

KOMBINASI KITOSAN DAN *Lactobacillus acidophilus* SEBAGAI ANTIBAKTERI *Escherichia coli*

COMBINATION OF CHITOSAN AND *Lactobacillus acidophilus* AS AN ANTIBACTERIAL FOR *Escherichia coli*

Erisa Febriyani¹, Yusneli², Sri Sulpha Siregar³, Handayani⁴, Iis Afriyani⁵
^{1,2,3,4,5}Politeknik Kesehatan Palembang, Palembang, Indonesia
(email korespondensi: risakimia@gmail.com)

ABSTRAK

Latar Belakang: Kitosan termasuk prebiotik yang diperoleh dari bahan baku limbah perikanan seperti kepala udang, cangkang kepiting yang berlimpah di Indonesia. Prebiotik merupakan ingredien yang tidak dapat dicerna dan menghasilkan pengaruh menguntungkan terhadap inang dengan cara menstimulir secara selektif pertumbuhan satu atau lebih bakteri tertentu. BAL dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* berpotensi sebagai agen probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan manusia dan hewan. Jumlah probiotik dapat dioptimalkan dengan penggunaan prebiotik. Konsep sinergistik antara probiotik dan prebiotik dikenal sebagai sinbiotik. Penelitian ini bertujuan untuk melihat bagaimana pengaruh kombinasi kitosan dan *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *In Vivo*. **Metode:** Penentuan jumlah bakteri *E. coli* dilakukan dengan metode hitungan cawan. Analisis data menggunakan Rancangan Acak Lengkap dan pengukuran statistik menggunakan SPSS 21. **Hasil:** Rerata *E. coli* sekum kontrol (A) dan perlakuan (B, C, D, E, F, G dan H) berturut-turut : 40,00; 78,33; 21,67; 19,33 dan 11,00x10⁵ CFU/mL. **Kesimpulan:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua perlakuan berbeda signifikan (P<0,05) terhadap jumlah bakteri *E. coli*.

Kata kunci : *L. acidophilus* sp, kitosan 0,2%, *E. Coli*.

ABSTRACT

Background: Chitosan is a prebiotic obtained from fishery waste raw materials such as shrimp heads and crab shells which are abundant in Indonesia. Prebiotics are indigestible ingredients that produce beneficial effects on the host by selectively stimulating the growth of one or more specific bacteria. LAB from the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* have potential as probiotic agents that are beneficial for human and animal health. The amount of probiotics can be optimized by using prebiotics. The synergistic concept between probiotics and prebiotics is known as synbiotics. This research aims to see the effect of the combination of chitosan and *Lactobacillus acidophilus* on the growth of *Escherichia coli* bacteria in *Vivo*. **Methods:** *E. coli* in cecum duck was determinant by plate count method. **Results:** The average of *E. coli* content in the cecum of pegagan duck were : 40.00; 78.33; 21.67; 19.33 dan 11.00x10⁵ CFU/mL for treatment A (control), B, C, D, E, F, G, and H respectively. **Conclusion:** The results showed that the treatment had significant effect (P<0,05) on *E. coli*.

Keywords : *L. acidophilus* sp, Chitosan 0,2%, *E. coli*

PENDAHULUAN

Kitosan termasuk prebiotik yang diperoleh dari bahan baku limbah perikanan seperti kepala udang, cangkang kepiting yang berlimpah di Indonesia (Harti dan Dwi, 2013). Prebiotik merupakan ingredien yang tidak dapat dicerna dan menghasilkan pengaruh menguntungkan terhadap inang dengan cara menstimulir secara selektif pertumbuhan satu atau lebih bakteri tertentu pada saluran pencernaan sehingga dapat meningkatkan kesehatan inang (Antarini, 2011).

Probiotik merupakan pakan aditif berupa bakteri hidup yang dapat meningkatkan keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan inang yang berperan meningkatkan kesehatan dan produktivitas (Santoso dkk., 2013). Probiotik umumnya terdiri dari golongan bakteri asam laktat (BAL). Dwi dkk (2013), menyatakan bahwa isolat BAL dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* berpotensi sebagai agen probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan manusia dan hewan. aktivitas BAL akan menghasilkan asam-asam organik penyebab penurunan pH yang dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen serta menghasilkan senyawa metabolik seperti hidrogen peroksida, bakteriosin, enzim β -galactosidase, enzim *Bile Salt Hidrolase*, vitamin, eksopolisakarida, peptida spesifik

dalam β -casein yang jumlahnya spesifik pada tiap strain bakterinya sehingga menjaga kesinambungan mikroflora saluran pencernaan dan mencegah berbagai penyakit degeneratif (Ernawati,2010).

Jumlah probiotik dapat dioptimalkan dengan penggunaan prebiotik. Konsep sinergistik antara probiotik dan prebiotik dikenal sebagai sinbiotik. Keuntungan dari kombinasi ini adalah meningkatkan daya tahan hidup bakteri probiotik oleh karena substrat yang spesifik telah tersedia untuk fermentasi sehingga tubuh mendapat manfaat yang lebih sempurna dari kombinasi ini (Antarini, 2011).

Saluran pencernaan unggas merupakan tempat hidup bagi mikroflora, baik mikroflora menguntungkan maupun yang merugikan. Keberadaan bakteri *E. coli* pada saluran pencernaan memberikan keuntungan dalam proses pembusukan, namun jika keberadaannya terlalu banyak dapat memberikan gangguan gejala saluran cerna seperti konstipasi, diare non patogenik, dan lain sebagainya.

Belum ada publikasi mengenai kombinasi pemberian kitosan dan *L. acidophilus* sp pada itik pegagan. Oleh sebab itu perlu dilakukan pengujian secara *in vivo* untuk menindaklanjuti hasil penelitian secara *in vitro* yang sudah dilaksanakan, untuk mengetahui populasi *L. acidophilus* sp

yang telah dikombinasi dengan kitosan sebagai pangan fungsional terhadap populasi bakteri patogen *E. coli* pada hewan percobaan (sekum itik pegagan).

BAHAN DAN METODE

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi, jarum ose, inkubator, autoklaf, seperangkat alat gelas, bulb, pipet volume, cawan petri, rak tabung, gelas beker, gelas ukur, penangas, batang pengaduk, labu takar, erlenmeyer, *magnetic stirrer*, pipet tips, timbangan analitik, *laminar air flow*, bunsen, kulkas, sentrifuge, sonde, dan lain-lain.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu Isolat Bakteri *L. acidophilus* sp. Itik berumur 2 bulan berjumlah 32 ekor dengan berat rata-rata 2 kilogram serta rincian 1 unit kandang terdiri dari 3 ekor. Masing-masing kandang diberi kode untuk 8 perlakuan dengan 3 kali pengulangan. Kitosan, NaCl, aquades, tisu rol, plastik tahan panas, plastik wrap, kertas label, kertas, aluminium foil, kapas, media MRS-A (*de Man-Rogosa-Sharpe Agar*), media MRS-B (*de Man-Rogosa-Sharpe Broth*), media NA (*Nutrient Agar*), media agar Endo, media NB (*Nutrient Broth*), dan bakteri patogen *E. coli*.

Pembuatan media untuk BAL

De Mann Rogosa Sharpe (MRS) *Broth* (Merck) sebanyak 26,1 gram

dimasukkan ke dalam labu takar 500 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas. Selanjutnya dihomogenisasi di atas *hotplate* pada suhu 100°C, kemudian di ambil 10 mL ke dalam tabung reaksi, ditutup dengan kapas lalu di sterilisasi menggunakan autoklaf (selama 15 menit pada temperatur 121°C dan tekanan 15 lbs). MRS-*agar* (Merck) sebanyak 31 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer dilarutkan dalam 500 mL aquades, dihomogenisasi dengan *magnetic stirrer* di atas *hotplate* pada suhu 100 °C, kemudian di sterilisasi menggunakan autoklaf (selama 15 menit pada temperatur 121°C dan tekanan 15 lbs).

Pembuatan Media untuk bakteri Patogen

Nutrien Agar (NA) sebanyak 7,65 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dilarutkan dalam 500 mL aquades, selanjutnya dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* di atas *hotplate* pada suhu 100°C, kemudian di sterilisasi menggunakan autoklaf (selama 15 menit pada temperatur 121°C dan tekanan 15 lbs). Media *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 14 gram dimasukkan ke dalam labu takar 500 mL, ditambahkan aquades sampai tanda batas, dihomogenkan di atas *hotplate* pada suhu 100°C, kemudian di sterilisasi menggunakan autoklaf (selama 15 menit pada temperatur 121°C dan tekanan 15 lbs). Untuk media Agar Endo sebanyak

19,5 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dilarutkan dalam 500 mL aquades, selanjutnya dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirer* di atas *hotplate* pada suhu 100°C, kemudian di sterilisasi menggunakan autoklaf (selama 15 menit pada temperatur 121°C dan tekanan 15 lbs).

Persiapan Stock Kultur Bakteri

Persiapan Stock Kultur BAL

Isolat lokal *L. acidophilus* sp pada cawan di ambil satu *loop ose* menggunakan jarum ose dan diinokulasi ke 10 mL MRS Broth steril. Inkubasikan pada suhu 37 °C selama 48 jam, kemudian disimpan dalam kulkas sebagai stock kultur.

Persiapan Stock Kultur *E. coli*

Kultur bakteri *E. coli* diambil satu *loop ose* bakteri dari media agar miring menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasikan ke dalam 10 mL NB steril. Selanjutnya divorteks untuk meratakan bakteri di dalam NB, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Semua dilakukan secara aseptis.

Perlakuan pada itik pegagan

Tahap adaptasi itik

Pada penelitian ini akan dipergunakan 32 ekor itik pegagan yang berumur 2 bulan dengan bobot 2 kilogram yang diperoleh dari daerah TPI Serumpun, Ogan Ilir. Sebelum

diberikan perlakuan, hewan percobaan beradaptasi terlebih dahulu selama 7 hari, yang meliputi; kandang dan bobot tubuh. Dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), itik diberikan makanan standar berupa Ransum Basal yaitu campuran tepung jagung, dedak, bungkil kedelai, minyak, metionin, lisin, premiks serta kitosan 0,2% dari pakan sebagai prebiotik. Itik ditempatkan pada kandang yang terbuat dari besi dengan ukuran 55 x 45cm. Masing-masing kandang terdiri dari 3 ekor itik dengan masing-masing 8 perlakuan yang berbeda dengan 3 kali pengulangan. Kandang itik disterilisasi terlebih dahulu menggunakan antiseptik sebelum digunakan.

Persiapan Stater *L. acidophilus* sp

Biakan yang telah tumbuh pada media MRS broth (sub bab 2.3.2.1), divorteks (untuk mendapatkan biakan yang homogen), kemudian diambil 1000 µl dimasukkan ke dalam tabung reaksi yg telah terisi 4 mL MRS Broth steril dan divorteks sampai homogen sehingga diperoleh konsentrasi kurang lebih 10⁸ CFU/mL setelah sebelumnya dilakukan perhitungan menggunakan *haemocytometer* oleh peneliti sebelumnya. Inilah yang akan diberikan pada itik sebagai starter.

Persiapan Stater *E. coli*

Biakan yang telah tumbuh pada media NB (sub bab 2.3.2.2), divortek (untuk mendapatkan biakan yang homogen), kemudian diambil 1000 μ L dimasukkan ke dalam tabung reaksi yg telah berisi 9 mL NB steril dan divortek sampai homogen sehingga diperoleh konsentrasi pengenceran kurang lebih 10^8 CFU/mL. Dari hasil pengenceran 10^8 , diambil 1000 μ L untuk diencerkan kembali dalam 9 mL NB steril 10^7 . Dilakukan terus menerus pengenceran sampai diperoleh pengenceran 10^3 . Inilah yang akan diberikan pada itik sebagai starter. Semua proses dilakukan secara aseptis.

Perlakuan *in vivo* pada itik pegagan

Bakteri *L. acidophilus* sp yang diperoleh (anak sub bab 3.3.3.2), diberikan pada itik dengan metode *oral gavage*, yaitu dengan cara memberikan bakteri *L. acidophilus* sp masing-masing sebanyak 5 mL ($\pm 10^8$ sel/mL) kepada itik dengan menggunakan sonde. Untuk infeksi bakteri patogen *E. coli* diberikan masing-masing sebanyak 1 mL ($\pm 10^3$ sel/mL). Perlakuan ini dilakukan selama 1 bulan, setelah 1 bulan itik akan dipotong dan di ambil sekumnya untuk dilakukan perhitungan populasi bakteri dalam sekum. Perlakuan dilakukan satu kali dalam sehari (pada pukul 16.00 – 17.00 WIB). Perlakuan diberikan setelah pemberian pakan pada itik. Berikut perlakuan yang diberikan yaitu :

Perlakuan A : Ransum Basal (100%) (Kontrol)

Perlakuan B: Ransum Basal + 1 mL infeksi *E. coli*

Perlakuan C: Ransum Basal + 5 mL bakteri *L. acidophilus* sp.

Perlakuan D: Ransum Basal + Kitosan 0,2%

Perlakuan E : Ransum Basal + Kitosan 0,2 % + 1 mL infeksi *E. coli*.

Perlakuan F : Ransum Basal + 5 mL bakteri *L. acidophilus* sp + 1 mL infeksi *E. coli*.

Perlakuan G : Ransum Basal + Kitosan 0,2% + 5 mL bakteri *L. acidophilus* sp.

Perlakuan H : Ransum Basal + Kitosan 0,2% + 5 mL bakteri *L. acidophilus* sp + 1 mL infeksi *E. coli*

Perhitungan populasi bakteri *E. coli* (Kontrol dan Perlakuan)

Setelah 1 bulan perlakuan, itik dipotong dan diambil sekumnya. Pertama itik dibius dengan kloroform 10%, dibedah dan diambil bagian sekumnya. Sekum yang diperoleh diletakkan pada cawan petri steril, kemudian isinya dikeluarkan dan ditampung dalam tabung steril dan ditambahkan larutan fisiologis (NaCl 0,85%) sesuai dengan berat isi sekum (pengenceran 1:1) dan dihomogenkan. Selanjutnya 1 mL suspensi isi sekum dimasukkan ke dalam tabung pengencer yang berisi 9 mL salin sehingga

diperoleh pengenceran 10^{-1} , divorteks hingga homogen, kemudian diencerkan lagi sampai diperoleh pengenceran 10^{-7} .

Untuk penentuan total Bakteri *E. coli* digunakan metode *pour plate*. Sebanyak 1000 μ L sampel yang telah diencerkan (pengenceran 10^{-5} – 10^{-7}) disebar pada permukaan cawan petri steril, kemudian media Endo agar yang belum padat ($>45^{\circ}\text{C}$) dituang dan dibiarkan mengeras. Inkubasi secara anaerob selama 24 jam pada suhu 37°C . Setelah diinkubasi selama 48 jam, dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh. Total populasi bakteri diperoleh dengan mengalikan jumlah koloni yang tumbuh dengan faktor pengencernya.

HASIL

Tabel 1. Rataan jumlah koloni bakteri *E. coli* dengan berbagai perlakuan setelah diinfeksi *E. coli* pada sekum itik pegagan.

Perlakuan	Total koloni <i>E. coli</i> ($\times 10^5$ CFU/mL)
A (Basal 100%)	40,00 ^b
B (<i>E. coli</i>)	78,33 ^c
E (Kitosan 0,2%+ <i>E. coli</i>)	21,67 ^{ab}
F(<i>L. acido</i> + <i>E. coli</i>)	19,33 ^{ab}
H(Kitosan 0,2%+ <i>L. acido</i> + <i>E. coli</i>)	11,00 ^a

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan beda yang nyata pada uji BNJ ($P < 0,05$)

Rataan jumlah koloni *E. coli* dari perlakuan B dengan pemberian Ransum Basal dan *E. coli* menunjukkan perbedaan yang signifikan pada penurunan jumlah bakteri *E. coli* dalam sekum terhadap

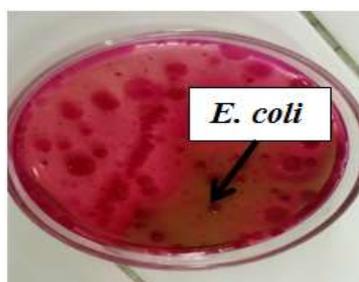
Populasi bakteri *E. coli* pada sekum itik pegagan berbagai perlakuan setelah diinfeksi bakteri *E. coli* diperoleh hasil yang berbeda-beda. Adapun total populasi bakteri *E. coli* pada sekum itik pegagan menggunakan metode agar tuang (*Pour plate*) dengan media Endo Agar. Media Endo Agar ini mengandung Natrium Sulfit dan indikator Fuchsin yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Warna koloni merah metalik yang ditunjukkan pada Gambar 1. disebabkan bakteri *E. coli* dan koliform memetabolisme laktosa menjadi aldehid dan asam sehingga aldehid bereaksi dengan indikator Fuchsin membentuk senyawa kompleks.

perlakuan A (Basal 100%), E (Kitosan 0,2% dan *E. coli*), F (*L. acidophilus* sp dan *E. coli*), dan H (Kitosan 0,2%, *L. acidophilus* sp dan *E. coli*). Begitu pula dengan perlakuan H yaitu pemberian Kitosan 0,2%, *L.*

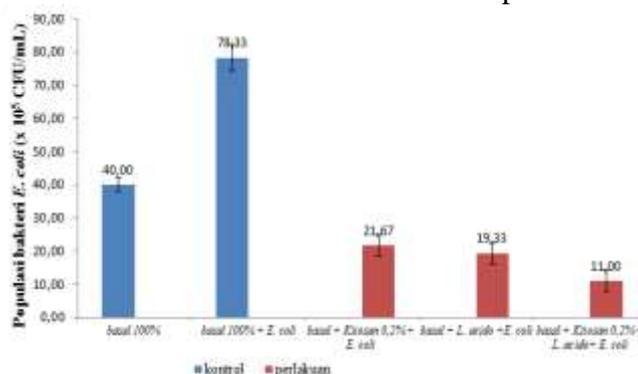
acidophilus sp dan *E. coli* menunjukkan perbedaan signifikan terhadap perlakuan A (Basal 100%), B (*E. coli*), E (*L. acidophilus* sp dan *E. coli*) dan F (*L. acidophilus* sp dan *E. coli*).

Berdasarkan data Tabel 1. bahwa jumlah koloni bakteri *E. coli* tertinggi pada perlakuan B (*E. coli*) sebesar $78,33 \times 10^5$

CFU/mL sedangkan jumlah koloni bakteri *E. coli* terendah pada perlakuan H dengan pemberian kitosan 0,2%, *L. acidophilus* sp dan *E. coli* sebesar $11,00 \times 10^5$ CFU/mL. Hal ini menunjukkan bahwa sinbiotik antara bakteri *L. acidophilus* sp dan kitosan pada itik perlakuan dapat menurunkan populasi bakteri *E. coli* pada sekum.



Gambar 1. Pertumbuhan bakteri *E. coli* sekum itik pada media Endo Agar.



Gambar 2. Grafik populasi bakteri *E. coli* sekum itik pegagan perlakuan dan kontrol.

PEMBAHASAN

Sesuai dengan grafik (Gambar 2) Penurunan jumlah bakteri *E. coli* pada sekum pegagan dibandingkan dengan kontrol disebabkan karena sinbiotik antara bakteri *L. acidophilus* sp dan kitosan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan cara BAL pada sekum menghasilkan asam-asam organik, bakteriosin, H_2O_2 dan lain-lain

sebagai hasil metabolit sekundernya. Asam lemah yang dihasilkan oleh BAL akan menurunkan pH pada sekum, sedangkan bakteriosin dan H_2O_2 bersifat racun sehingga membunuh bakteri patogen khususnya bakteri *E. coli*.

Penurunan populasi *E. coli* terbesar pada perlakuan H (Kitosan 0,2%, *L. acidophilus* sp dan *E. coli*) ini disebabkan karena sinbiotik antara bakteri *L. acidophilus*

sp dan kitosan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Ada dua jenis bakteri *E. coli*, yaitu *E. coli* fekal dan non fekal. Perbedaannya bakteri *E. coli* fekal berasal dari feses hewan maupun manusia sedangkan *E. coli* non fekal berasal dari tumbuhan atau hewan yang telah mati. Total *E. coli* yang dihitung merupakan total *E. coli* fekal dimana jumlah yang didapatkan merupakan *E. coli* yang terdiri atas dua strain yang berbeda yaitu *E. coli* patogen dan *E. coli* non patogen atau yang sering disebut komensal karena berfungsi dalam membantu memecah dan mencerna makanan serta melindungi sel inang dari patogen saluran gastrointestinal. Puppo *et al.* (1997) menyatakan bahwa di dalam saluran pencernaan manusia terdapat spesies *E. coli* yang terdiri dari komensal mikroorganisme dan varietas strain patogen meliputi *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *Enterotoxi- genic E. coli* (ETEC), *Enteroinvasive E. coli* (EIEC), dan strain *urinary tract infection* (UTI).

Strain patogenik ditetapkan berdasarkan serotype dan berdasarkan virulensi tertentu (toksisitas dan kemampuan melekat pada epitel) serta tipe antigen. Dari hasil penelitian Saputra (2014) secara *in vitro* menyebutkan bahwa kombinasi antara bakteri *L. acidophilus* sp dan kitosan 0,2% memiliki daya hambat yang luas terhadap

pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* dengan diameter zona hambat sebesar 332,46 mm². Selain itu penurunan populasi bakteri *E. coli* pada itik yang diberikan kombinasi bakteri *L. acidophilus* sp dan kitosan, disebabkan oleh terjadinya penurunan pH. Penurunan pH akan meningkatkan populasi BAL yang dapat menekan pertumbuhan bakteri *E. coli*, selain itu penurunan pH juga dapat mengurangi populasi bakteri patogen yang tidak tahan terhadap pH yang rendah (Vernazza dkk., 2006).

Bakteri *E. coli* termasuk dalam bakteri yang dapat membahayakan kesehatan. Vernazza dkk (2006) menyatakan bahwa, dominasi bakteri *E. coli* dan *Clostridium* dapat meningkatkan pengaruh patogenik, seperti terjadinya diare akut dan proses pembusukan dalam saluran pencernaan. Keberadaan BAL dalam saluran pencernaan dapat memodulasi saluran pencernaan menjadi lebih stabil, mencegah pertumbuhan bakteri patogen, dan meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap penyakit.

KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian *L. acidophilus* sp dan kitosan 0,2% serta infeksi bakteri *E. coli* memberikan pengaruh penurunan jumlah koloni bakteri *E. coli* pada sekum itik pegagan sebanyak 11,00x10⁵ CFU/mL dibandingkan dengan kontrol (basal 100%) sebesar 40,00x10⁵ CFU/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti berterimakasih kepada Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian

Universitas Sriwijaya yang telah memfasilitasi penyediaan kandang percobaan dalam pengambilan data sampel penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Antarini, N. 2011. Sinbiotik Antara Probiotik Dan Prebiotik. *Jurnal Ilmu Gizi*. 2(2):148-155.
- Dwi, I., Risa, N., dan Puji, A. 2013. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus sp.* RED1 Dari Cincalok Formulasi. *Jurnal Kimia*.1:1.
- Ernawati. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Usus Kambing Segar*. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang (Skripsi).
- Harti, A.S., dan Dwi, S.H. 2013. *Efek Sinergisti Sinbiotik (Chito-Oligosakarida, Bekatul dan Probiotik) Sebagai Immunostimulan dalam Pangan Fungsional*. Makalah disajikan pada Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS di Solo.
- Harti, A.S., Ratno, A.S., dan Hosea. 2012. Efek Penambahan Kitosan sebagai Prebiotik terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 Secara In vitro. *Jurnal Sains*,03:24.
- Santoso, B., Maunatin, A., Hariadi, B.T., dan Abubakar, H. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Rumput Raja (*Pennisetum purpureophoides*) sebagai Kandidat Probiotik pada Ternak. *JITV*.18(2): 131.
- Saputra, H. 2014. *Efek Sinergistik Penambahan Chito-oligosakarida (COS) sebagai Prebiotik pada Bakteri Asam Laktat Lactobacillus acidophilus Isolat Lokal sebagai Probiotik terhadap Sifat Antibakteri dan Produksi Asam Organik*. Palembang : Universitas Sriwijaya (Skripsi).
- Vernazza, C.L., B.A. Rabi, and G.R. Gibson. 2006. *Human Colonic Microbiology and The Role of Dietary Intervention: Introduction to Prebiotics*. Prebiotics: Development and Application. John Wiley & Sons, Ltd