

SELEKSI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT ASAL TEMPE DAN TAPE SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK

[*Selection of Lactic Acid Bacteria Isolated from Tempe and Tape
as Probiotic Candidates*]

Raini Panjaitan¹⁾, Lilis Nuraida^{2)*}, dan Ratih Dewanti-Hariyadi²⁾

¹⁾ Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Diterima 26 Januari 2018 / Disetujui 24 Oktober 2018

ABSTRACT

*Lactic acid bacteria (LAB) have been isolated from Indonesian fermented foods such as tempe and tape. Some lactic acid bacteria are known to have health benefits and as probiotics. The objective of this study was to evaluate the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from tempe and tape. LAB isolated from tape were evaluated for their tolerance towards low pH (pH 2.0) and 0.5% bile salt. LAB isolated from tape and tempe resistant to low pH and bile salt were then evaluated for their antimicrobial activities against pathogenic bacteria (*E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 25923 and *B. cereus* ATCC 11778). The isolates were also tested for their adherence properties, consisting of hydrophobicity test using microbial adhesion to solvents (MATS) assay, autoaggregation as well as coaggregation between LAB and pathogens. The results of this study indicated that three isolates from tape (*L. fermentum* 1 BK2-5, *L. fermentum* 2 BK2-7, *P. acidilactici* NG6-4) showed good tolerance to pH 2.0 and 0.5% bile salt. *L. fermentum* S21209 isolated from tempe showed the strongest antimicrobial activity against the five pathogens tested. Based on the adhesion to xylene, *L. fermentum* 1 BK 2-5 was categorized as strong hydrophobic, followed by *L. fermentum* S21209 and *L. fermentum* TS4-5. Meanwhile, *L. fermentum* TS 4-5, *L. fermentum* S21209, *L. fermentum* 1 BK 2-5 and *P. pentose-ceus* 1 W2SR04 have the highest autoaggregation ability. *L. fermentum* S21209 also had the highest co-aggregation ability to the five pathogenic bacteria tested. The ability of LAB to coaggregate with all pathogens tested correlated with their strong antimicrobial properties. Based on the resistance toward low pH and bile salt, antimicrobial activity and adherence properties, *L. fermentum* S21209 from tempe and *L. fermentum* 1 BK 2-5 from tape are the most potential as probiotic candidates.*

Keywords: aggregation, antimicrobial, probiotic, tape, tempe

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) telah diisolasi dari produk pangan fermentasi Indonesia seperti tempe dan tape. Beberapa bakteri asam laktat telah diketahui memiliki manfaat kesehatan dan dikenal sebagai probiotik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi potensi probiotik BAL asal tempe dan tape. Isolat-isolat BAL asal tape diuji toleransinya pada pH rendah (pH 2,0) dan garam empedu 0,5%. Isolat BAL asal tempe dan tape yang telah diketahui ketahanannya terhadap pH dan garam empedu selanjutnya diuji aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen (*E. coli* ATCC 25922, *S. typhimurium* ATCC 14028, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 25923 dan *B. cereus* ATCC 11778). Isolat BAL juga diuji sifat penempelannya, yang terdiri dari uji hidrofobisitas menggunakan metode *microbial adhesion to solvents* (MATS), autoagregasi dan koagregasi antara BAL dan patogen. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tiga isolat BAL asal tape (*L. fermentum* 1 BK2-5, *L. fermentum* 2 BK2-7, *P. acidilactici* NG6-4) menunjukkan toleransi yang baik terhadap pH 2,0 dan 0,5% garam empedu. *L. fermentum* S21209 asal tempe memiliki aktivitas antimikroba paling kuat terhadap kelima patogen uji. Berdasarkan afinitas terhadap xilena, *L. fermentum* 1 BK2-5 merupakan isolat BAL yang memiliki hidrofobisitas yang paling kuat, diikuti oleh *L. fermentum* S21209 dan *L. fermentum* TS4-5. *L. fermentum* TS4-5, *L. fermentum* S21209, *L. fermentum* 1 BK2-5 dan *P. pentosaceus* 1 W2SR04 memiliki kemampuan autoagregasi tertinggi. Isolat *L. fermentum* S21209 juga memiliki kemampuan koagregasi tertinggi dengan kelima bakteri patogen. Kemampuan koagregasi BAL dengan semua patogen yang diuji berkorelasi dengan sifat antimikrobanya yang kuat. Berdasarkan ketahanan terhadap pH rendah dan garam empedu, sifat antimikroba dan sifat penempelannya, *L. fermentum* S21209 dari tempe dan *L. fermentum* 1 BK2-5 dari tape merupakan kandidat probiotik yang paling potensial.

Kata kunci: agregasi, antimikroba, probiotik, tape, tempe

*Penulis Korespondensi:
E-mail: lnuraida@gmail.com

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai produk metabolit utama dari fermentasi karbohidrat. BAL dapat diperoleh dari pangan hasil fermentasi, seperti tempe dan tape. Tempe merupakan makanan fermentasi tradisional Indonesia dari bahan baku kedelai dan dikenal sebagai hasil fermentasi kapang. Fermentasi tempe melibatkan komunitas mikroba yang kompleks, yang berkembang sejak awal proses perendaman dan mencapai jumlah maksimum pada tempe segar. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri asam laktat (BAL) dan kapang merupakan mikroba yang dominan pada tempe dalam jumlah tinggi (10^7 - 10^8 CFU/g) (Efriwati *et al.*, 2013; Nurdini *et al.*, 2015). Tape merupakan makanan fermentasi tradisional dengan rasa manis, asam dan alkohol, yang terbuat dari bahan baku singkong, ketan dan bahan-bahan lain dengan menggunakan ragi sebagai kultur starter yang berisi kapang, khamir dan bakteri (Nuraida dan Owens, 2014). BAL yang ditemukan pada tape ketan dan tape singkong terdiri atas tiga jenis yaitu kokus homofermentatif, batang homofermentatif, dan batang heterofermentatif (Ratihwulan, 2016).

Menurut Nuraida dan Owens (2014), BAL yang terdapat pada tape diantaranya adalah *Wisella* spp., *Lactobacillus* spp., *Pediococcus pentosaceus*, dan *Enterococcus* spp. yang terdeteksi setelah 24 jam fermentasi dan jumlahnya menurun seiring waktu fermentasi. Beberapa bakteri asam laktat telah diketahui memiliki manfaat kesehatan dan dikenal sebagai probiotik. Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (FAO/WHO, 2002). Beberapa kriteria harus dipenuhi oleh suatu mikroorganisme untuk dapat dikategorikan sebagai probiotik, yaitu memiliki: ketahanan terhadap asam lambung dan garam empedu, kemampuan menghambat bakteri patogen, kemampuan menempel pada sel epitel usus dan kemampuan menghambat penempelan bakteri patogen pada sel epitel. Probiotik yang telah banyak dikenal saat ini umumnya merupakan kelompok BAL, terutama dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik dapat diperoleh dari produk-produk fermentasi (Chávarri *et al.*, 2012; Nuraida, 2015). Touw (2014) telah mengidentifikasi isolat BAL asal tempe sebagai *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Weisela confusa*, *Pediococcus pentosaceus*, dan *Lactobacillus fermentum*. Ketahanan BAL asal tempe terhadap garam empedu dan pH rendah bervariasi, dengan isolat yang paling mampu bertahan pada pH rendah dan garam empedu adalah *L. fermentum* sehingga isolat BAL ini berpotensi sebagai probiotik (Touw, 2014).

Probiotik telah banyak digunakan untuk pencegahan maupun pengobatan penyakit seperti penanggulangan diare (Samaržija *et al.*, 2009; Blaabjerg *et al.*, 2017), menstimulasi sistem kekebalan (*immune*) tubuh (Patrick, 2012; Ganjbakhsh dan Rezaee, 2017), menurunkan kadar kolesterol (Nuraida *et al.*, 2011; Pan *et al.*, 2011; Choi dan Chang, 2015), mengatasi intoleransi laktosa (Kinová *et al.*, 2008; Vonk *et al.*, 2012), pencegahan kanker kolon dan usus (Kumar *et al.*, 2015; Sivieri *et al.*, 2013). Beberapa penelitian menunjukkan isolat BAL indigenus dari makanan fermentasi Indonesia terbukti mampu mereduksi kolesterol (Pato *et al.*, 2004; Antara *et al.*, 2009) dan mencegah diare (Arief *et al.*, 2010; Emmawati, 2015). Penelitian ini mengevaluasi potensi probiotik BAL asal tempe dan tape dengan melakukan pengujian sesuai dengan persyaratan dasar probiotik. Isolat BAL yang berasal dari tempe telah diuji ketahanannya terhadap pH rendah dan garam empedu (Touw, 2014) sehingga pada penelitian ini BAL asal tempe diuji sifat antimikroba, hidrofobisitas dan agregasinya. Kemampuan agregasi suatu bakteri berkorelasi dengan kemampuan menempel pada saluran pencernaan (Janković *et al.*, 2012; Garcia-Cayuela *et al.*, 2014). Evaluasi *in vitro* terhadap sifat hidrofobisitas BAL, kemampuan BAL melakukan autoagregasi merupakan seleksi awal untuk mengetahui kemampuan BAL untuk menempel pada saluran pencernaan. Selain itu kemampuan BAL dan melakukan koagregasi dengan bakteri patogen merupakan sifat yang penting untuk menghambat kolonisasi bakteri patogen.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Kultur BAL yang digunakan adalah BAL asal tempe, tape singkong dan tape ketan serta kultur bakteri patogen (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dan *Bacillus cereus* ATCC 11778) diperoleh dari SEAFast Center IPB.

Uji ketahanan isolat bakteri asam laktat asal tempe terhadap pH 2,0

Pengujian ini berdasarkan metode Nuraida *et al.* (2011) dengan menggunakan medium *deMan, Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB) (Oxoid™) pada pH 2,0. Kultur BAL disegarkan dalam medium MRSB selama 24 jam, diinokulasikan sebanyak 0,1 mL ke dalam 10 mL medium MRSB sebagai kontrol dan MRSB ber pH 2,0 diatur dengan menambahkan HCl 37% (Merck™). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 jam. Setelah diinkubasi sel dihitung pada medium *deMan, Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) (Oxoid™) dengan metode tuang. Ketahan-

an terhadap pH 2,0 dihitung berdasarkan selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol dengan perlakuan. Semakin kecil selisihnya, maka semakin tahan kultur BAL tersebut terhadap pH 2,0.

Uji ketahanan isolat bakteri asam laktat asal tape terhadap garam empedu

Pengujian ini dilakukan berdasarkan Park *et al.* (2006) yang dimodifikasi oleh Nuraida *et al.* (2011) dengan menggunakan medium MRSB yang berisi garam Oxgall (Difco™) 0,5%. Kultur BAL disebarkan dalam medium MRSB selama 24 jam, diinokulasikan sebanyak 0,1 mL ke dalam 10 mL medium MRSB sebagai kontrol dan 10 mL MRSB yang mengandung garam Oxgall 0,5%, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 jam. Setelah diinkubasi sel dihitung pada MRSA dengan metode tuang. Ketahanan isolat BAL terhadap garam empedu dihitung berdasarkan selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol dengan perlakuan. Semakin kecil selisihnya, maka semakin tahan kultur BAL tersebut terhadap garam empedu.

Identifikasi isolat BAL asal tape dengan KIT API 50 CHL

Isolat BAL asal tape ditumbuhkan pada medium MRSA dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Kemudian kultur yang telah tumbuh disuspensikan ke dalam medium API 50 CHL (BioMerieux, France) dan divortex. Sekitar 8 mL air dialirkan ke dalam baki inkubasi, kemudian *gallery* diletakkan pada baki yang berisi air steril sebagai pelembab. Media 50 CHL yang telah diinokulasi dengan kultur BAL, kemudian dipipet ke masing-masing *cupule* dan ditutup dengan parafin cair steril untuk menciptakan suasana anaerob. Selanjutnya, baki diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Hasil dari reaksi biokimia tersebut diamati secara visual berdasarkan petunjuk kit API 50 CHL dan dianalisis menggunakan *software* APIweb™ API 50 CHLV5.1 (www.apiweb.biomerieux.com).

Uji aktivitas antimikroba isolat BAL asal tape dan tape terhadap bakteri patogen

Pengujian aktivitas antimikroba BAL terhadap patogen dilakukan dengan metode sumur (Pan *et al.*, 2009). Kultur bakteri patogen ditumbuhkan dalam *Tryptone Soya Broth* (TSB) (Oxoid™) dan kultur BAL ditumbuhkan dalam MRSB selama 18 jam. Sejumlah 25µL kultur dari setiap bakteri patogen dituangkan pada 25 mL *Tryptone Soya Agar* (TSA) (Oxoid™), lalu dituangkan pada cawan dan dibiarkan memadat. Sumur berukuran 6 mm dibuat pada agar dan 50µL kultur BAL yang diuji diinokulasikan pada sumur. Setelah inkubasi pada suhu 35°C selama 16 jam, diameter zona penghambatan diukur dari 3 sisi berbeda. Diameter penghambatan adalah hasil pengukuran dikurangi dengan diameter sumur.

Uji hidrofobisitas bakteri asam laktat asal tempe dan tape

Penentuan hidrofobisitas bakteri dilakukan dengan metode *Microbial adhesion to solvents* (MATS) (Kos *et al.*, 2003) dengan menggunakan pelarut yang berbeda-beda kepolarnya yaitu xilena (Merck™), etil asetat (Merck™), dan kloroform (Merck™). Adhesi sel bakteri terhadap xilena mencerminkan hidrofobisitas, sedangkan adhesi terhadap kloroform dan etil asetat mencerminkan sifat permukaan sel. Bakteri ditumbuhkan dalam MRSB pada suhu 37°C selama 16-18 jam. Kemudian, sel dipanen dengan cara sentrifugasi (Hermle Z 383 K) pada 3500 rpm selama 20 menit. Endapan yang diperoleh dicuci dengan bufer *phosphate urea magnesium* (PUM). Kemudian, disuspensikan ke dalam bufer PUM sampai mencapai jumlah 10⁸ CFU/mL. Suspensi tersebut kemudian diukur nilai absorbansi awal pada panjang gelombang 600 nm (A₀). Lima mililiter suspensi sel dalam PUM bufer dipindahkan ke dalam tabung yang bersih dan kering dengan dasar bundar kemudian ditambahkan pelarut yang berbeda-beda (xilena, etil asetat, dan kloroform) sebanyak 1 mL dan dicampur dengan vorteks pada kecepatan tinggi selama 1 menit. Selanjutnya, tabung reaksi dibiarkan selama 1 jam pada suhu 37°C untuk pemisahan fase. Fase *aqueous* dipindahkan dengan hati-hati menggunakan pipet steril untuk diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer (Shimadzu) pada panjang gelombang 600 nm (A₁).

Penurunan nilai absorbansi pada fase *aqueous* dinyatakan sebagai nilai adhesi terhadap pelarut (%) dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Adhesi (\%)} = (1 - A_0/A_1) \times 100$$

dimana, A₀ = nilai absorbansi awal pada 600 nm; A₁ = nilai absorbansi akhir pada 600 nm.

Uji autoagregasi bakteri asam laktat asal tempe dan tape (Kos *et al.*, 2003)

Isolat BAL ditumbuhkan pada MRSB selama 18 jam pada suhu 37°C. Sel BAL dipanen dengan sentrifugasi pada 3500 rpm selama 20 menit. Endapan yang diperoleh selanjutnya dicuci dua kali dengan *phosphate buffer saline* (PBS) dan disuspensikan ke dalam PBS sampai mencapai jumlah 10⁸ CFU/mL. Autoagregasi ditentukan dengan mengukur absorbansi awal (0 jam) dan absorbansi akhir (5 jam) setelah inkubasi pada suhu ruang. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,1 mL suspensi bagian atas dan dimasukkan ke dalam 3,9 mL PBS kemudian diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer pada 600 nm. Persentase autoagregasi dinyatakan sebagai berikut:

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

dimana, A_t = absorbansi pada waktu $t = 5$; A_0 = absorbansi pada $t = 0$.

Uji koagregasi bakteri asam laktat asal tempe dan tape (Kos *et al.*, 2003)

Isolat BAL dan lima bakteri patogen ditumbuhkan pada MRSB dan TSB, selama 18 jam pada suhu 37°C. Sel BAL dan sel patogen dipanen dengan sentrifugasi 3500 rpm selama 20 menit. Endapan yang diperoleh dicuci dua kali dan disuspensikan ke dalam PBS sampai mencapai jumlah 10^8 CFU/mL. Dua mililiter dari masing-masing suspensi kemudian diambil dan dicampur pada satu tabung. Tabung kontrol berisi 4 mL masing-masing suspensi bakteri. Koagregasi ditentukan dengan mengukur absorbansi awal (0 jam) dan absorbansi akhir (5 jam) setelah inkubasi pada suhu ruang. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,1 mL suspensi bagian atas dan dimasukkan ke dalam 3,9 mL PBS kemudian diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer pada 600 nm. Persentase koagregasi dinyatakan sebagai berikut:

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

dimana, A_x = absorbansi suspensi isolat BAL; A_y = absorbansi suspensi isolat patogen; A_{x+y} = absorbansi campuran suspensi isolat BAL dan patogen.

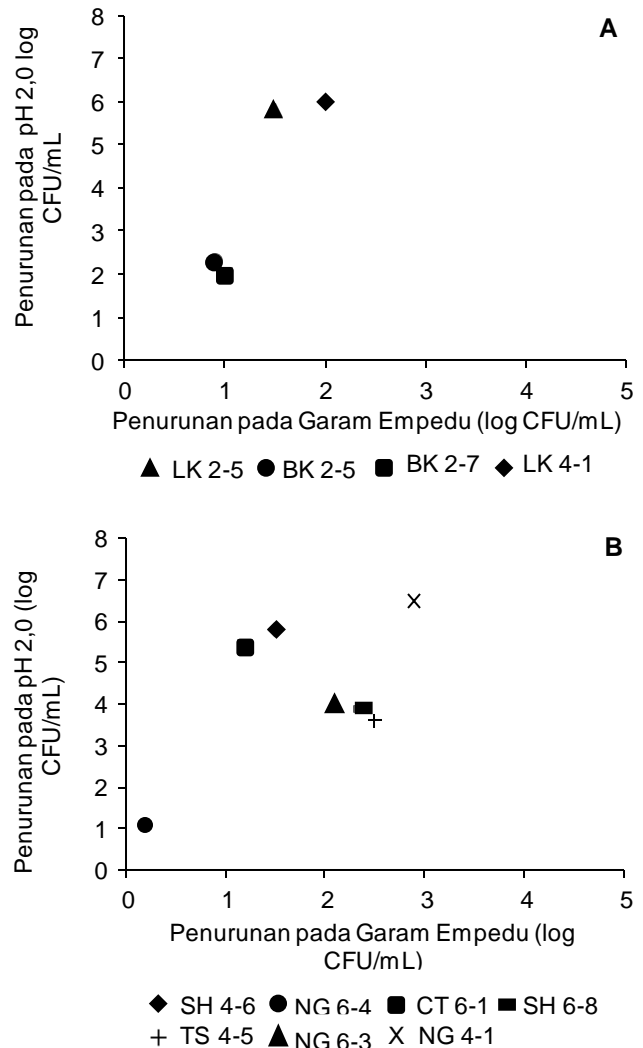
Analisis data

Data hasil percobaan diolah dengan ANOVA menggunakan perangkat lunak SPSS versi 22.0 untuk menentukan perbedaan taraf perlakuan. Hasil berbeda antar taraf perlakuan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan dan nilai signifikan ditentukan berdasarkan taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketahanan BAL asal tape terhadap pH 2,0 dan garam empedu

Hasil pengujian ketahanan BAL asal tape terhadap pH 2,0 dan garam empedu disajikan pada Gambar 1. Dua isolat BAL asal tape ketan yaitu BK 2-5 dan BK 2-7 menunjukkan toleransi terhadap pH 2,0 dan garam empedu (Gambar 1a), dan hanya satu isolat BAL asal tape singkong yang memiliki toleransi tinggi terhadap asam dan garam empedu yaitu NG 6-4 (Gambar 1b). BAL yang agak tahan terhadap pH 2,0 dan garam empedu adalah NG6-3, SH6-8, dan TS4-5. Kemampuan BAL asal tempe bertahan pada pH 2,0 dan garam empedu telah diuji oleh Touw (2014). BAL yang paling toleran adalah *L. fermentum* S21209, sedangkan BAL yang memiliki toleransi menengah adalah *L. delbrueckii* W24802 dan yang toleran terhadap garam empedu adalah *P. pentosaceus* 1 W2SR04, *P. Pentosaceus* 2 W2SR05, *W.confusa* S2SR08, dan *L. plantarum* W22409.



Gambar 1. Penurunan jumlah sel pada pH 2,0 dan garam empedu 0,5% (A) BAL asal tape ketan dan (B) BAL asal tape singkong

Kemampuan menoleransi asam dan garam empedu ditandai oleh kemampuan bertahan dalam media yang mengandung 0,5% garam empedu, dengan selisih jumlah dibawah 2 log. Kemampuan toleransi pH 2,0 dan 0,5% garam empedu merupakan karakteristik yang penting dimiliki oleh bakteri probiotik, sebab hal ini merupakan syarat untuk dapat melewati saluran pencernaan dan sampai di kolon. Menurut Nuraida *et al.* (2011), kemampuan isolat BAL bertahan pada kondisi asam tergantung pada galur bakteri. Dalam kondisi asam, BAL dapat menjaga sitoplasma lebih rendah keasamannya dari keasaman media, sehingga protein dan enzim dalam sel bekerja dengan optimal. Isolat BAL dapat beradaptasi dalam pH rendah karena mampu menyeimbangkan pH sel internal. Penyeimbangan pH internal dilakukan dengan mengeluarkan proton (H^+) dari dalam sel melalui proses hidrolisis ATP (H^+ -ATPase). Selain itu, BAL juga memiliki histidin dekarboksilase

dan arginin deaminase yang juga berperan dalam bertahan pada kondisi asam (Pan *et al.*, 2011).

Hasil identifikasi isolat BAL asal tape terpilih dengan Kit API 50 CHL

Tabel 1 menunjukkan genus bakteri BAL yang terpilih dari tape ketan dan singkong adalah genus *Lactobacillus*, sedangkan pada tape singkong *Lactobacillus* dan *Pediococcus*. Menurut Nuraida dan Owens (2014), BAL yang tumbuh pada tape diantaranya adalah *Wisella* spp., *Lactobacillus* spp., *Pediococcus pentosaceus*, dan *Enterococcus* spp. *Lactobacillus fermentum* BK2-5 dan BK2-7 asal tape ketan dan *Pediococcus acidilactici* NG6-4 asal tape singkong merupakan BAL yang tahan pH 2,0 dan garam empedu (Gambar 1).

Aktivitas antimikroba BAL asal tempe dan tape terhadap bakteri patogen

Berdasarkan pengujian sebelumnya, terdapat 12 isolat BAL yang terpilih. Ke-12 isolat BAL tersebut diuji aktivitas antimikroba terhadap lima bakteri uji (Tabel 2). Penghambatan tertinggi terhadap *E. coli* ditunjukkan oleh isolat *L. plantarum* 2 W22409 dan tidak berbeda nyata dengan *L. fermentum* S21209; penghambatan tertinggi terhadap *S. typhimurium* oleh *L. plantarum* 2 W22409 yang tidak berbeda dengan *L. fermentum* S21209; penghambatan tertinggi

terhadap *L. monocytogenes* oleh isolat *L. fermentum* S21209; penghambatan tertinggi terhadap *S. aureus* oleh isolat *P. pentosaceus* 1 W2SR04 yang tidak berbeda dengan *L. fermentum* S21209; dan penghambatan tertinggi terhadap *B. cereus* oleh isolat *P. acidilactici* NG6-4. Berdasarkan data tersebut, *L. fermentum* S21209 memiliki sifat antimikroba tertinggi terhadap empat bakteri patogen uji. Isolat ini juga menunjukkan aktivitas penghambatan yang cukup tinggi terhadap *B. cereus* (Tabel 2).

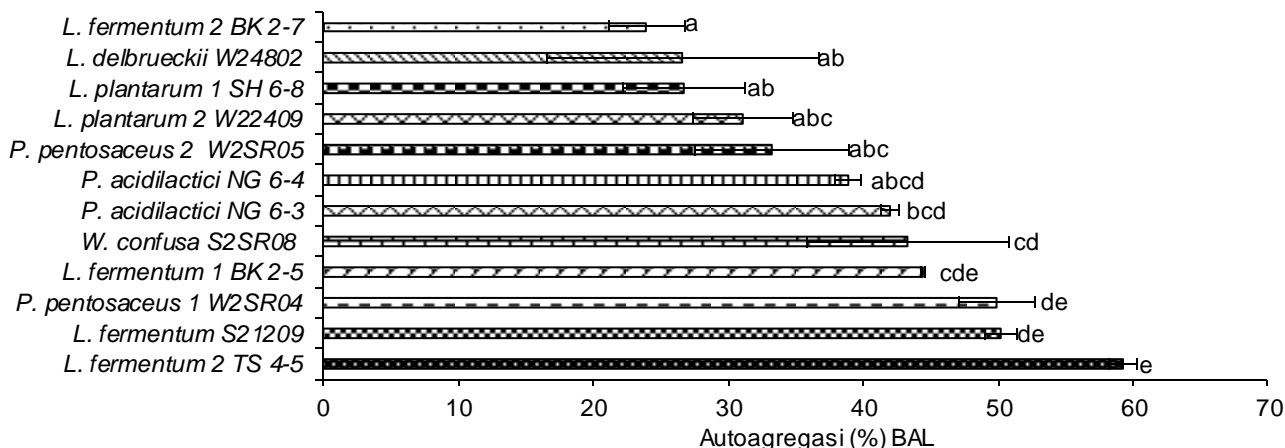
Dari kelima patogen, *L. monocytogenes* merupakan patogen yang paling sensitif terhadap semua isolat BAL asal tape dan tempe. Penelitian Todorov *et al.* (2013) menunjukkan dari 65 isolat BAL, terdapat 40 isolat dengan aktivitas antimikroba terhadap *L. monocytogenes* dengan zona penghambatan lebih besar dari 15 mm. Aktivitas antimikroba BAL disebabkan adanya satu atau lebih senyawa antimikroba seperti asam organik (terutama asam laktat dan asetat), hydrogen peroksida dan bakteriosin, tergantung dari spesies dan galurnya (Reis *et al.*, 2012). *L. fermentum* 1 selain memproduksi asam, kemungkinan menghasilkan senyawa lain yang aktif pada pH netral (Georgieva *et al.*, 2015). *L. fermentum* galur ME-3 selain memiliki aktivitas antimikroba juga memiliki aktivitas antioksidatif (Mikelsaar dan Zilmer, 2009).

Tabel 1. Hasil identifikasi beberapa isolat BAL asal tape yang berpotensi sebagai kandidat probiotik

| Asal Isolat | Kode Isolat | Morfologi | Hasil Identifikasi API 50 CHL (Spesies) | Kesamaan dengan Kultur Referensi (%) |
|---------------|-------------|-----------|---|--------------------------------------|
| Tape ketan | BK2-5 | Batang | <i>Lactobacillus fermentum</i> 1 | 97 |
| Tape ketan | BK2-7 | Batang | <i>Lactobacillus fermentum</i> 2 | 85,4 |
| Tape singkong | NG6-3 | Kokus | <i>Pediococcus acidilactici</i> | 85,4 |
| Tape singkong | NG6-4 | Kokus | <i>Pediococcus acidilactici</i> | 98,8 |
| Tape singkong | SH6-8 | Batang | <i>Lactobacillus plantarum</i> 1 | 99,9 |
| Tape singkong | TS4-5 | Batang | <i>Lactobacillus fermentum</i> 2 | 91,3 |

Tabel 2. Aktivitas antimikroba isolat BAL asal tempe dan tape terhadap bakteri patogen

| Isolat BAL | Zona Hambat (mm) | | | | |
|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | <i>E. coli</i> ATCC 25922 | <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 | <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644 | <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | <i>B. cereus</i> ATCC 11778 |
| <i>L. plantarum</i> 2 W22409 | 15,1±0,66 ^f | 13,9±0,43 ^e | 17,7±0,65 ^{de} | 15,6±0,60 ^e | 17,0±0,44 ^f |
| <i>P. pentosaceus</i> 1 W2SR04 | 12,0±0,21 ^{cd} | 11,5±0,64 ^{bc} | 17,2±0,16 ^{cde} | 13,6±0,71 ^c | 14,8±0,45 ^d |
| <i>P. pentosaceus</i> 2 W2SR05 | 12,2±0,41 ^e | 13,0±0,41 ^d | 16,8±0,63 ^{cd} | 16,5±0,70 ^f | 16,3±0,15 ^e |
| <i>L. delbrueckii</i> W24802 | 11,4±0,56 ^d | 12,0±0,33 ^c | 12,6±0,46 ^a | 10,6±0,50 ^a | 11,8±0,75 ^d |
| <i>W. confusa</i> S2SR08 | 11,0±0,24 ^d | 12,0±0,63 ^c | 12,7±0,47 ^a | 11,8±0,08 ^d | 11,8±0,63 ^{dc} |
| <i>L. fermentum</i> S21209 | 12,4±0,08 ^f | 13,7±0,23 ^e | 19,7±0,04 ^f | 16,3±0,04 ^f | 15,1±0,19 ^d |
| <i>L. fermentum</i> 1 BK2-5 | 9,6±0,43 ^a | 10,6±0,43 ^a | 17,2±0,55 ^{cde} | 11,0±0,04 ^a | 16,7±0,60 ^{ef} |
| <i>L. fermentum</i> 2 BK2-7 | 11,1±0,43 ^c | 10,9±0,35 ^{ab} | 18,4±0,76 ^e | 14,6±0,49 ^d | 12,4±0,12 ^c |
| <i>L. fermentum</i> 2 TS4-5 | 10,8±0,43 ^d | 11,8±0,82 ^c | 12,0±0,15 ^a | 11,0±0,05 ^a | 10,5±0,70 ^a |
| <i>L. plantarum</i> 1 SH6-8 | 11,5±0,55 ^{cd} | 11,4±0,45 ^{bc} | 16,1±0,67 ^c | 11,7±0,67 ^d | 12,0±0,41 ^{dc} |
| <i>P. acidilactici</i> NG6-3 | 11,2±1,15 ^d | 10,5±0,58 ^a | 14,8±0,70 ^b | 11,2±0,16 ^{ab} | 12,1±0,72 ^{dc} |
| <i>P. acidilactici</i> NG6-4 | 12,2±0,41 ^{cd} | 11,6±0,77 ^c | 18,4±1,02 ^e | 13,8±0,55 ^c | 17,6±0,42 ^g |



Gambar 2. Kemampuan autoagregasi (%) isolat BAL asal tempe dan tape

Sifat hidrofobisitas BAL asal tempe dan tape

Sifat hidrofobisitas suatu bakteri memengaruhi kemampuan autoagregasi dan penempelan bakteri terhadap berbagai permukaan. Sifat hidrofobisitas permukaan sel BAL ditunjukkan dengan adhesinya atau afinitasnya terhadap xilena (Kos *et al.*, 2003). Walaupun hasil pengujian hidrofobisitas dan agregasi tidak selalu berkorelasi dengan penempelan bakteri secara *in vivo*, namun pengujian hidrofobisitas bermanfaat untuk mengetahui sifat permukaan sel bakteri yang penting untuk penempelan. Kemampuan agregasi dan hidrofobisitas bukan satu-satunya komponen yang bertanggung jawab terhadap penempelan karena mekanisme penempelan merupakan proses yang kompleks (Garcia-Cayuela *et al.*, 2014). Berdasarkan afinitas terhadap pelarut xilena (Tabel 3), *L. fermentum* 1 BK2-5 memiliki sifat hidrofobisitas yang paling kuat dan berbeda nyata dengan isolat lainnya. Afinitas terhadap xilena yang cukup tinggi ditunjukkan oleh *L. fermentum* S21209 dan *L. fermentum* 2 TS4-5. Afinitas terhadap hidrokarbon di atas 50% dinyatakan sebagai hidrofobik kuat dan antara 20-30% dinyatakan moderat, sedangkan di bawah 20% dinyatakan sebagai negatif (Santos *et al.*, 1990).

Isolat yang lainnya memiliki afinitas yang rendah terhadap xilena yang menunjukkan permukaan yang lebih hidrofilik. Sifat hidrofobisitas ini berkaitan dengan keberadaan komponen dinding sel seperti fosfolipid, polisakarida dan komponen luar pada permukaan sel bakteri (Kos *et al.*, 2003). Komponen dinding sel bakteri mempunyai fungsi penempelan pada sel inang yang membentuk interaksi hidrofobik. Protein pada permukaan sel dan asam lipoteikoat menghasilkan sifat hidrofobik, sedangkan polisakarida menghasilkan sifat hidrofilik (Garcia-Cayuela *et al.*, 2014). Bakteri bersifat hidrofobik karena permukaan selnya bermuatan negatif. Hidrofobisitas permukaan sel biasanya berasosiasi dengan sifat penempelan bakteri, namun bervariasi tergantung dari galur bakteri dan dipengaruhi oleh medium pertumbuhan, umur bakteri dan struktur permukaan sel

bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Nuraida *et al.* (2012) terhadap 8 isolat *Lactobacillus* asal air susu ibu (ASI) menunjukkan semua isolat bersifat hidrofilik, yang berbeda dengan hasil penelitian ini.

Afinitas terhadap kloroform, pelarut yang bersifat asam, menunjukkan permukaan sel bersifat sebagai penerima elektron dan afinitas terhadap etil asetat, pelarut bersifat basa, menunjukkan permukaan sel sebagai donor elektron (Kos *et al.*, 2003). Sebagian isolat menunjukkan afinitas yang lebih tinggi terhadap kloroform dibandingkan terhadap etil asetat (Tabel 3).

Sifat autoagregasi BAL asal tempe dan tape

Agregasi, yang terdiri dari autoagregasi dan koagregasi, merupakan proses reversible akumulasi sel bakteri. Autoagregasi merupakan kemampuan bakteri untuk menempel dengan sesamanya, sedangkan koagregasi merupakan kemampuan bakteri untuk membentuk agregat dengan bakteri lain yang berbeda (Janković *et al.*, 2012). Sifat autoagregasi galur probiotik penting untuk menempel pada sel epitel usus, sedangkan kemampuan melakukan koagregasi penting dalam peranaan probiotik sebagai penghalang yang menghambat kolonisasi bakteri patogen pada saluran pencernaan (Kos *et al.*, 2003). Kemampuan autoagregasi suatu probiotik merupakan prasyarat untuk dapat berkolonisasi dan bertahan pada saluran pencernaan (Janković *et al.*, 2012).

Semua isolat BAL asal tempe dan tape menunjukkan kemampuan autoagregasi di atas 10%, tujuh isolat BAL memiliki kemampuan autoagregasi di atas 40% (Gambar 3). Menurut Del Re *et al.* (2000), bakteri dengan kemampuan autoagregasi di bawah 10% dinyatakan sebagai nonautoagregasi. Gambar 3 menunjukkan isolat *L. fermentum* TS4-5, *L. fermentum* S21209, *L. Fermentum* 1 BK2-5 dan *P. pentosaceus* 1 W2SR04 memiliki kemampuan autoagregasi paling tinggi, yang berbeda dengan isolat BAL lainnya. Setiap isolat BAL memiliki kemampuan autoagregasi berbeda-beda.

Tabel 3. Adhesi (%) isolat BAL asal tempe dan tape ke berbagai pelarut

| Isolat BAL | Adhesi (%) | | |
|--------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | Xilena | Kloroform | Etil asetat |
| <i>L. fermentum</i> 1 BK 2-5 | 64,84±3,17 ^e | 77,11±3,54 ^f | 76,01±2,20 ^g |
| <i>L. fermentum</i> 2 BK 2-7 | 3,40±5,50 ^{ad} | 10,88±5,47 ^{cco} | 16,23±1,33 ^d |
| <i>L. fermentum</i> 2 TS 4-5 | 38,97±0,67 ^d | 17,69±2,13 ^{coe} | 13,89±2,22 ^d |
| <i>L. plantarum</i> 1 SH 6-8 | 12,79±4,80 ^d | 19,44±3,81 ^{oer} | 8,05±2,82 ^a |
| <i>P. acidilactici</i> NG 6-3 | 1,66±1,85 ^a | 5,66±6,06 ^{ad} | 5,56±2,50 ^a |
| <i>P. acidilactici</i> NG 6-4 | 7,35±3,70 ^{ad} | 20,55±4,40 ^{er} | 19,44±3,80 ^a |
| <i>L. plantarum</i> 2 W22409 | 28,83±8,63 ^c | 49,46±4,66 ^g | 43,69±2,95 ^{er} |
| <i>P. pentosaceus</i> 1 W2SR04 | 12,09±0,71 ^d | 9,41±1,45 ^{doc} | 7,26±1,44 ^a |
| <i>P. pentosaceus</i> 2 W2SR05 | 28,72±7,35 ^c | 66,06±3,98 ⁿ | 48,85±4,27 ^r |
| <i>L. delbrueckii</i> W24802 | 23,18±0,28 ^c | 26,51±0,64 ^r | 29,01±0,12 ^c |
| <i>W. confusa</i> S2SR08 | 12,42±2,73 ^d | 1,47±3,43 ^a | 3,32±4,13 ^a |
| <i>L. fermentum</i> S21209 | 42,71±0,73 ^d | 51±0,88 ^g | 42,71±1,86 ^d |

Menurut Garcia-Cayuela *et al.* (2014), agregasi selular tergantung pada spesies dan lingkungan. Agregat dapat menempel pada permukaan mukosa sehingga bakteri probiotik dapat bertahan pada usus (Garcia-Cayuela *et al.*, 2014). Agregat juga akan mempersulit bakteri patogen untuk menempel pada permukaan usus sehingga bakteri patogen mudah dikeluarkan dari saluran pencernaan. Mekanisme agregasi selular merupakan interaksi kompleks antara komponen permukaan sel dan faktor-faktor yang disekresikan (Garcia-Cayuela *et al.*, 2014). Faktor-faktor seperti protein, glikoprotein, asam teikoat dan asam lipoteikoat pada permukaan dinding sel bakteri memengaruhi kemampuan penempelan, autoagregasi dan hidrofobisitas (Ramiah *et al.*, 2008). Namun demikian, mekanisme senyawa-senyawa tersebut dalam memengaruhi kemampuan penempelan, autoagregasi dan hidrofobisitas belum digambarkan secara jelas. Sifat autoagregasi suatu bakteri dapat dipengaruhi oleh sifat hidrofobisitas permukaan sel (Kos *et al.*, 2003). Ketiga isolat yang memiliki hidrofobisitas tinggi menunjukkan kemampuan autoagregasi yang tinggi, namun *P. pentosaceus* W2SR04 dan *P. acidilactici* yang menunjukkan kemampuan autoagregasi cukup tinggi tidak bersifat hidrofobik. Hasil yang sama juga diamati oleh Garcia-Cayuela *et al.* (2014) pada *L. plantarum* yang kemampuan autoagregasinya tidak berkorelasi dengan sifat hidrofobisitasnya.

Sifat koagregasi BAL asal tempe dan tape

Kemampuan koagregasi suatu bakteri probiotik berkorelasi dengan kemampuannya dalam membentuk *barrier* yang dapat mencegah kolonisasi bakteri patogen pada saluran pencernaan (Garcia-Cayuela *et al.*, 2014). Oleh karena itu, BAL yang mampu berkoagregasi dengan bakteri patogen merupakan sifat yang menguntungkan dalam perannya sebagai probiotik (Campana *et al.*, 2017). Pada penelitian ini pengujian koagregasi dilakukan antara isolat BAL dan lima bakteri patogen.

Hasil pengujian koagregasi pada Tabel 4 menunjukkan bahwa isolat *L. fermentum* S21209 memi-

liki kemampuan koagregasi paling tinggi dengan kelima bakteri patogen. Hasil pengujian koagregasi ini sesuai dengan hasil uji autoagregasi dan berkorelasi dengan aktivitas antimikroba, dimana *L. fermentum* S21209 memiliki sifat antimikroba yang lebih kuat dibandingkan BAL lainnya terhadap semua patogen uji. Kemampuan koagregasi sangat dipengaruhi oleh spesies dan galur yang berbeda (Bao *et al.*, 2010). Dari 11 galur *L. fermentum*, hanya dua galur yang mempunyai nilai koagregasi yang tinggi (>30%). Sementara, hasil penelitian ini hanya *L. fermentum* S21209 yang memiliki nilai koagregasi 24,83-35,82%, yang lainnya jauh di bawah 30%. Pengujian koagregasi merupakan metode yang baik untuk mengevaluasi interaksi antara BAL dan bakteri patogen. BAL yang berkoagregasi dengan patogen dapat memaparkan senyawa antimikrobanya secara langsung terhadap bakteri patogen (Janković *et al.*, 2012), sehingga BAL dapat mengendalikan patogen disekitarnya (Kaewnopparat *et al.*, 2013). Selain menghasilkan senyawa antimikroba, mekanisme penghambatan kolonisasi patogen pada saluran pencernaan adalah melalui mekanisme koagregasi (Campana *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Isolat *P. acidilactici* NG6-4, *L. fermentum* BK2-5 dan *L. fermentum* BK2-7 asal tape memiliki ketahanan yang baik terhadap pH 2,0 dan garam empedu. *L. fermentum* S21209 memiliki sifat antimikroba yang kuat terhadap semua patogen. *L. fermentum* 1 BK 2-5 memiliki sifat hidrofobisitas tertinggi, diikuti oleh *L. fermentum* S21209 dan *L. fermentum* TS4-5. *L. fermentum* S21209 asal tempe dan *L. fermentum* TS 4-5, *L. fermentum* 1 BK2-5, *P. pentosaceus* 1 WSR04 asal tape memiliki kemampuan autoagregasi tertinggi diantara isolat BAL asal tempe dan tape. Sifat hidrofobisitas *L. fermentum* asal tempe dan tape berkorelasi dengan sifat autoagregasinya.

Tabel 4. Kemampuan koagregasi (%) isolat BAL asal tempe dan tape terhadap lima bakteri patogen

| Isolat BAL | Koaggregasi (%) | | | | |
|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | <i>E. coli</i> ATCC 25922 | <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 | <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644 | <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | <i>B. cereus</i> ATCC 11778 |
| <i>L. fermentum</i> 1 BK2-5 | 19,00±0,12 ^{bc} | 8,60±5,64 ^{bc} | 6,00±0,72 ^{cd} | 22,08±1,17 ^{ef} | 18,72±0,61 ^e |
| <i>L. fermentum</i> 2 BK2-7 | 2,86±1,29 ^{abc} | 4,84±0,92 ^{abc} | 5,16±0,73 ^{bcd} | 25,46±2,11 ^e | 17,84±0,67 ^{de} |
| <i>L. fermentum</i> 2 TS4-5 | 18,44±3,25 ^c | 1,74±0,10 ^a | 7,89±1,23 ^d | 19,70±1,11 ^{cde} | 16,96±1,51 ^{de} |
| <i>L. plantarum</i> 1 SH6-8 | 6,06±0,06 ^{ab} | 1,20±0,03 ^a | 2,85±1,30 ^c | 16,36±0,29 ^c | 4,15±0,76 ^a |
| <i>P. acidilactici</i> NG6-3 | 0,45±0,16 ^{ab} | 2,25±0,71 ^{ab} | 4,42±0,77 ^{abcd} | 33,05±0,20 ^g | 10,36±1,54 ^{bc} |
| <i>P. acidilactici</i> NG6-4 | 2,45±0,52 ^{ab} | 1,25±0,47 ^a | 1,22±0,27 ^a | 17,83±0,48 ^{cd} | 3,95±0,26 ^a |
| <i>L. plantarum</i> 2 W22409 | 1,62±0,00 ^{ab} | 1,51±1,36 ^a | 2,98±0,11 ^{abc} | 3,71±0,31 ^e | 1,49± 0,53 ^a |
| <i>P. pentosaceus</i> 1 W2SR04 | 7,31±2,74 ^{abc} | 3,51±0,11 ^{abc} | 12,39±2,56 ^e | 3,07±1,39 ^{ab} | 8,31±1,17 ^b |
| <i>P. pentosaceus</i> 2 W2SR05 | 2,90±0,64 ^{abc} | 4,93±0,00 ^{abc} | 8,10±0,11 ^d | 10,45±0,45 ^b | 13,01±1,74 ^e |
| <i>L. delbrueckii</i> W24802 | 5,69±2,72 ^c | 9,34±1,05 ^c | 5,77±0,22 ^{bcd} | 21,16±1,27 ^{de} | 12,68±1,90 ^c |
| <i>W. confusa</i> S2SR08 | 7,76±4,26 ^c | 9,00±2,57 ^c | 2,22±1,57 ^{ab} | 22,51±0,43 ^{ef} | 14,51±1,51 ^{cd} |
| <i>L. fermentum</i> S21209 | 29,85±1,04 ^d | 32,72±0,65 ^d | 24,83±0,65 ^f | 35,82± 0,61 ^g | 30,72±0,37 ^f |

Kemampuan koagregasi *L. fermentum* S21209 dengan bakteri patogen berkorelasi dengan kemampuan autoagregasi dan aktivitas antimikroba. Berdasarkan kemampuan untuk bertahan pada kondisi asam, garam empedu, autoagregasi dan aktivitas antimikroba, *L. fermentum* S212 09 asal tempe dan *L. fermentum* BK2-5 asal tape ketan merupakan BAL yang paling berpotensi sebagai kandidat probiotik. Mekanisme agregasi dan korelasinya terhadap sifat penempelan dan kemampuan bertahan pada saluran pencernaan untuk kedua BAL ini perlu diteliti lebih lanjut untuk mendukung pemanfaatannya sebagai probiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Sebagian penelitian ini didanai oleh Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi melalui Skema Penelitian Berbasis Kompetensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Antara NS, Dibia IN, Aryanta WR. 2009. Characterization of lactic acid bacteria isolated from horse milk of Bima. *Agritech* 29: 1-9.
- Arief II, Jenie BSL, Astawan M, Witarto BA. 2010. Efektivitas probiotik *Lactobacillus plantarum* 2C12 dan *Lactobacillus acidophilus* 2B4 sebagai pencegah diare pada tikus percobaan. *Media Peternakan* 33: 137-143. DOI: 10.5398/med.pet.2010.33.3.137.
- Bao Y, Zhang Y, Zhang Y, Liu Y, Shuiquan W, Dong S, Wang Y, Zhang H. 2010. Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. *Food Control* 21: 695-701. DOI: 10.1016/j.foodcont.2009.10.010.
- Blaabjerg S, Artzi DM, Aabenhus R. 2017. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in outpatients-a systematic review and meta-analysis. *Antibiotics* 6: 1-17. DOI: 10.3390/antibiotics6040021.
- Campana R, Saskia Van H, Wally B. 2017. Strain-specific probiotic properties of lactic acid bacteria and their interference with human intestinal pathogens invasion. *Gut Pathog* 9: 1-12. DOI: 10.1186/s13099-017-0162-4.
- Choi EA, Chang CH. 2015. Cholesterol-lowering effects of a putative probiotic strain *Lactobacillus plantarum* EM isolated from kimchi. *LWT-Food Sci Tech* 62: 210-217. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.01.019.
- Chávarri M, Marañón I, Villarán MC. 2012. Encapsulation technology to protect probiotic bacteria. *Intech* 23: 501-540. DOI: 10.5772/50046.
- Del Re B, Sgorbati B, Miglioti M, Palenzona D. 2000. Adhesion autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Lett Appl Microbiol* 31: 348-442. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.00845.x.
- Efriwati, Suwanto A, Rahayu G, Nuraida L. 2013. Population dynamics of yeast and lactic acid bacteria (LAB) during tempeh production. *Hayati J Biosci* 20: 57-64. DOI: 10.4308/hjb.20.2.57.
- Emmawati A. 2015. Kajian Antiinfeksi Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Mandai. [Disertasi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- FAO/WHO. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of Joint FAO/WHO Working Group on drafting Guidelines for the evaluation of probiotics in food. 1-11. London Ontario, Canada.

- Ganjbakhsh SE, Rezaee P. 2017. The Effect of probiotics on immune system. *J Bacteriol Mycol* 5: 319-320. DOI: 10.15406/jbmoa.2017.05.00139.
- Garcia-Cayuela T, Korany AM, Bustos I, de Cadiñanos LPG, Requena T, Peláez C. 2014. Adhesion abilities of dairy *Lactobacillus plantarum* strains showing an aggregation phenotype. *Food Res Int* 57: 44-50. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.01.010.
- Georgieva R, Yocheva L, Tserovska L, Zhelezova G, Stefanova N, Atanasova A, Danguleva A, Ivanova G, Karapetkov N, Rumyan N, Karaivanova E. 2015. Antimicrobial activity and antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. intended for use as starter and probiotic cultures. *Biotechnol Biotec Eq* 29: 84-91. DOI: 10.1080/13102818.2014.987450.
- Janković T, Frece J, Abram M, Gobin I. 2012. Aggregation ability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Int J Sanitary Eng Res* 6: 19-24.
- Kaewnopparat S, Dangmanee N, Kaewnopparat N, Srichana T, Chulasiri M, Settharaksa S. 2013. *In vitro* probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* SK5 isolated from vagina of a healthy woman. *Anaerobe* 22: 6-13. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2013.04.009.
- Kinová SH, Bilková A, Bukovský M. 2008. *Lactobacilli* and their probiotic properties. *Čes Slov Farm* 57: 95-98.
- Kos B, Šušková J, Vuković S, Šimpraga M, Frece J, Matošić S. 2003. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *J Appl Microbiol* 94: 981-987. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2003.01915.x.
- Kumar KS, Sastry N, Polaki H, Mishra. 2015. Colon cancer prevention through probiotics: An overview. *J Cancer Sci Ther* 7: 81-92. DOI: 10.4172/1948-5956.1000329.
- Mikelsaar M, Zilmer M. 2009. *Lactobacillus fermentum* ME-3 an antimicrobial and antioxidative probiotic. *J Microb Ecol Health D* 21: 1-27. DOI: 10.1080/08910600902815561.
- Nuraida L, Winarti S, Hana, Prangdimurti E. 2011. Evaluasi *in vitro* terhadap kemampuan isolat bakteri asam laktat asal air susu ibu untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongugasi garam empedu. *J Teknol Industri Pangan* 22: 46-52.
- Nuraida L, Anggraeni D, Hariyadi-Dewanti R. 2012. Adherence properties of lactic acid bacteria as probiotic candidates isolated from breast milk. *Asian J Food Agr Ind* 5: 500-511.
- Nuraida L, Owens JD. 2014. Sweet, sour, alcoholic solid substrate fungal fermentation. Di dalam: *Indigenous Fermented Food of southeast Asia*. Owens JD, editor. *Fermented Food and Beverages Series*. 137-155. Boca Raton (US), CRC Press.
- Nuraida L. 2015. A review: Health promoting lactic acid bacteria in traditional Indonesian fermented foods. *Food Sci Hum Wellness* 4: 47-55. DOI: 10.1016/j.fshw.2015.06.001.
- Nurdini AL, Nuraida L, Suwanto A, Suliantari. 2015. Microbial growth dynamics during tempe fermentation in two different home industries. *Int Food Res J* 22: 1668-1674.
- Pan X, Chen F, Wua T, Tang H, Zhao Z. 2009. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control* 20: 598-602. DOI: 10.1016/j.foodcont.2008.08.019.
- Pan DD, Zeng QX, Yan YT. 2011. Characterisation of *Lactobacillus fermentum* SM-7 isolated from koumiss, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *J Sci Food Agr* 9: 512-518. DOI: 10.1002/jsfa.4214.
- Pato U, Surono IS, Koesnandar, Hosono A. 2004. Hypocholesterolemic effect of indigenous dadih lactic acid bacteria by deconjugation of bile salts. *Asian-Australas J Anim Sci* 17: 1741-1745. DOI: 10.5713/ajas.2004.1741.
- Patrick OM. 2012. Lactic acid bacteria in health and disease. *Rwanda J Health Sci* 1: 39-50.
- Ramiah K, van Reenen CA, Dicks LMT. 2008. Surface-bound proteins of *Lactobacillus plantarum* 423 that contribute to adhesion of Caco-2 cells and their role in competitive exclusion and displacement of *Clostridium* sporogenes and *Enterococcus faecalis*. *Res Microbiol* 159: 470-475. DOI: 10.1016/j.resmic.2008.06.002.
- Ratihwulan H. 2016. Karakteristik Sensori Tape Ketan dan Tape Singkong Dari Industri Rumah Tangga yang Berbeda Di Bogor. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

- Reis JA, Paula AT, Casarotti SN, Penna ALB. 2012. Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: Characteristics and applications. *Food Eng Rev* 4: 124-140. DOI: 10.1007/s12393-012-9051-2.
- Samaržija D, Tudor M, Prtilo T, Špehar ID, Zamberlin S, Havranek J. 2009. Probiotic bacteria in prevention and treatment of diarrhea. *Mljekarstvo* 59: 28-32.
- Santos Y, Bandin I, Nicito TP, Bruno DW, Ellis AE, Taranzo AT. 1990. Proposed criteria of hydrophobicity. *J Letters In Appl Microbiol* 13: 343-346.
- Sivieri K, Bedani R, Cavallini DCU, Rossi EA. 2013. Probiotics and intestinal microbiota: implication in colon cancer prevention. *In Tech* 9: 217-242. DOI: 10.5772/51696.
- Todorov SD, Vaz-Velho M, de Melo Franco BDG, Holzapfel WH. 2013. Partial characterization of bacteriocins produced by three strains of *Lactobacillus sakei*, isolated from salpicão, a fermented meat product from North-West of Portugal. *Food Control* 30: 111-121. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.07.022.
- Touw KS. 2014. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dominan Selama Fermentasi Tempe dan Evaluasi Potensinya Sebagai Probiotik. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Vonk RJ, Reckman GAR, Harmsen HJM, Priebe MG. 2012. Probiotics and lactose intolerance. *Intech* 7: 149-160. DOI: 10.5772/51424.