Kemampuan autoagregasi 3 isolat Bakteri Asam Laktat terpilih

Kode isolat	Kemampuan autoagregasi (%)
BAL KD 1.6	37
BAL KD 2.15	20
BAL KD 3.20	28

Tabel 6. Kemampuan agregasi 3 isolat Bakteri Asam Laktat terpilih dengan *Salmonella thypimurium*

Kode isolat	Kemampuan agregasi (%)
BAL KD 1.6	0
BAL KD 2.15	39
BAL KD 3.20	8

susu kuda Bima dan memiliki sifat antioksidan dan penghambatan terhadap α -glukosidase. *Lactobacillus plantarum* 09 dari susu kambing memproduksi bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Veettil & Chitra 2022). Penelitian de Andres *et al.* 2017 membuktikan bahwa bakteri asam laktat pada saluran pencernaan mencit hamil dapat sampai ke air susu dan mempengaruhi microbiota anaknya. Bakteri asam laktat dicirikan dengan produksi asam laktat sehingga salah satu kriteria dalam isolasi bakteri asam laktat adalah pembentukan zona bening pada media MRSA dengan penambahan CaCO_3 . Zona bening yang ditimbulkan pada pertumbuhan isolat pada media MRSA dengan penambahan CaCO_3 menunjukkan terbentuknya senyawa asam yang kemudian bereaksi dengan CaCO_3 menjadi Ca-Laktat sehingga dapat larut dalam air dan membentuk zona bening di sekitar koloni (Nuryady *et al.* 2013).

Probiotik memiliki peran pada kesehatan manusia melalui metabolismenya di dalam usus besar/kolon, sehingga probiotik yang dikonsumsi harus dapat melalui saluran pencernaan hingga ke usus besar. Untuk dapat mencapai usus besar probiotik akan melalui lambung dan usus halus dimana kedua organ ini memiliki kondisi yang berbeda, sehingga seleksi sebagai kandidat probiotik termasuk toleransi terhadap garam empedu. Saluran usus mengandung garam empedu rata-rata sekitar 0,3% (b/v) (Guo *et al.* 2012). Toleransi BAL terhadap garam empedu juga berkorelasi terhadap kemampuan BAL dalam menurunkan kadar kolesterol (Garcia *et al.* 2016).

Untuk sampai di kolon, bakteri probiotik harus mampu melewati lambung yang memiliki kondisi asam, sehingga toleransi terhadap kondisi asam merupakan syarat fisiologis penting yang harus dimiliki BAL (Mulaw *et al.* 2019).

Sensitivitas bakteri terhadap antibiotik sebagai kandidat probiotik sangatlah penting karena akan mencegah transfer gen resisten terhadap antibiotik tersebut ke sel patogen. EFSA (2012) menyatakan syarat BAL sebagai kandidat probiotik adalah tidak memiliki kemampuan mentransfer gen resisten. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik dapat mentransfer plasmid R atau gen-gen yang mengkode sifat resistensi bakteri kepada bakteri lain (Sunatmo 2009).

Kemampuan koagregasi dengan bakteri patogen dapat dihubungkan dengan kemampuannya menghambat patogen yang terbawa dalam makanan (Bujnakova & Kmet 2002). Kemampuan autoagregasi menunjukkan potensi untuk menempel pada epitel usus sehingga autoagregasi merupakan salah satu syarat yang harus dimiliki oleh bakteri kandidat probiotik (Kos *et al.* 2003). Wang *et al.* (2010) menyatakan galur bakteri dengan kemampuan autoagregasi

setidaknya 40% dikategorikan sebagai bakteri dengan sifat autoagregasi yang baik, sedangkan kemampuan autoagregasi kurang dari 10% dikategorikan memiliki nilai autoagregasi yang lemah. Ketiga isolat terpilih memiliki kemampuan autoagregasi dibawah 40% namun diatas 10%. Sifat koagregasi merupakan sifat yang harus dimiliki bakteri probiotik sebagai penghambat kolonisasi bakteri patogen pada saluran pencernaan (Kos *et al.* 2003). Nilai koagregasi dapat dikategorikan sebagai koagregasi kuat jika memiliki nilai >30% (Panjaitan *et al.* 2018).

Identifikasi secara molekuler menunjukkan kekerabatan isolate KD2.15 dengan bakteri *E. faecalis* yang dapat menyebabkan penyakit endokarditis pada manusia (Vijaykrishnan & Rapose 2012), sehingga memerlukan penelitian lebih lanjut untuk melihat patogenitas bakteri ini. Isolat KD3.20 memiliki kekerabatan dengan *Lactocaseibacillus rhamnosus*. *Lactocaseibacillus rhamnosus* diketahui memiliki daya hambat yang luas terhadap patogen vagina, memiliki aktivitas anti inflamasi dan antioksidan (Pino *et al.* 2022)

Kesimpulannya, dari penelitian ini telah diseleksi 100 isolat kandidat bakteri asam laktat sebagai kandidat probiotik. Isolat KD 3.20 memiliki karakter tahan terhadap asam dan garam empedu, sensitif terhadap kedua antibiotik yang diuji dan memiliki kemampuan agregasi dengan bakteri *Salmonella* Thypimurium. Diidentifikasi secara molekuler, isolat KD3.20 memiliki kemiripan dengan *Lactocaseibacillus rhamnosus* strain MG5511. Dengan karakter yang dimilikinya maka isolat dari susu kuda Bima tersebut dapat menjadi kandidat probiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai PT Haldin Pacific Semesta melalui Kontrak Kerjasama dengan No 4622/IT3.F7/HK.07.00/2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Amr J of Clin Path* 45:493-496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493
- Begum PS, Madhavi G, Rajagopal S, Viswanath B, Razak MA, Venkataratnamma V. 2017. Probiotics as functional foods: potential effects on human health and its impact on neurological diseases. *Int J of Nutri, Pharmaco, Neuro Diseases* 7:23-33. https://doi.org/10.4103/ijnpnd.ijnpnd_90_16
- Bujnakova D, Kmet V. 2002. Aggregation of animal lactobacilli with O157 enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Helath* 49:152-154. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2002.00526.x>

- de Andrés J, Jiménez E, Chico-Calero I, Fresno M, Fernández L, Rodríguez JM. 2018. Physiological translocation of lactic acid bacteria during pregnancy contributes to the composition of the milk microbiota in mice. *Nutrients* 10:14. <https://doi.org/10.3390/nu10010014>
- EFSA. 2012. Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA J* 10:2740. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2740>
- [FAO/WHO] Food and Agriculture Organization of The United Nations and The World Health Organization. 2002. Joint FAO/WHO Working Group report on Drafting Guidelines for the Evaluatio of Probiotics in Food. London: G.P. Putnam's Sons.
- Fidien KA, Manguntungi B, Sukmarini L, Mustopa AZ, Triratna L, Fatimah, Kusdianawati. 2021. Diversity analysis, identification, and bioprospecting of Lactic Acid Bacteria (LAB) isolated from Sumbawa horse milk. *Biodiversitas* 22:3333-3340. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220639>
- Garcia EF, Luciano WA, Xavier DE, DaCosta WC, Oliviera KD, Franco OL, Junior MAD, Lucena BTL, Picao RC, Magnani M, Saarela M, DeSouza EL. 2016. Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing byproducts and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. *Front Microbiol* 7:1-11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01371>
- Grajek W, Olejnik A, Sip A. 2005. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica* 52:665-671. https://doi.org/10.18388/abp.2005_3428
- Guo CF, Zhang LW, Li JY, Zhang YC. 2012. Screening of bile salt hydrolase-active lactic acid bacteria for potential cholesterol-lowering probiotic use. *Adv Mater Res* 345:139-146. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.345.139>
- Hamida F, Wiryawan KG, Meryandini A.2015. Selection of lactic acid bacteria as probiotic candidate for chicken. *Media Peternakan* 38:138-144. <https://doi.org/10.5398/medpet.2015.38.2.138>
- Karyawati AT, Nuraida L, Lestari L, Meryandini A.2018. Characterization of abundance and diversity of lactic acid bacteria from *Apis dorsata* hives and flowers in East Nusa Tenggara, Indonesia. *Biodiversitas* 19:899-905.<https://doi.org/10.13057/biodiv/d190319>
- Koduru L, Lakshmanan M, Hoon S, Lee DY, Lee YK and Ow DSW. 2022. Systems biology of gut microbiota-human receptor interactions: toward anti-inflammatory probiotics. *Front. Microbiol.* 13:846555. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.846555>
- Kos B, Suskovic J, Vukovic S, Simpraga M, Freece J, Maticic S. 2003. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *J Appl Microbiol* 9:981-987. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01915.x>
- Kowalski K, Mulak A 2019. Brain-gut-microbiota axis in alzheimer's disease. *J Neurogastroenterol Motil* 25:48-60. <https://doi.org/10.5056/jnm18087>
- Liu Y, Moore JH, Kollings GL, McGrath JS, Papin JA, Swami NS. 2020. Minimum bactericidal concentration of ciprofloxacin to *Pseudomonas aeruginosa* determined rapidly based on pyocyanin secretion. *Sens Actuators B Chem.* 312: 127936 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127936>
- Lubiech K, Twaru' zek M.2020. Review: Lactobacillus bacteria in breast milk. *Nutrients* 12:3783. <https://doi.org/10.3390/nu12123783>
- Marchesi JR, Sato T, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC, Hiom SJ, Wade WG. 1998. Design and evaluation on useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 64:795-799. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.2.795-799.1998>
- Meryandini A, Basri A, Sunarti TC. 2019. Peningkatan kualitas biji kakao (*Theobroma cacao* l) melalui fermentasi menggunakan *lactobacillus* sp. dan *Pichia kudriavzevii*. *J.Nioteknologi dan Biosains Indonesia* 6:11-19. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v6i1.3048>
- Mukherjee KL. 1988. Medical Laboratory Technology (A Procedur Manual for Routine Diagnostic Test). New Delhi: Rajkamal Electric Press.
- Mulaw G, Tessema TS, Muleta D, Tesyafe A. 2019. *In vitro* evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from some traditionally fermented Ethiopian food products. *Int J Microbiol* 2019:1-11. <https://doi.org/10.1155/2019/7179514>
- Nuryady MM, Istiqomah T, Faizah R, Ubaidillah S, Mahmudi Z, Sutoyo. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat asal youghurt. *UNEJ JURNAL* 1:1-11.
- Panjaitan R, Nuraida L, Hariyadi RD. 2018. Seleksi isolat bakteri asam laktat asal tempe dan tape sebagai kandidat probiotik. *J Teknol dan Ind Pang* 29:175-184. <https://doi.org/10.6066/jtip.2018.29.2.175>
- Patra S, Sahu N, Saxena S, Pradhan B, Nayak SK and Roychowdhury A.2022. Effects of probiotics at the interface of metabolism and immunity to prevent colorectal cancer-associated gut inflammation: a systematic network and meta-analysis with molecular. *Front. Microbiol* 13:878297. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.878297>
- Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, and Gil A. 2019. Mechanisms of action of probiotics. *Adv Nutr* 10:49-66. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy063>
- Perricone M, Bevilacqua A, Altieri C, Sinigaglia M, Corbo MR. 2015. Challenge for the production of probiotic fruit juices. *Beverages.* 1:95-103. <https://doi.org/10.3390/beverages1020095>
- Phong HX, Quyen NN, Long BHD, Dung NTP. 2017. Selection of high acid producing lactic acid bacteria and potential application in pineapple juice fermentation. *Bioprocess Eng* 1:58-64.
- Pino A, Vaccalluzzo A, Caggia C, Balzaretto S, Vanella L, Sorrenti V, Ronkainen A, Satokari R and Randazzo CL. 2022. *Lacticaseibacillus rhamnosus* CA15 (DSM 33960) as a candidate probiotic strain for human health. *Nutrients* 14:1-13. <https://doi.org/10.3390/nu14224902>
- Riani CR, Nuraida L, Meryandini. 2020. Isolasi bakteri asam laktat asal jus nanas sebagai kandidat probiotik. *J Teknol & Indus Pangan* 31:103-112. <https://doi.org/10.6066/jtip.2020.31.2.103>
- Sunatmo TI. 2009. Mikrobiologi Esensial: Keragaman Prokariot Bakteria Filum 2 dan 3 Gram Positif dan Aktinobakteria. Jakarta: Penerbit Ardy Agency.
- Veettil VN, Chitra AV.2022. Probiotic lactic acid bacteria from goat's milk potential producer of bacteriocin: evidence from liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 16:305-317. <https://doi.org/10.22207/JPAM.16.1.19>
- Vijaykrishnan R, Rapose A. 2012. Fatal *Enterococcus durans* aortic valve endocarditis: a case report and review of the literature. *BMJ* 2012:1-4. <https://doi.org/10.1136/bcr-02-2012-5855>
- Wang LQ, Meng XC, Zhang BR, Wang Y, Shang YL. 2010. Influence of cell surface properties on adhesion ability of Bifidobacteria. *World J Microbiol Biotechnol* 26:1999-2007. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0384-9>
- Zhu Y, Li Y, Zhang Q, Song Y, Wang L and Zhu Z.2022. Interactions between intestinal microbiota and neural mitochondria: a new perspective on communicating pathway from gut to brain. *Front Microbiol* 13:798917. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.798917>