

Kemampuan Antibakteri Susu Fermentasi terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella flexneri*

(The antibacterial ability of fermented milk to *Escherichia coli* and *Shigella flexneri*)

Zuraida Hanum¹, Rastina² dan Veronica Wanniatie³

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala

²Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

³Universitas Lampung

ABSTRAK Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan starter *Lactobacillus plantarum* pada konsentrasi 3%, 4% dan 5% dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar. Pengamatan terhadap susu fermentasi dilakukan selama 8 hari. Uji antibakteri ini dilakukan untuk melihat apakah susu fermentasi tersebut mampu menekan pertumbuhan patogen enterobakteri. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas penghambatan mikroba dari susu fermentasi terhadap bakteri patogen dengan tiga kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis secara

statistik menggunakan ANOVA. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kemampuan susu fermentasi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella flexneri* terjadi pada jumlah sel sebanyak (10^6 CFU/ml) di dalam nutrient agar. Fermentasi susu menggunakan konsentrasi 5% starter memperlihatkan luas zona hambat tertinggi yaitu 17.42 mm terhadap *E. coli* pada hari kedua. Sedangkan terhadap *Shigella flexneri* luas zona penghambatan sebesar 8.88 mm pada hari ketiga dengan konsentrasi starter yang sama.

Kata kunci : Susu fermentasi, antibacterial, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*.

ABSTRACT The study was performed using *Lactobacillus plantarum* as starter at concentrations of 3%, 4% and 5% and incubated for 48 hours at room temperature. Observation of fermented milk conducted for 8 day. The antibacterial activity test was analyzed to find whether fermented milk able to inhibit pathogen growth. The antibacterial ability of suppressing of *Enterobacteriaceae* growth observed by using *Escherichia coli* and *Shigella flexneri* (10^6 CFU/ml) in Nutrient Agar and challenge to fermented milk using 3%, 4% and 5% starter or about (50 μ l/well). Further testing of microbial inhibitory activity of fermented milk

against pathogenic bacteria conducted by three replications. The data obtained were analyzed statistically using ANOVA. The results showed that the ability of fermented milk as antibacterial on *Escherichia coli* and *Shigella flexneri* occurred in the amount of sell as much as (10^6 CFU / ml) when it grown in nutrient agar. As a conclusion, fermented milk using a 5% starter showed that the highest inhibition zone of 17.42 mm to *E. coli* on the second day observation. While inhibition zone of *Shigella flexnerii* was 8.88 mm on the third day with the same starter concentration.

Keywords : Milk fermented, antibacterial, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*.

2017 Agripet : Vol (17) No. 1 : 24-30

PENDAHULUAN

Zat-zat gizi tinggi yang terdapat pada susu, merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Pertumbuhan mikroba menyebabkan susu tidak tahan disimpan lama dan mudah rusak. Salah satu cara pengawetan pada susu diantaranya perlakuan panas

(pasteurisasi, sterilisasi) dan fermentasi. Pasteurisasi susu merupakan salah satu cara mengawetkan susu melalui pemanasan pada suhu tertentu dibawah titik didih susu, dimana hasil produk olahannya masih mempunyai bentuk dan rasa seperti susu segar. Tetapi pemanasan pada suhu dibawah titik didih ini menyebabkan susu pesteruisasi masih belum bebas dari sejumlah mikroorganisme. Hal ini

Corresponding author : zuraidahanum@gmail.com
DOI : <https://doi.org/10.17969/agripet.v17i1.6572>

dibuktikan oleh Penelitian yang dilakukan Wanniatie dan Hanum (2015).

Fermentasi yang terjadi akibat adanya bakteri asam laktat dalam susu, akan menurunkan pH dan dapat menghambat invasi (bersifat antibakteri) dari beberapa bakteri patogen golongan *Enterobacteriaceae* seperti *Salmonella* dan *Escherichia coli* yang sering mengganggu saluran pencernaan (Nousiainen dan Setälä 1998).

Pada proses fermentasi, bakteri asam laktat akan menghasilkan asam-asam organik (asam laktat, asam asetat, asam format), hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin yang bersifat antibakteri. Antibakteri merupakan zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Sifat antibakteri oleh genus *Lactobacillus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen golongan *Enterobacteriaceae* (*Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Shiigella sp.*), *Bacillus cereus* dan *Stapylococcus aureus* (Khikmah, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Hanum (2010) memperlihatkan fermentasi susu dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri, *Salmonella typhimurium*.

Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Berdasarkan aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.*, 2005).

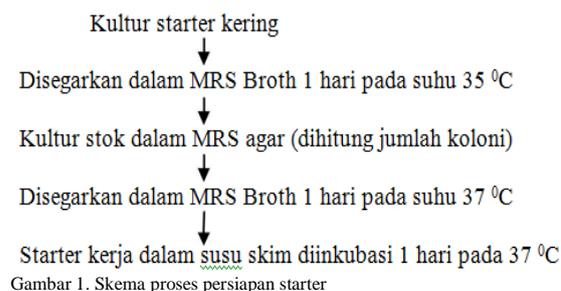
Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri antara lain adalah pH lingkungan, komponen-komponen perbenihan, stabilitas obat, besarnya inokulum bakteri, masa pengeraman dan aktivitas metabolik mikroorganisme. Antibiotik adalah

suatu substansi kimia yang diperoleh dari, atau dibentuk oleh berbagai spesies mikroorganisme, yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya (Setiabudy, 2007). Penelitian ini melihat kemampuan antibakteri dari susu fermentasi terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella flexneri*.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Departemen Kitwan Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar dari Rumah Sakit Hewan, FKH-IPB, media *deMan Rogosa Sharpe* (MRS) (CM 359 Oxoid) dan lainnya. Isolat bakteri yang digunakan *Lactobacillus. Plantarum* BCC B2249 sebagai starter dalam fermentasi susu dan kultur bakteri patogen yang digunakan *Escherichia coli* ATCC 38218 dan *Shigella flexneri* ATCC 12022.

Penelitian terbagi dalam dua tahapan. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menentukan metode pembuatan susu fermentasi yang paling sesuai yang akan digunakan pada penelitian utama. Gambar 1 memperlihatkan proses persiapan starter yang digunakan dalam pembuatan susu fermentasi *Lactobacillus plantarum*.



Gambar 1. Skema proses persiapan starter

Pada penelitian ini, starter yang digunakan pada proses fermentasi dalam media susu skim. Selanjutnya adalah tahapan persiapan dan pembuatan susu yang tersaji ada Gambar 2.

Rancangan percobaan yang dipergunakan adalah rancangan percobaan dengan pengamatan berulang (*Repeated*

Measurement) dengan tiga kali ulangan. Peubah yang diamati yaitu konsentrasi starter (3%, 4%, 5%) dan waktu penyimpanan sebagai perlakuan berulang (0 hari sampai dengan 7 hari).



Gambar 2. Prosedur Penelitian Kemampuan Antibakteri Susu Fermentasi

Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis sidik ragam ANOVA. Bila diantara perlakuan terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dan ($p < 0,01$), dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) (Mattjik dan Sumertajaya, 2002). Hasil pengujian terhadap antibiotika disajikan dalam bentuk grafik.

Pengujian Kemampuan Antibakteri (Hanum, 2010)

Sebanyak 1 ose uji kultur bakteri *E. Coli* dan *S. Flexnerii* ditumbuhkan pada medium NA. Diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam, Sebelumnya kultur disegarkan dalam BPW 1-2 ose, diinkubasikan selama 18 jam. Kultur diinokulasikan sebanyak 1 juta CFU/ml yang ditentukan dengan metode MacFarland, kedalam dalam cawan petri steril dan ditambahkan 20 ml media nutrien agar, selanjutnya dibuat sumur dengan diameter 6 mm.

Pengujian aktivitas mikroba dilakukan dengan metode uji difusi sumur, untuk melihat kemampuan susu fermentasi terhadap *E. coli*, dan *S. Flexnerii*. Susu fermentasi ditambahkan sebanyak 50 µl dengan konsentrasi s%, 4% dan 5% ke dalam cawan petri yang telah dibuat sumur dengan diameter 6 mm. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotika (kloramfenikol dan tetrasiklin) dalam bentuk *paper disk*

30 (µg) dan sebagai kontrol negatif digunakan *blank disk*. Zona hambatan diukur berdasarkan diameter areal bening yang terbentuk di sekitar sumur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan antibakteri susu fermentasi terhadap *Escherichia coli*

Hasil pengamatan, ditemukan adanya daya hambat susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1. Secara statistik terlihat perlakuan konsentrasi starter yang ditambahkan dan lamanya penyimpanan yang dilakukan, berpengaruh nyata pada daya hambat susu fermentasi terhadap *Escherichia coli*.

Hasil penelitian memperlihatkan ada hubungan antara persen starter yang digunakan dengan lama penyimpanan terhadap aktivitas antibakteri, dimana perlakuan paling baik untuk diterapkan adalah pada konsentrasi starter 5% dengan lama penyimpanan hari ke 1, dengan luas zona hambatan yang terbentuk (kemampuan antibakteri) sebesar 17.42 mm. Susu fermentasi yang paling baik digunakan pada konsentrasi starter 3 % sampai hari ke-3, sedangkan konsentrasi 4% sampai hari ke-3.

Tabel 1. Zona hambat *Escherichia coli* (mm) setelah diuji daya hambat susu fermentasi berdasarkan perbedaan konsentrasi dan lama penyimpanan

Starter %	Lama penyimpanan (hari)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
3	10.30 ^d	11.15 ^d	11.78 ^d	11.38 ^d	7.58 ^c	6.16 ^c	4.28 ^b	0.40 ^a
4	11.69 ^c	12.10 ^c	13.62 ^c	13.02 ^c	8.55 ^b	7.23 ^b	7.11 ^b	2.57 ^a
5	13.26 ^d	17.42 ^f	15.45 ^e	15.99 ^{ef}	9.60 ^c	7.12 ^b	8.42 ^{bc}	2.47 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata

Penelitian yang dilakukan oleh Khikmah (2015) menggunakan susu fermentasi komersial diperoleh daya atibakteri sebesar 4.5 mm. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Nelintong *et al.* (2015) menunjukkan susu fermentasi dengan kombinasi bakteri asam laktat *L. Plantarum* dan *L. Casei* diperoleh daya hambat sebesar 12. 3 mm terhadap *E. Coli*. Hasil penelitian ini memperlihatkan susu fermentasi yang dihasilkan mempunyai nilai yang lebih tinggi dalam menghambat *E. Coli*

dibandingkan penelitian-penelitian sebelumnya.

Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat merupakan antimikroba yang penting dan mempunyai aktivitas tinggi (Suskovic *et al.*, 2010) serta mempunyai spektrum penghambatan yang luas (Rahayu, 2013). Asam laktat mampu merusak permeabilitas bakteri gram negatif dengan merusak membran luar bakteri gram negatif.

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 adalah lapisan lipopolisakarida (LPS) yang terletak pada permukaan membran dirusak oleh asam laktat. Dengan rusaknya membrane luar sel, maka senyawa antimikroba yang lain, diantaranya diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin akan masuk ke dalam membran sitoplasma merusak aktivitas intraseluler yang pada akhirnya dapat mematikan sel (Alakomi *et al.*, 2000).

Kemampuan Antibakteri Susu Fermentasi Terhadap *Shigella flexneri*

Hasil pengamatan, ditemukan adanya daya hambat susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan *Shigella flexneri*. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2. Secara statistik terlihat perlakuan konsentrasi starter yang ditambahkan dan lamanya penyimpanan yang dilakukan, tidak berpengaruh nyata pada daya hambat susu fermentasi terhadap *Shigella flexneri*.

Tabel 2. Zona hambat *Shigella flexneri* (mm) setelah diuji daya hambat susu fermentasi berdasarkan perbedaan konsentrasi dan lama penyimpanan

% Starter	Lama penyimpanan (hari)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
3	3.93	4.54	6.05	6.61	4.18	4.46	4.02	3.75
4	4.33	5.57	7.08	8.55	5.45	5.11	4.78	4.79
5	3.87	8.22	8.10	8.88	7.88	6.98	6.07	6.29

Secara statistik terlihat perlakuan konsentrasi starter yang ditambahkan dan lamanya penyimpanan yang dilakukan, tidak berpengaruh nyata terhadap kemampuan antibakteri susu fermentasi terhadap *S. flexneri*. Pada tabel 2, susu fermentasi dengan

konsentrasi starter 3%, zona hambat terbesar diperoleh hari ke-3. Konsentrasi 4%, zona hambat tertinggi juga diperoleh pada hari ke-3. Diduga proses fermentasi berjalan cukup baik, sehingga diperoleh konsentrasi starter yang paling baik digunakan dalam menghambat *S. flexneri* adalah fermentasi susu dengan starter 5% dan waktu penyimpanan hari ke-3 dengan zona hambatan sebesar terbentuk 8.88 mm.

Tadesse *et al.* (2005) dalam penelitiannya memperkenalkan "Borde" salah satu minuman fermentasi rendah alkohol, berasal dari Ethiopia dan mengandung sejumlah bakteri asam laktat. Minuman fermentasi ini dapat menghambat laju pertumbuhan dari *Staphylococcus aureus*, *S. flexneri* dan *Salmonella* spp. Hasil pengamatan yang dilakukan Tadesse *et al.* (2005) memperlihatkan pH yang dihasilkan dari minuman tersebut antara 4.28 sampai dengan 4.31. Pengamatan dilakukan pada *S. flexneri* dengan jumlah awal lebih besar dari log 2 CFU/ml pada 12 jam dan lebih besar dari log 5 CFU/ml pada 15 jam. Setelah diinokulasikan bakteri asam laktat, dilakukan pengamatan kembali setelah 24 jam, hasil yang didapatkan jumlah *S. flexneri* menjadi lebih kecil dari log 1.3 CFU/ml.

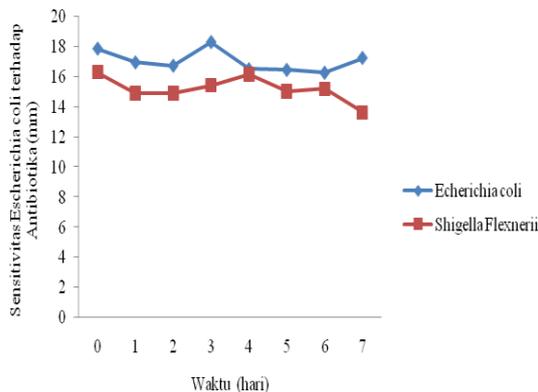
Sujaya *et. al* (2008) melaporkan hasil pengamatannya dari isolat bakteri asam laktat dari susu kuda Sumbawa menunjukkan daya hambat terhadap bakteri *Shigella flexnerii* sebesar 1.3 mm. Nilai ini lebih kecil dibandingkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada susu fermentasi. Proses fermentasi menaikkan jumlah total asam laktat, bakteri ini selain menghasilkan asam laktat, gula dan rasa, juga menghasilkan metabolit sekunder, yang umumnya bersifat antimikroba. Misalnya *nisin* dan *lactisin* yang dapat membunuh bakteri patogen seperti *Shigella*, *Salmonella*, dan *Clostridium* (Murti 1997).

Kontrol Tetrasiklin terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella Flexneri*

Tingkat kepekaan bakteri golongan *Enterobacteriaceae* (*S. flexneri* dan *E.coli*) yang digunakan dalam penelitian ini terhadap

Tetrasiklin, dengan menggunakan cakram 30 µg, tersaji pada Gambar 3.

Terlihat dari ke 2 jenis mikroba yang digunakan mempunyai kepekaan tinggi terhadap tetrasiklin. Kedua bakteri menunjukkan angka sensitivitas di atas 14 mm. Pada *E. coli* menunjukkan nilai yang lebih peka terhadap tetrasiklin dibandingkan *S. flexneri*. Hal ini membuktikan isolat bakteri yang digunakan belum resisten terhadap tetrasiklin dan masih cukup baik digunakan dalam penelitian.



Gambar 3. Kontrol tetrasiklin terhadap *Escherichia coli* dan *Shiigella Flexneri*

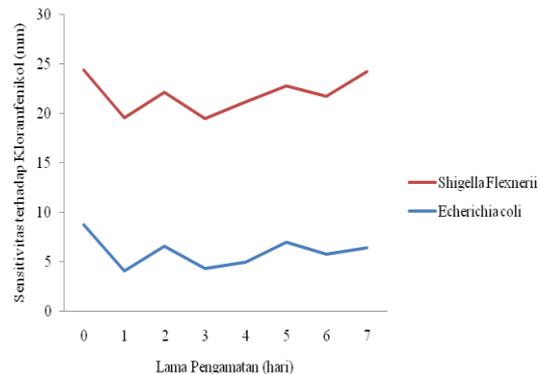
Isolasi yang dilakukan terhadap penderita *E.coli* pada tahun 1995, 1998 dan 1999 di Amerika, menunjukkan hasil 28-31% penderita telah resisten terhadap berbagai macam antibiotika (ampicilin, kloramfenikol, streptomycin, sulfonamide dan tetrasiklin) (Kaiser 2005).

Sebanyak 232 strain yang diisolasi di wilayah Leningrad memperlihatkan 95% resisten terhadap berbagai jenis antibiotika, 94% resisten terhadap streptomisin dan 91.8% terhadap tetrasiklin. Penemuan di Ethiopia mengindikasikan 84% dari *Shigella* tipe 1 dan 65% *Shigella* tipe 3 telah resisten terhadap 5 jenis antibiotika antara lain: ampisilin, kloramfenikol, streptomisin, sulfadiozon dan tetrasiklin (Romain *et al.* 2000). Chu *et al.* (1998) menyatakan resistensi terhadap 4 µg/ml tetrasiklin pada *S. flexneri* yang diisolasi dari 100 pasien di Hong Kong pada tahun 1995 mencapai 96.8%.

Kontrol Kloramfenikol terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella Flexneri*

Sejalan dengan perkembangan dan penggunaan antibiotika, Naim (2003) menyatakan saat ini resistensi menjadi masalah kesehatan utama sedunia. Munculnya mikroorganisme resisten tidak hanya mikroba sebagai target antibiotik tersebut, tetapi juga mikroorganisme lain yang memiliki habitat sama dengan mikroorganisme target. Hal ini dimungkinkan karena adanya transfer materi genetik diantara genus bakteri yang berbeda yang masih memiliki hubungan dekat, yakni *Escherichia coli* dan *Salmonella*.

Berikut adalah tingkat kepekaan dari kedua spesies bakteri dari golongan *Enterobacteriaceae* yang digunakan dalam penelitian ini terhadap kloramfenikol dengan menggunakan cakram 30 µg. Gambar hasil pengamatan tersaji pada Gambar 4.



Gambar 4. Kontrol kloramfenikol terhadap *Escherichia coli* dan *Shiigella Flexneri*

Terlihat kepekaan kloramfenikol yang digunakan dalam penelitian ini masih tinggi terhadap *Shigella*, sedangkan pada *E. Coli* kepekaan menurun. Hal ini kemungkinan besar disebabkan bakteri telah resisten terhadap kloramfenikol.

Antibiotika kloramfenikol masih dipakai sebagai obat standar, dibandingkan antibiotik lainnya dalam kemampuannya membunuh kuman. Untuk strain kuman yang sensitif terhadap kloramfenikol, antibiotika ini memberikan efek klinis paling baik dibandingkan obat lain, tetapi kloramfenikol mempunyai efek toksik terhadap sumsum tulang (Karsinah *et al.* 1994).

Food Drug Administration (FDA) pada tahun 1995 menemukan dari masyarakat sekitar Gunung Krakatau yang terkena *E. coli*, telah resisten terhadap berbagai jenis antibiotik, antara lain sulphonamid, ampisilin, kloramfenikol dan cephalotin, hal yang sama juga ditemukan pada anak-anak di India penderita diare yang disebabkan *E. coli*.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa susu fermentasi dapat menghambat laju pertumbuhan *Enterobacteriaceae*. Terlihat bahwa fermentasi susu oleh *Lactobacillus plantarum* mempunyai daya hambat tertinggi terhadap *Escherichia coli* sebesar 17.42 mm dan *Shigella flexneri* sebesar 8.88 mm. Dianjurkan menggunakan susu fermentasi pada konsentrasi 5% dan penyimpanan dalam suhu ruang sampai dengan hari ke-3.

DAFTAR PUSTAKA

- Alakomi, H.L., Skytta, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., Helander, I.M., 2000. Lactic acid permeabilizes Gram-Negative bacteria by disrupting outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (5) : 2001-2005.
- Brooks, G.F., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw Hill, New York.
- Chu, Y. W., Houang, E. T., Lyon, D. J., Ling, J. M., Ng, T. K., Cheng, A. F., 1998. Antimicrobial resistance in *Shigella flexneri* and *Shigella sonnei* in Hong Kong, 1986 to 1995. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(2), 440-443.
- [FDA] Food Drug Association. 1995. *E.coli* antibiotic resistotypes. http://www.fda.gov/fdac/features/795_antibio.html [3 Nov 2016].
- Hanum, Z., 2010. Kemampuan susu fermentasi *Lactobacillus plantarum* menghambat *Salmonella typhimurium* secara in vitro. *Jurnal Agripet*, 10(2), 34-39.
- Kaiser, G.E. 2005. *Escherichia coli*. <http://www.vetmed.wisc.edu/pbs/zoonoses/O157DT104> [6 Feb 2017].
- Khikmah, N. 2015. Uji antibakteri susu fermentasi komersial pada bakteri patogen. *Jurnal Penelitian Saintek*, 20 (1): 45-53.
- Karsinah, Lucky, H.M., Suharto., Mardiasuti, H.W. 1994. Batang Negatif Gram, Ed revisi. Di dalam: Staf Pengajar FKUI, Mikrobiologi kedokteran. Jakarta: UI-Pr.
- Mattik, A.A., Sumertajaya IM. 2002. Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab Jilid 1. Statistik. Percetakan Jurusan Statistik F Mipa IPB. IPB Press. Bogor.
- Murti, T.W. 1997. Cocok untuk segala usia. <http://www.indomedia.com/intisari> [3 Nov 2016].
- Naim, R. 2003. Cara kerja dan mekanisme resistensi antibiotik. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0312/11/ilpeng> [3 Nov 2016].
- Nelintong, N., Isnaeni., Nasution, N.E., 2015. Aktivitas antibakteri susu probiotik *Lactobacilli* terhadap bakteri penyebab diare (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Vibrio cholerae*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2 (1): 25-30
- Nousiainen, J., Setälä, J., 1998. Lactic acid bacteria as animal probiotics. Di dalam: Salminen, Wright, editor. *Lactic Acid Bacteria*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Rahayu, E.S., Yogeswara, A., Mariyatun, Haryono, P., Utami, I.S., Utami, T., Nurfi ani, S and Cahyanto, M.N., 2013. Bakteri asam laktat indigenous berpotensi probiotik dan aplikasinya untuk produksi susu fermentasi. *Prosiding Seminar Intensif Riset Sinas*, Jakarta: 149-159.

- Romai, B., Worku, S., Shiferaw, T., Mariam, Nina., 2000. Antimicrobial susceptibility pattern of *Shigella* isolated in Awassa. *Ethi J Health Dev.* 14(2):149-154.
- Setiabudy, R., Gan, V.H., 2007. Pengantar Anti Mikroba. Dalam: *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Gaya Baru, Jakarta. Hal 571-578.
- Sujaya, N., Ramona, Y., Widarini, N.P., Suariani, N.P., Dwiayanti, N.M.U., Nociantri, K.A., Nuraini, N.W., 2008. *Jurnal Veteriner.* 2(9): 52-59.
- Suskovic, J., Kos, B., Beganovic, J., Pavunc, A.L., Habjanic, K., Matosic, S., 2010. Antimicrobial activity-the most important property of probiotic and stater lactic acid bacteria. *food technology biotechnology*, 48 (3): 296-307.
- Tadesse, G., Ashenafi, M., Ephraim, E., 2005. Survival *E. coli* O₁₅₇:H₇ *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri* and *Salmonella* spp in fermenting 'Borde' a traditional Ethiopian beverage. *J Food Control.* 16:189-196.
- Wanniatie, V., Hanum, Z., 2015. Kualitas susu pasteurisasi komersil. *Agripet.* Vol 15 (2): 92-97