

**VIABILITAS *Lactobacillus plantarum* 1 YANG DIISOLASI DARI SUSU
KEDELAI TERFERMENTASI SPONTAN TERHADAP ASAM KLORIDA
DAN GARAM EMPEDU**

**VIABILITY OF *Lactobacillus plantarum* 1 ISOLATED FROM
SPONTANEOUS FERMENTED SOYMILK ON CHLORIDE ACID AND
BILE SALTS**

Elisa Apridani (0906121397)

Yusmarini and Rahmayuni

apridanielisa@yahoo.com

ABSTRACT

Most of probiotic isolate is from overseas therefore it needs effort to obtain probiotic acid lactic bacteria indigenous. The purpose of the research was to obtain viability of *Lactobacillus plantarum* 1 that isolated from spontaneous fermented soymilk on acid chloride and oxgall. This research used isolate of *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2, *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 and *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 on medium addition with chloride acid at pH 4, 3, and 2 and addition with oxgall 0.5%. The result showed that *L. plantarum* 1 R.11.1.2 and *L. plantarum* 1 R.1.3.2 was survive and able to grow on pH 4 during 5 hours incubation. *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 and *L. plantarum* 1 R.1.3.2 was survive at pH 3 during 5 hours incubation. *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 and *L. plantarum* 1 R.1.3.2 was unable to survive on pH 2 during neither 2.5 hours nor 5 hours incubation. *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 and *L. plantarum* 1 R.1.3.2 was able to survive on medium with oxgall 0.5%.

Keywords: *Viability, Lactobacillus plantarum* 1, *Chloride Acid, Oxgall*

PENDAHULUAN

Penggunaan bakteri asam laktat (BAL) sebagai salah satu bahan pangan fungsional berupa probiotik sangat marak dewasa ini. Berbagai upaya dilakukan untuk mengisolasi BAL yang berpotensi sebagai probiotik dari berbagai sumber seperti BAL dari air susu ibu (Djide dan Wahyudin, 2008), susu kambing segar (Ernawati, 2010) dan dari susu kuda bima (Antara dkk., 2008). Sebagian besar BAL hasil isolasi yang didapat adalah genus *Lactobacillus*.

Beberapa literatur menyebutkan bahwa *Lactobacillus* berpotensi sebagai agensia probiotik seperti *L. casei* (Anuradha dan Rajeshwari, 2005), *L. acidophilus* (Surono, 2004) dan *L. plantarum* (Brushan dan Chachra, 2010). Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang mampu mencapai saluran pencernaan dalam jumlah tertentu dan dapat memberi manfaat terhadap kesehatan. Jumlah sel hidup yang harus terdapat pada produk probiotik umumnya sebesar 10^6 - 10^8 cfu/ml (Tannock, 1999). Probiotik yang digunakan dalam produk

makanan tujuannya untuk meningkatkan kesehatan dengan mempengaruhi keseimbangan mikroflora usus sehingga dapat mengatasi masalah gangguan pencernaan.

Isolat BAL sebagai bakteri probiotik diantaranya bersifat non patogenik dan harus mampu bertahan hidup pada saluran pencernaan. Probiotik harus mampu melewati keasaman lambung yang tinggi (pH sekitar 2-3) minimal 90 menit (Amanah 2011). Gropper dkk. (2009) dalam Nuraida dkk. (2011) menyatakan bahwa makanan berada di dalam lambung selama 2-6 jam. Isolat BAL probiotik juga harus mampu bertahan terhadap sekresi garam empedu dalam usus halus.

Karakterisasi sifat-sifat probiotik baik secara *in vitro* dan *in vivo* diperlukan untuk menyatakan bahwa isolat tergolong probiotik. Uji ketahanan terhadap asam lambung dan garam empedu dapat dilakukan secara *in vitro*. Nuraida dkk. (2011) telah melakukan pengujian ketahanan BAL terhadap asam lambung secara *in vitro* dengan mengatur keasaman media menggunakan asam klorida (HCl) dan pengujian ketahanan BAL terhadap garam empedu secara *in vitro* dengan menggunakan oxgall.

Dewasa ini penggunaan pangan probiotik berkembang dengan pesat terutama di Indonesia. Sebagian besar isolat probiotik berasal dari luar negeri yang berdampak pada tingginya harga produk pangan probiotik. Berdasarkan hal tersebut perlu upaya untuk mendapatkan isolat BAL probiotik indigenus. Hasil penelitian Yusmarini dkk. (2009) mendapatkan 2 isolat BAL yang bersifat proteolitik yaitu *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2. Isolat tersebut merupakan hasil isolasi dari susu kedelai terfermentasi spontan. Penelitian selanjutnya yang dilakukan oleh Yusmarini dkk. (2010) menyatakan bahwa isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2 mempunyai kemampuan menghasikan produk fermentasi yang bersifat hipokolesterolemik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan *Lactobacillus plantarum* 1 yang diisolasi dari susu kedelai terfermentasi spontan terhadap berbagai konsentrasi asam klorida dan garam empedu.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Riau Pekanbaru pada bulan Juni hingga Desember 2013.

Bahan dan Alat

Isolat bakteri asam laktat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 (Koleksi pribadi Dr. Yusmarini). Sebagai pembanding digunakan isolat BAL *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis adalah MRS Broth, MRS Agar, HCl pekat 37%, oxgall, larutan garam fisiologis 0,85%, alkohol 70% dan akuades.

Peralatan gelas yang digunakan pada penelitian adalah tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, pipet tetes kaca, gelas ukur serta gelas piala. Sedangkan peralatan lainnya yang digunakan adalah batang pengaduk, mikro pipet, penjepit, spatula, aluminium foil, termometer, pH meter, timbangan analitik, inkubator, ruang inokulasi (*laminar-flow*), *automatic mixer*, *autoclave*, *hot plate*, *hockey stick*, tip, lampu bunsen, rak tabung reaksi, *tissue*, kertas label dan alat tulis.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara eksperimen dengan cara melihat pertumbuhan beberapa isolat BAL yaitu *L. plantarum* 1 R.1.3.2, *L. plantarum* 1 R.11.1.2, *L. acidophilus* FNCC 0051 dan *S. thermophilus* FNCC 0040 yang ditumbuhkan dalam medium MRS Broth yang telah diatur pH nya dengan asam klorida menjadi 2, 3 dan 4, dan BAL yang ditumbuhkan dalam medium MRS Broth dengan penambahan garam empedu (*oxgall*). Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara statistik.

Pelaksanaan Penelitian

Viabilitas Bakteri Asam Laktat terhadap Asam Klorida (pH 4, pH 3 dan pH2)

Media MRS Broth tanpa dan dengan pengaturan pH 2, 3 dan 4 diinokulasi 1% kultur *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 lalu dikocok hingga rata. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 5 jam menggunakan inkubator (Nuraida dkk., 2011). Isolat *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 diperlakukan seperti halnya *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2. Pengamatan dilakukan pada awal inkubasi (0 jam), setelah inkubasi selama 2,5 jam dan 5 jam. Selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah total BAL dengan menggunakan metode hitung cawan.

Viabilitas Bakteri Asam Laktat terhadap Garam Empedu (Oxgall 0,5%)

Penelitian mengacu pada (Nuraida dkk., 2011) yaitu medium MRS Broth tanpa dan dengan penambahan *oxgall* diinokulasi 1% isolat kultur *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 lalu dikocok hingga rata. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 5 jam menggunakan inkubator (Nuraida dkk., 2011). Isolat *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 diperlakukan seperti halnya *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2. Pengamatan dilakukan pada awal inkubasi (0 jam), setelah inkubasi selama 2,5 jam dan 5 jam. Selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah total BAL dengan menggunakan metode hitung cawan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Viabilitas Bakteri Asam Laktat pada Media MRS Broth tanpa Penambahan HCl dan Oxgall (Kontrol)

Tujuan pengamatan ini adalah untuk mengetahui viabilitas BAL tanpa penambahan asam klorida dan *oxgall* 0,5%. Rata-rata koloni BAL pada perlakuan kontrol dan setelah dianalisis secara statistik disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Viabilitas BAL pada media MRS Broth tanpa penambahan HCl dan oxgall 0,5% (kontrol)

Jumlah Koloni (Log cfu/ml)	Isolat BAL			
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>
	<i>plantarum</i> 1 R.11.1.2	<i>plantarum</i> 1 R.1.3.2	<i>acidophilus</i> FNCC 0051	<i>thermophilus</i> FNCC 0040
0 jam	8,58 ^a	8,61 ^a	8,25 ^a	9,03 ^a
2,5 jam	8,94 ^b	8,96 ^b	8,75 ^b	9,05 ^a
5 jam	9,55 ^c	9,35 ^c	9,23 ^c	9,37 ^b

Ket: angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (5%).

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa semua isolat BAL dapat tumbuh dengan baik pada media kontrol. Bakteri asam laktat dapat tumbuh dengan baik pada media dengan tingkat keasaman mendekati netral. Tingkat keasaman media MRS Broth tanpa penambahan HCl dan garam empedu sekitar 5,9. Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah pH karena pH mempengaruhi aktivitas enzim yang berkaitan dengan proses metabolisme.

Viabilitas Bakteri Asam Laktat terhadap Asam Klorida

Tujuan pengamatan ini adalah untuk mengetahui viabilitas BAL pada pH 4, pH 3 dan pH 2. Rata-rata koloni BAL pada pH 4, 3 dan 2 setelah dianalisis secara statistik disajikan pada Tabel 2, 3 dan 4.

Tabel 2. Viabilitas BAL terhadap asam klorida (pH 4)

Jumlah Koloni (Log cfu/ml)	Isolat BAL			
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>
	<i>plantarum</i> 1 R.11.1.2	<i>plantarum</i> 1 R.1.3.2	<i>acidophilus</i> FNCC 0051	<i>thermophilus</i> FNCC 0040
0 jam	8,56 ^a	8,50 ^a	8,24	9,02 ^b
2,5 jam	8,59 ^a	8,53 ^a	8,22	8,94 ^a
5 jam	9,41 ^b	9,32 ^b	8,28	9,03 ^b

Ket: angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (5%).

Tabel 3. Viabilitas BAL terhadap asam klorida (pH 3)

Jumlah Koloni (Log cfu/ml)	Isolat BAL			
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>
	<i>plantarum</i> 1 R.11.1.2	<i>plantarum</i> 1 R.1.3.2	<i>acidophilus</i> FNCC 0051	<i>thermophilus</i> FNCC 0040
0 jam	8,56	8,47 ^a	8,18	9,01
2,5 jam	8,58	8,50 ^a	8,17	8,99
5 jam	8,64	9,27 ^b	8,17	9,04

Ket: angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (5%).

Tabel 4. Viabilitas BAL terhadap asam klorida (pH 2)

Jumlah Koloni (Log cfu/ml)	Isolat BAL			
	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
	R.11.1.2	R.1.3.2	FNCC 0051	FNCC 0040
0 jam	8,48 ^b	8,45 ^b	8,12 ^c	8,97 ^b
2,5 jam	0,00 ^a	0,00 ^a	7,15 ^b	0,00 ^a
5 jam	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a

Ket: angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (5%).

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* R.11.1.2 dan *Lactobacillus plantarum* R.1.3.2 pada pH 4 dapat tumbuh pada masa inkubasi 0 jam sampai 2,5 jam dan pertumbuhan yang signifikan terjadi hingga masa inkubasi 5 jam. Hal ini menunjukkan bahwa *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2 memiliki ketahanan yang tinggi pada pH 4. *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 mampu bertahan hidup sampai waktu inkubasi 5 jam, namun pertumbuhannya tidak signifikan, terlihat dari jumlah koloni yang relatif sama saat awal dan akhir inkubasi. Hal ini dikarenakan *L. acidophilus* FNCC 0051 pada waktu inkubasi 2,5 dan 5 jam belum mencapai fase pertumbuhan eksponensial, namun BAL mampu tumbuh dan bertoleransi terhadap keasaman (pH 4). *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 pada waktu inkubasi 2,5 jam mengalami penurunan jumlah koloni hal ini disebabkan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 mengalami adaptasi terlebih dahulu terhadap lingkungan asam. Penambahan waktu inkubasi menjadi 5 jam dapat meningkatkan kembali jumlah koloni *S. thermophilus* FNCC 0040.

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa isolat BAL tidak menunjukkan pertumbuhan yang signifikan baik pada masa inkubasi 2,5 jam hingga 5 jam, kecuali isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2. Meskipun tidak mengalami pertumbuhan yang signifikan isolat BAL mampu bertahan pada pH 3.

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa semua isolat BAL tidak dapat tumbuh pada pH 2 setelah diinkubasi selama 5 jam. Namun pada inkubasi 2,5 jam *L. acidophilus* FNCC 0051 masih dapat bertahan namun mengalami penurunan jumlah koloni. Hal ini disebabkan *L. acidophilus* FNCC 0051 masih mampu mempertahankan pH sitoplasmanya dari lingkungan asam (pH 2) dengan cara bakteri menurunkan pH nya supaya tetap dapat bertahan.

Toleransi BAL terhadap asam dipengaruhi oleh kemampuan bakteri dalam mempertahankan pH sitoplasma yang lebih basa daripada pH ekstraseluler. Susanti dkk. (2007) menjelaskan bahwa kondisi yang sangat asam dapat mengakibatkan kerusakan membran dan lepasnya komponen intraseluler seperti Mg, K, dan lemak dari sel yang dapat menyebabkan kematian. Bakteri yang tahan asam memiliki ketahanan yang lebih besar terhadap kerusakan membran akibat penurunan pH ekstraseluler dibandingkan dengan bakteri yang tidak tahan terhadap asam.

Penghambatan asam terhadap pertumbuhan sel bakteri terjadi melalui efek denaturasi enzim-enzim yang ada dipermukaan sel, kerusakan lipopolisakarida dan membran luar serta penurunan pH sitoplasma melalui peningkatan

permeabilitas membran terhadap proton pada gradien pH yang sangat besar (Wijayanto, 2009).

Viabilitas Bakteri Asam Laktat terhadap Garam Empedu (Oxgall)

Tujuan pengamatan ini adalah untuk mengetahui viabilitas BAL terhadap garam empedu (oxgall). Rata-rata koloni BAL yang tumbuh pada oxgall setelah dianalisis secara statistik disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Viabilitas BAL terhadap oxgall 0,5%

Jumlah Koloni (Log cfu/ml)	Isolat BAL			
	<i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i> 1	<i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i> 1	<i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i>
	R.11.1.2	R.1.3.2	FNCC 0051	FNCC 0040
0 jam	8,42	8,51	7,92 ^c	0,00
2,5 jam	8,39	8,49	7,05 ^b	0,00
5 jam	8,43	8,51	0,00 ^a	0,00

Ket: angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (5%).

Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa BAL mempunyai ketahanan yang berbeda terhadap garam empedu. *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dapat bertahan hingga 5 jam inkubasi tanpa penurunan jumlah koloni, sedangkan *L. acidophilus* FNCC 0051 mampu bertahan hingga 2,5 jam inkubasi dan mengalami penurunan jumlah koloni sebanyak 0,87 log cfu/ml. Isolat *S. termophilus* FNCC 0040 tidak tumbuh sama sekali pada media yang ditambahkan Oxgall, hal ini mengindikasikan bahwa *S. termophilus* FNCC 0040 tidak tahan pada oxgall.

Ketahanan yang baik terhadap garam empedu karena peranan polisakarida sebagai salah satu komponen penyusun dinding sel bakteri Gram positif. Bakteri asam laktat yang tidak mampu bertahan dan tumbuh dengan baik dalam kondisi usus halus dapat disebabkan oleh perubahan permeabilitas seluler dan kebocoran materi intraseluler yang dialami lebih besar sehingga menyebabkan pecahnya sel dan menyebabkan kematian.

Beberapa genus *Lactobacillus* memiliki enzim *bile salt hydrolase* dengan aktivitas untuk menghidrolisis garam empedu. Enzim ini mampu mengubah kemampuan fisik dan kimia yang dimiliki oleh garam empedu, sehingga tidak bersifat racun bagi bakteri asam laktat. Hal inilah yang menyebabkan beberapa isolat bakteri asam laktat tahan terhadap keadaan garam empedu (Astuti dan Rahmawati, 2010).

Kusumawati dkk. (2003) melaporkan bahwa isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari makanan fermentasi asal Indonesia menunjukkan perbedaan ketahanan untuk tumbuh pada lingkungan yang mengandung garam empedu seperti *L. acidophilus* FNCC 116 mempunyai jumlah koloni paling sedikit daripada *L. plantarum* sa28k, *L. plantarum* kik, *L. plantarum* FNCC 235, *L. plantarum* FNCC 211, dan *L. plantarum* FNCC 334. Sedangkan jumlah koloni yang tumbuh paling banyak adalah *L. plantarum* FNCC 332.

KESIMPULAN DAN SARAN

Isolat *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dapat bertahan dan mampu hidup dengan baik pada pH 4 selama 5 jam masa inkubasi. Isolat *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2 mampu bertahan pada pH 3 selama 5 jam inkubasi. Isolat *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2 tidak mampu bertahan pada pH 2 baik masa inkubasi 2,5 jam maupun 5 jam inkubasi. Isolat *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2 mampu bertahan pada media yang mengandung oxgall selama 5 jam inkubasi.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai ketahanan *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2 terhadap asam lambung dan garam empedu secara in vivo dan perlu dilakukan pengujian aktivitas antimikroba *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2.

DAFTAR PUSTAKA

- Antara, N. S., I. N. Dibia dan W. R. Aryanta. 2008. **Characterization of lactic acid bacteria isolated from horse milk of Bima**. Agritech. 29(1): 1-9.
- Amanah, N. 2011. **Identifikasi dan karakterisasi substrat antimikroba dari bakteri asam laktat kandidat probiotik yang diisolasi dari dadiah dan yogurt**. Skripsi. Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anuradha, S. dan K. Rajeshwari. 2005. **Probiotics in health and disease**. JIACM. 6(1):67-72.
- Astuti dan Rahmawati. 2010. **Asimilasi kolesterol dan dekonjugasi garam empedu oleh bakteri asam laktat dari limbah kotoran ayam secara in vitro**. Prossiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Brushan, J. dan S. Chachra. 2010. **Their role in prevention of dental caries**. Journal Oral Health Comm. Dent. 4(3): 78-82.
- Djide, M. N. dan E. Wahyudin. 2008. **Isolasi bakteri asam laktat dari air susu ibu dan potensinya dalam penurunan kadar kolesterol secara in vitro**. Majalah Farmasi dan Farmakologi. Vol 12 No 3.
- Ernawati. 2010. **Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada susu kambing**. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Kusumawati, N., B. S. L. Jenie, S. Setyahadi dan R. D. Haryadi. 2003. **Seleksi bakteri asam laktat indigenus sebagai galur probiotik dengan kemampuan menurunkan kolesterol**. Jurnal Mikrobiologi Indonesia. Vol. 8 No. 2. Hal: 39-43.

- Nuraida, L., Winarti, S., Hana, dan Prangdimurti, E. 2011. **Evaluasi in vitro terhadap kemampuan bakteri asam laktat asal air susu ibu untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongugasi garam empedu.** Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Vol XXII No. 1.
- Surono, I. S. 2004. **Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan.** Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Susanti, I., R.W. Kusumaningtyas dan F. Illaningtyas. 2007. **Uji sifat probiotik bakteri asam laktat sebagai kandidat bahan pangan fungsional.** Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Vol. 18(2): 89-95.
- Tannock, G. W. 1999. **A fresh look at the intestinal mikroflora.** Horizon Scintific Press.
- Wijayanto, U. 2009. **Analisis in vitro toleransi isolat bakteri asam laktat asal daging sapi terhadap pH lambung dan garam empedu sebagai kandidat probiotik.** Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yusmarini, R. Indrati, T. Utami dan Y. Marsono. 2009. **Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat proteolitik dari susu kedelai yang terfermentasi spontan.** Jurnal Natur Indonesia, 12: 28-33.
- Yusmarini, R. Indriati, T. Utami, dan Y. Marsono. 2010. **Kemampuan susu kedelai yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* 1 dalam mengikat asam empedu.** Majalah Farmasi Indonesia, 21(3): 205-211.