

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI ANTARA *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 DAN *Lactobacillus casei* KOMERSIL TERHADAP *Staphylococcus aureus* FNCC-15 DAN *Escherichia coli* FNCC-19

THE COMPARISON OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY BETWEEN *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 AND *Lactobacillus casei* commercial AGAINST *Staphylococcus aureus* FNCC-15 AND *Escherichia coli* FNCC-19

Fitri Khairunnisa¹ dan Usman Pato²

Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau
f3khairunisa@gmail.com (085271970397)

ABSTRACT

The purpose of the study was to compare the antibacterial activity of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 and *Lactobacillus casei* commercial against *Staphylococcus aureus* FNCC-15 and *Escherichia coli* FNCC-19. The research was carried out experimentally by testing isolates of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 and *Lactobacillus casei* commercial in a petri dish that already contains pathogenic bacteria. Antibacterial activity was tested using the well diffusion method, the data obtained were analyzed descriptively. The results showed that *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 has the ability to inhibit pathogenic bacteria by inhibition smaller than *Lactobacillus casei* commercial. The average inhibition zone diameter of lactic acid bacteria isolates against *Staphylococcus aureus* FNCC-15 ranged from 7.40 to 8.10 mm and *Escherichia coli* ranged from 9.80 to 10.23 mm.

Keywords : Antimicrobials, Lactic acid, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68, *Lactobacillus casei* commercial.

PENDAHULUAN

Antimikroba merupakan senyawa yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme. Senyawa antimikroba dapat berasal dari zat yang terdapat pada ekstrak tumbuhan dan hewan serta zat-zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Salah satu kelompok bakteri yang menghasilkan senyawa bersifat antimikroba yaitu Bakteri Asam Laktat (BAL). Bakteri Asam Laktat adalah kelompok bakteri yang menghasilkan asam

laktat sebagai hasil utama dalam metabolisme karbohidrat.

Buckle dkk. (2007) menyatakan bahwa asam laktat yang dihasilkan BAL dapat menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Hal inilah yang menyebabkan BAL dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis mikroba. Bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan senyawa antimikroba salah satunya yaitu bakteri yang berasal dari genus *Lactobacillus*. Rahayu (2001)

menyebutkan bahwa genus *Lactobacillus* mempunyai beberapa kelebihan yang berpotensi untuk digunakan sebagai agen probiotik, diantaranya adalah mampu bertahan pada pH rendah, tahan terhadap garam empedu, memproduksi antimikroba dan memiliki daya antagonistik terhadap patogen.

Beberapa spesies dari kelompok BAL terutama dari kelompok *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* telah dikarakterisasi sebagai probiotik. Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi akan memberikan manfaat kesehatan bagi yang mengkonsumsinya serta memberikan efek yang baik bagi inangnya. Allen dkk. (2011) menyatakan bahwa syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agen probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu juga menghasilkan substansi antimikroba sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen.

Salah satu BAL probiotik yang berasal dari genus *Lactobacillus* serta dapat menghasilkan senyawa antimikroba yaitu *Lactobacillus casei*. Hasil penelitian Sunaryanto dkk. (2014) menyatakan bahwa *Lactobacillus casei* positif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah bakteri patogen yang sering menyebabkan penyakit pada manusia misalnya diare pada anak dan juga menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus (Widyarto, 2009). Menurut Jawetz dan Adelberg (2005) bakteri *Staphylococcus*

aureus memiliki angka resistensi tertinggi terhadap antibiotik yaitu 77% dan pada urutan kedua diikuti oleh *Escherichia coli* dengan angka resistensi 12%.

Beberapa isolat BAL probiotik telah diisolasi dari beberapa sumber, salah satunya adalah dari dadih. Dadih merupakan produk susu fermentasi di dalam tabung bambu. Menurut Pato (2012) dadih memiliki empat genus BAL yang berpotensi digunakan sebagai probiotik yaitu *Lactobacillus* sp, *Streptococcus* sp, *Leuconostoc* sp dan *Lactococcus* sp. Salah satu strain *Lactobacillus* sp yang terdapat dalam dadih adalah *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68. Isolat ini telah digunakan dalam beberapa pembuatan produk seperti susu fermentasi, minuman probiotik dan lain-lain. Namun kemampuannya sebagai antimikroba belum diketahui.

Perusahaan Yakult Honsha juga telah mengembangkan *Lactobacillus casei* strain Shirota sebagai probiotik yang diaplikasikan secara komersil dalam minuman fermentasi yaitu Yakult. Bakteri *Lactobacillus casei* strain Shirota pertama kali diisolasi oleh Dr. Minoru Shirota pada tahun 1930 dari feses manusia. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Yuki dkk. (1999) terhadap feses sukarelawan yang telah mengonsumsi produk susu fermentasi mengandung bakteri *Lactobacillus casei* strain Shirota sebanyak 10^{10} CFU/mL selama tiga hari berturut-turut hasilnya menunjukkan bahwa pada feses sukarelawan tersebut mengandung *Lactobacillus casei* strain Shirota sebanyak 10^7 CFU/mL per gram feses. Hal ini menunjukkan bahwa *Lactobacillus casei* strain Shirota

mampu melewati saluran pencernaan dalam keadaan hidup.

Waspodo (2002) menyatakan bahwa tidak semua BAL bersifat probiotik. Bakteri probiotik yang sudah melalui uji klinis salah satunya adalah *Lactobacillus casei* strain Shirota yang terdapat dalam yakult. Hasil penelitian Purwijantiningasih

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Riau. Waktu penelitian berlangsung selama 3 bulan yaitu pada bulan April hingga Juni 2016.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 yang diperoleh dari koleksi pribadi Prof. Dr. Ir. Usman Pato, M.Sc., bakteri pembanding *Lactobacillus casei* komersil yang sudah teruji sebagai bakteri yang bersifat probiotik dan menghasilkan antimikroba, bakteri uji *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, medium yang digunakan *deMan Rogosa Sharp Broth* (MRS-B), *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB), larutan NaOH 1 N, alkohol, spritus, kertas label, tisu dan akuades.

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah erlenmeyer, cawan petri, jarum ose, *beaker glass*, tabung reaksi, *autoclave*, pH meter, pipet tetes, mikro pipet, timbangan analitik, *refrigerator*, *laminar air*

(2013) menunjukkan bahwa bakteri *Lactobacillus casei* strain Shirota menghasilkan zat antimikroba yang memiliki kemampuan menghambat bakteri patogen relatif besar dengan luas zona hambat 12,56 mm² terhadap *Staphylococcus aureus* dan 1,57 mm² terhadap *Escherichia coli*.

flow, alat sentrifugasi, inkubator, *hot plate*, *magnetic stirrer*, batang pengaduk, *automatic mixer*, penangas air, kompor listrik, rak tabung reaksi, spatula, *hockey stick*, jangka sorong, gelas ukur, gunting, *cellotape*, lampu bunsen, aluminium foil, plastik wrap, plastik kaca, karet, dan alat-alat tulis.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimen dengan menguji *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 dan *Lactobacillus casei* komersil di dalam cawan petri yang sudah berisi bakteri patogen *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi sumuran dengan 4 kali pengujian dan setiap pengujian diukur sebanyak tiga kali pada posisi yang berbeda, data yang diperoleh dirata-ratakan dan dianalisis secara deskriptif.

Pelaksanaan Penelitian

Sterilisasi Peralatan

Peralatan gelas seperti tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, pipet tetes kaca serta gelas ukur terlebih dahulu dicuci sampai bersih dengan detergen lalu dikeringkan dan dihindarkan dari kotoran dan debu. Peralatan tersebut disterilkan di dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1

atm. Jarum ose disterilkan dengan membakarnya di atas lampu bunsen sampai membara.

Pembuatan Medium

a. Medium *deMan Rogosa Sharp Broth* (MRS-B)

Medium MRS-B adalah medium yang digunakan untuk memperbanyak bakteri. Pembuatan medium MRS-B yaitu dengan melarutkan 1,045 gram bubuk MRS-B ke dalam 20 ml akuades di dalam erlenmeyer. Selanjutnya didistribusikan ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 ml dan ditutup dengan kapas. Kemudian disterilkan dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 1 atm.

b. Medium *Nutrient Broth* (NB)

Medium NB digunakan untuk memperbanyak bakteri patogen. Pembuatan medium NB yaitu dengan melarutkan 0,8 gram bubuk NB ke dalam 100 ml akuades. Selanjutnya larutan tersebut didistribusikan ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 ml lalu ditutup dengan kapas dan dilapisi dengan aluminium foil serta diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu medium NB disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Medium *Nutrient Agar* (NA)

Medium NA akan digunakan untuk pengujian antibakteri. Pembuatan medium ini adalah dengan melarutkan 23 gram bubuk NA ke dalam 1 liter akuades dalam erlenmeyer lalu dipanaskan dan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga homogen. Lalu medium NA disterilkan menggunakan *autoclave*

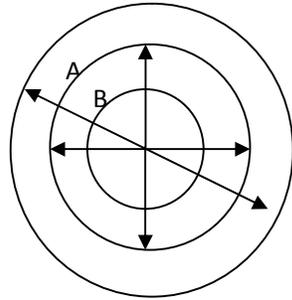
pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit.

Perbanyakkan Bakteri

Sebanyak satu ose isolat *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 atau *Lactobacillus casei* komersil diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi medium MRS-B 5 ml, *Staphylococcus aureus* FNCC-15 atau *Escherichia coli* FNCC-19 diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi medium NB 5 ml. Selanjutnya diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam sehingga diperoleh kultur aktif yang ditandai dengan perubahan medium menjadi keruh.

Uji Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat

Pengujian ini dilakukan dengan metode difusi sumur yang mengacu pada Poeloengan dkk., (2006) dan NCCLS (2000). Medium NA yang telah disterilkan dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat pada suhu kamar. Ke dalam medium tersebut diinokulasikan bakteri uji sebanyak 0,1 ml lalu diratakan dengan *hockey stick* dan dibiarkan hingga kering. Selanjutnya dibuat lubang (sumuran) dengan menggunakan *blue tip* steril dan lubang sumur dilapisi dengan agar-agar steril. Sebanyak 100 µl isolat BAL ditambahkan ke dalam sumuran yang telah disiapkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona bening diukur dengan jangka sorong sebanyak tiga kali pada posisi yang berbeda dan dirata-ratakan.



Gambar 1. Metode pengukuran zona hambat isolat BAL

Keterangan :

- A : Cawan Petri (medium NA)
- B : Zona Hambat (zona bening)
- C : Sumuran
- ↔ : Pengukuran diameter hambat

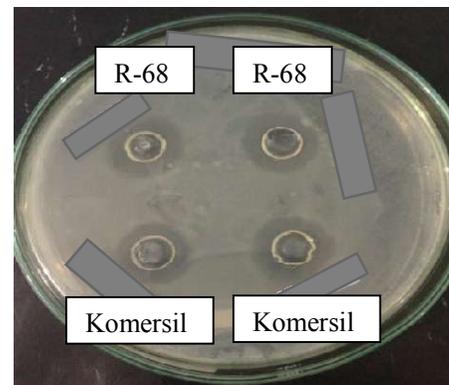
HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat

Antibakteri adalah senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme lainnya. Pengujian antibakteri yang dihasilkan oleh BAL perlu dilakukan untuk mengetahui kemampuannya sebagai probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi akan memberikan manfaat kesehatan bagi yang mengkonsumsinya. Suatu mikroorganisme dapat berperan sebagai probiotik jika memiliki beberapa kemampuan diantaranya mampu menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen.

Allen dkk. (2011) menyatakan bahwa syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agen probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu juga menghasilkan senyawa antimikroba sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen yang merugikan dan menyebabkan penyakit. Adanya senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat dilihat dari kemampuannya menghambat

pertumbuhan bakteri patogen berupa zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Zona bening sel BAL

Lactobacillus casei subsp. *casei* R-68 dan *Lactobacillus casei* komersil memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran (Gambar 2). Diameter penghambatan bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter zona hambat BAL terhadap bakteri patogen

Jenis Isolat	Zona hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i> FNCC-15	<i>Escherichia coli</i> FNCC-19
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> R-68	7,40	9,80
<i>Lactobacillus casei</i> komersil	8,10	10,23

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa isolat *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 dan *Lactobacillus casei* komersil memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri *Lactobacillus casei* komersil lebih besar dibandingkan dengan *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 terhadap kedua jenis bakteri patogen yang diujikan. Hal ini ditandai dengan lebih besarnya zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran yang diisi dengan sel *Lactobacillus casei* komersil. Akan tetapi, aktivitas antibakteri isolat *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 tidak jauh berbeda dibandingkan dengan isolat *Lactobacillus casei* yang telah digunakan sebagai probiotik untuk memproduksi pangan fungsional komersil. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1 yang menunjukkan angka hasil pengukuran diameter zona bening yang tidak jauh berbeda nilainya.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa *Escherichia coli* FNCC-19 lebih sensitif terhadap antibakteri dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* FNCC-15 yang ditandai dengan lebih besarnya zona bening yang dihasilkan (Tabel 1). Semakin besar diameter zona bening yang dihasilkan menunjukkan bahwa semakin sensitif bakteri patogen yang diujikan terhadap antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Hasil penelitian Poeloengan (2006) menunjukkan bahwa *Escherichia coli* cenderung lebih

mudah dihambat oleh probiotik dalam yoghurt dibandingkan *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian Suseno (2000) menunjukkan bahwa minuman probiotik nira siwalan yang mengandung *Lactobacillus casei* mempunyai aktivitas penghambatan terhadap *Escherichia coli* dan kurang mampu menghambat *Staphylococcus aureus*.

Perbedaan sensitivitas bakteri patogen terhadap antibakteri diantaranya disebabkan oleh struktur dinding selnya yang berbeda sehingga menyebabkan kemampuan hidupnya pada keadaan tertentu berbeda pula. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tipis dibandingkan dengan bakteri gram positif sehingga akumulasi senyawa antibakteri akan lebih mudah masuk ke dalam membran sel dan merusak sel bakteri gram negatif. Menurut Jawetz dan Adelberg (2005) perbedaan struktur dinding sel menentukan penetrasi, ikatan dan aktivitas senyawa antibakteri.

Daya hambat yang besar terhadap bakteri gram negatif disebabkan karena adanya senyawa antibakteri berupa asam-asam organik yaitu asam laktat. Asam laktat mampu merusak permeabilitas bakteri gram negatif dengan merusak membran luar bakteri gram negatif. Alakomi dkk. (2000) menyatakan

bahwa asam laktat merupakan molekul yang larut dalam air sehingga mampu menembus ke dalam periplasma bakteri gram negatif melalui protein porin pada membran luar. Pelindung permeabilitas membran luar yaitu lapisan lipopolisakarida (LPS) yang terletak pada permukaan membran dirusak oleh asam laktat. Dengan rusaknya membran luar sel, maka senyawa antimikroba yang lain diantaranya diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin akan masuk ke dalam membran sitoplasma dan merusak aktivitas intraseluler yang pada akhirnya dapat mematikan sel.

Aktivitas antibakteri dari isolat *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 dan *Lactobacillus casei* komersil disebabkan karena metabolisme BAL yang menghasilkan asam-asam organik yang membuat suasana asam pada medium sehingga menyebabkan bakteri patogen yang sensitif terhadap kondisi asam tidak dapat tumbuh. Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL merupakan antimikroba yang penting dan mempunyai aktivitas tinggi serta mempunyai spektrum penghambatan yang luas (Rahayu, 2003). Kondisi asam akibat BAL tersebut dapat dilihat dari pH media pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai pH medium yang diinokulasikan dengan BAL

Jenis Isolat	pH
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> R-68	3,70
<i>Lactobacillus casei</i> komersil	3,65

Berdasarkan data tabel 2 dapat disimpulkan bahwa medium yang diinokulasi BAL bersifat asam. pH medium yang diinokulasi *Lactobacillus casei* komersil lebih rendah dibandingkan media yang diinokulasi *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68. Nilai pH berbanding terbalik dengan luas zona bening atau daya hambat bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen. Semakin rendah nilai pH maka semakin besar diameter zona bening yang dihasilkan. Artinya bakteri patogen tidak tahan terhadap kondisi medium yang semakin asam. Rendahnya nilai pH mengakibatkan daya hambat lebih besar, namun ada faktor-faktor lain seperti hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin yang juga diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Alokami dkk. (2000) menyatakan bahwa selain menyebabkan nilai pH

medium menurun, asam organik juga dapat menyebabkan sitoplasma sel menjadi asam sehingga menyebabkan sel bakteri patogen menjadi mati.

Bakteri Gram positif lebih resisten terhadap pH rendah dibandingkan bakteri Gram negatif. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding selnya yang lebih tebal sehingga akumulasi dari asam-asam organik yang terbentuk oleh pertumbuhan bakteri asam laktat tidak mudah menembus dinding selnya yang tebal. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada pH 4,0-9,8 sedangkan *Escherichia coli* dapat tumbuh pada pH 7,0-7,5 (Rostinawati, 2010). Cotter and Hill (2003) menyatakan bakteri Gram positif mempunyai pertahanan terhadap kondisi asam melalui mekanisme pompa proton sehingga mampu menyeimbangkan nilai pH

dalam sel sehingga substrat antimikroba lainnya tidak dapat

berpenetrasi ke dalam membran sitoplasma.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Lactobacillus casei subsp. *casei* R-68 memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* FNCC-15 dan *Escherichia coli* FNCC-19 dengan daya hambat yang sedikit lebih kecil dari isolat *Lactobacillus casei* komersial yang telah digunakan sebagai probiotik dalam memproduksi pangan fungsional.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui sensitivitas bakteri asam laktat terhadap enzim proteolitik guna memastikan jenis antibakteri dan uji toksisitas dari senyawa antibakteri yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alakomi, H. L., E. Skytta., M. Saarela and S. T. Mattila. 2000. **Lactic acid permeabilizes Gram negative bacteria by disrupting the outer membrane.** Journal Applied Environmental Microbiology, volume 66.
- Allen, S. J., E. G. Martinez., G.V. Gregorio, dan L.F. Dans. 2011. **Probiotics for treating acute infectious diarrhea.** Sao Paulo Medical Journal, halaman 185.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards., G. H. Fleet dan M. Wootton. 2007. **Ilmu Pangan.** Terjemahan Hari Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Cotter, P. D dan C. Hill. 2003. **Surviving the Acid Test: Responses of Gram-Positive Bacterial to Low pH.** Microbial and Molecular, volume 67(3): 492-453.
- Jawetz, M dan E. A. Adelberg. 2005. **Mikrobiologi Kedokteran.** Edisi 23. Buku Kedokteran ECG. Jakarta.
- NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standar). 2000. **Indentification and antimicrobial susceptibility testing *Salmonella* serotype *thypii*.** Manual for identification and antimicrobial Susceptibility Testing. World Health Organization. New York.
- Pato, U. 2012. **Probiotik lokal Prospek dan Implementasinya.** Pusat Pengembangan Pendidikan Universitas Riau. Pekanbaru.
- Peoloengan, M., I. Chairul., S. Komala., Salmah dan M. N. Susan. 2006. **Aktivitas antimikroba dan fitokimia dari beberapa tanaman obat.** Disampaikan pada Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2006 di Fakultas Farmasi Universitas Tujuh Belas Agustus, Jakarta dan Fakultas Peternakan IPB, Bogor.
- Purwijantiningsih, E. 2014. **Viabilitas bakteri Asam laktat dan aktivitas antibakteri produk susu fermentasi komersial terhadap beberapa bakteri patogen enterik.** Jurnal Biota,

- volume 19 (1).
- Rahayu, E.S. 2001. **Potensi dan Peranan Prebiotik dan Probiotik Dalam Makanan Sehat.** Seminar Prebiotik, Probiotik dan Makanan Sehat. Fakultas Biologi Universitas Atmajaya. Yogyakarta.
- Rostinawati, T. 2010. **Aktivitas antimikroba ekstrak herba tespong (*Oenanthe javavica* D.C) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.** Penelitian Mandiri Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor. Bandung.
- Sunaryanto, R., E. Martius dan B. Marwoto. 2014. **Uji kemampuan *Lactobacillus casei* sebagai agensia probiotik.** Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia, volume 1 (1).
- Suseno, T. I. P., S. Surjoseputro dan K. Anita. 2000. **Minuman probiotik nira siwalan : kajian lama pentimapanan terhadap daya antimikroba *Lactobacillus casei* pada beberapa bakteri patogen.** Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi, volume 1 (1).
- Waspodo, I. S. 2002. **Efek Probiotik, Prebiotik dan Simbiotik Bagi Kesehatan.** Bulletin Food & Beverage Industry 4th, Jakarta.
- Widyarto, A. N. 2009. **Uji aktifitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk keprok (*Citrus nobilis* Lour.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.** Skripsi Fakultas Farmasi, Universitas Muahammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Yuki, N., K. Watanabe., A. Mike., Y. Tagami., R. Tanaka., M. Ohwaki and M. Morotomi. 1999. **Survival of a probiotic, *Lactobacillus casei* strain Shirota, in the gastrointestinal tract: selective isolation from faeces and identification using monoclonal antibodies.** Journal Food Microbiology, volume 48 : 51-57.