

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81 IN VIVO PADA TIKUS DENGAN PAKAN LEMAK TINGGI

Oleh

Komang Ayu Nocianitri¹⁾, I Nengah Sujaya²⁾, Yan Ramona³⁾

- 1). PS. Ilmu dan Teknologi Pangan, Fak. Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Badung. Telp./Fax. 0361 701801, nocianitri68@yahoo.com
- 2). PS. Ilmu Kesehatan Masyaakat, Fak. Kedokteran, Universitas Udayana
- 3).PS. Biologi, Fak. MIPA, Universitas Udayana

ABSTRAK

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang apabila diberikan pada jumlah yang tepat dapat bermanfaat bagi kesehatan saluran pencernaan. *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81 merupakan kandidat probiotik isolat feses bayi yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan secara *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari probiotik isolat feses bayi secara *in vivo* pada tikus putih dengan pakan lemak tinggi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan 4 perlakuan yaitu: Pakan standar; Pakan lemak tinggi; Pakan lemak tinggi dan probiotik *Lactobacillus sp.* FBB60; Pakan lemak tinggi dan probiotik *Lactobacillus sp.* FBB81. Penelitian ini menggunakan tikus putih strain *Wistar* dengan berat kurang lebih 80 g. Setiap perlakuan terdiri dari 6 ekor tikus yang masing-masing diberikan pakan sesuai perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan pH dan total BAL pada sekum. Perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB60 dengan pakan lemak tinggi dapat menurunkan kadar MDA 2,66% pada hati dan 2,70% pada serum, sedangkan perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB81 menurunkan kadar MDA 8,81% pada hati dan 9,46% pada serum. Aktivitas enzim GPx meningkat 13,17% dengan pemberian *Lactobacillus sp.* FBB60 dan 24,67% pada *Lactobacillus sp.* FBB81. Hasil ini menandakan bahwa kedua isolat mempunyai aktivitas sebagai antioksidan *in vivo* dengan menghambat peroksidasi lipid.

Kata kunci: *probiotik, antioksidan*

PENDAHULUAN

Dewasa ini pangan fungsional berkembang dengan pesat, dimana pangan yang dikonsumsi diharapkan tidak hanya dapat memenuhi kebutuhan zat nutrisi, tetapi juga dapat menstimulasi salah satu fungsi khusus dalam kesehatan individu. Bakteri asam laktat (BAL) telah banyak dimanfaatkan oleh industri pangan dalam menciptakan produk pangan fungsional untuk memelihara kesehatan saluran pencernaan manusia, yang dikenal dengan istilah probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang apabila diberikan pada jumlah yang tepat dapat bermanfaat bagi kesehatan saluran pencernaan (FAO. 2002).

Probiotik telah diketahui memberikan dampak menyehatkan pada individu karena dapat meningkatkan keseimbangan mikroba yang menguntungkan dalam saluran pencernaan (Fuller, 1989). Beberapa dampak menyehatkan dari probiotik antara lain: penanggulangan diare (Pant *et al.*, 2007; Collado *et al.*, 2009), menstimulasi sistem kekebalan tubuh (Isolauri dan Salminen, 2008), mencegah kanker kolon dan usus (Pato, 2003; Liong, 2008), penanggulangan dermatitis atopik pada anak-anak (Betsi *et al.*, 2008; Torii *et al.*, 2010), menurunkan kadar kolesterol darah

(Kumar *et al.*, 2012), dan sebagai antioksidan (Sekhon, 2010; Kim, 2006ab; Gao, 2011, Chu-Chyn *et al.*, 2009).

Antioksidan merupakan senyawa yang diperlukan oleh tubuh untuk melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Radikal bebas dapat merusak makromolekul seperti merusak lipid membran sel, DNA, protein dan menyebabkan stres oksidatif sel (Valko *et al*, 2006). Didalam tubuh terdapat sistem antioksidan untuk melawan radikal bebas secara endogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh yang terdiri atas enzim-enzim superokksida dismutase (SOD), glutation peroksidase (GPx) atau glutation reduktase (GR) serta enzim katalase (CAT) dan antioksidan non enzimatik seperti glutation (GSH), transferin, asam urat dan lain lain. Peningkatan radikal bebas melebihi antioksidan endogen dalam tubuh dapat menimbulkan stres oksidatif. Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan akan terganggu apabila keseimbangan mikroflora usus terganggu. Salah satu cara untuk menjaga keseimbangan mikroflora usus untuk mencegah terjadinya stress oksidatif adalah dengan konsumsi probiotik. Mikroorganisme memiliki sistem antioksidan untuk menjaga tingkat radikal bebas yang tidak beracun bagi sel. Aktivitas antioksidan dari mikroorganisme merupakan salah satu cara untuk meningkatkan ketahanan terhadap spesies oksigen reaktif (ROS).

Bakteri asam laktat (BAL) banyak dipergunakan sebagai probiotik. Disisi lain, probiotik yang beredar di Indonesia pada saat ini kebanyakan dari strain yang bukan asli Indonseia (import). Hal ini memacu penelitian untuk menggali potensi BAL dari sumber alam Indonesia untuk meningkatkan derajat kesehatan penduduk Indonesia. Sifat fungsional dari mikroba probiotik bersifat spesifik strain, dimana setiap strain probiotik mempunyai sifat fungsional yang berbeda. *Lactobacillus* sp. FBB60 dan *Lactobacillus* sp. FBB81 merupakan bakteri asam laktat yang telah diisolasi dari feses bayi mempunyai potensi sebagai probiotik isolat lokal, dan mempunyai sifat fungsional sebagai antioksidan *in vitro*, akan tetapi sifat-sifat fungsional (aktivitas antioksidan) dari probiotik tersebut perlu dieksplorasi lebih jauh, sehingga dapat dipergunakan untuk pengembangan pangan fungsional. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari probiotik isolat feses bayi secara *in vivo* pada tikus putih dengan pakan lemak tinggi.

METODE

1.1. Subjek penelitian

Penelitian ini menggunakan isolat probiotik *Lactobacillus* sp. FBB60 dan *Lactobacillus* sp. FBB81 koleksi dari UPT Lab. Terpadu Biosain dan Bioteknologi Unud. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan 3 perlakuan yaitu: Pakan standar; PL: Pakan lemak tinggi; PL-FBB60 : Pakan lemak tinggi dan probiotik *Lactobacillus* sp. FBB60; PL-FBB81 : Pakan lemak tinggi dan probiotik *Lactobacillus* sp. FBB81. Penelitian ini menggunakan tikus putih strain *Wistar* dengan berat kurang lebih 80 g. Setiap perlakuan terdiri dari 6 ekor tikus yang masing-masing diberikan pakan sesuai perlakuan. Pada masa aklimatisasi tikus diberikan

pakan standar selama 1 minggu, dilanjutkan dengan pemberian pakan lemak tinggi dan perlakuan probiotik selama 4 minggu. Komposisi pakan standar dan pakan lemak tinggi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Pakan (g/kg) AOAC, 1990

Komponen	Pakan standar ⁽¹⁾	Pakan tinggi lemak
Kasein	100	100
Minyak jagung	80	-
Lemak Babi	-	100
Campuran Mineral	50	50
Campura vitamin	10	10
Selulosa (CMC)	10	10
Air	50	50
Pati jagung	700	680

Kandidat probiotik diambil sebanyak satu loop ose dan diinokulasikan kedalam 5 ml media MRS broth. Tabung reaksi diinkubasi aerob selama 24 jam pada suhu 37°C. Biakan yang telah tumbuh pada 5ml media MRS Broth divortex (untuk mendapatkan biakan yang homogen), kemudian diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam eppendorf dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan massa sel dan supernatan. Kemudian supernatan dibuang dan massa sel yang diperoleh dicuci sebanyak 2 kali dengan larutan salin (NaCl 0,85%) untuk menghilangkan sisa-sisa media. Pencucian dilakukan dengan menambahkan 1ml salin pada massa sel, divortex hingga homogen, disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Pada tahap akhir, massa sel disuspensi dengan salin sehingga didapatkan konsentrasi suspensi $\pm 10^9$ sel/ml

Suspensi bakteri probiotik yang diperoleh diberikan pada tikus putih dengan metode *oral gavage* yaitu dengan cara memberikan suspensi sebanyak 0,5 ml pada tikus putih sesuai perlakuan dengan menggunakan sonde. Sebagai kontrol tikus putih lainnya diberikan salin. Perlakuan ini diberikan sekali dalam sehari selama 4 minggu (pada jam 12.00-13.00 WITA), setelah pemberian makan pada tikus putih. Berat badan tikus ditimbang setiap hari selama pemberian perlakuan.

Pengambilan sampel dilakukan setelah 3 minggu perlakuan. Tikus dimatikan dengan dibius menggunakan kloroform 10%, lalu abdomen tikus dibedah, organ hati dan sekum diambil untuk dinalisis selanjutnya. Organ hati terlebih dahulu dicuci dengan larutan fisiologis salin. Sebanyak 10% jaringan hati dalam larutan fisiologis dihancurkan pada *glass homogenizer* dingin, kemudian homogenate disentrifuse pada suhu 4°C dengan kecepatan 4000 x g selama 15 menit. Supernatan disimpan pada suhu -80°C sampai siap untuk dianalisis.

Variabel yang diamati

Variabel yang diamati pada penelitian ini meliputi: total bakteri asam laktat dan pH sekum tikus putih; aktivitas antioksidan meliputi kadar MDA (malondialdehid) pada hati dan serum dan aktivitas enzim-antioksidan (SOD, Gluthation Peroksidase) pada hati.

1. Total Bakteri asam laktat pada sekum tikus

Isi sekum dikeluarkan dan ditampung dalam tabung steril yang berisi larutan saline (NaCl 0,85%) 9 ml (pengenceran 10^{-1}) dan dihomogenkan. Selanjutnya 0,1 ml suspensi isi sekum dimasukkan ke dalam tabung pengencer yang berisi 0,9 ml salin, sehingga didapat pengenceran 10^{-2} , divortex hingga homogen kemudian diencerkan lebih lanjut sampai pengenceran 10^{-6} . Penghitungan total populasi BAL dilakukan dengan mengambil 0,1ml sampel yang telah diencerkan (pengenceran 10^{-3} - 10^{-6}) disebar pada permukaan media MRS Agar yang telah ditambah *Bromo Cresol Purple* (BCP), kemudian diinkubasi secara anaerob selama 24 jam pada suhu 37°C dengan menggunakan *Anaerobic gas pouch* dalam *anaerobic chamber*. Koloni bakteri yang tumbuh dihitung menggunakan metode pengenceran dengan asumsi bahwa satu koloni yang tumbuh berasal dari satu sel. Total populasi bakteri didapatkan dengan mengalikan jumlah koloni yang tumbuh dengan faktor pengenceran (Fardiaz, 1993).

2. Pengukuran pH pada sekum

Isi sekum diukur pHnya menggunakan pH meter (TOA ion meter IM 40S) yang sebelumnya telah dikalibrasi dengan buffer pH 4 dan pH 7. Isi sekum yang telah diencerkan sebanyak 1 kali (1:1), kemudian dihomogenkan dengan divortex. Selanjutnya pH isi sekum diukur dengan mencelupkan elektroda pH meter ke dalam sampel dan hasilnya dicatat.

3. Analisis Kadar MDA pada serum dan Hati Tikus (nmol/mg)

Preparasi sampel dari organ hati dilakukan mengikuti Tokur *et al.* (2006). Sebanyak 0,5 ml supernatan hati atau serum ditambah 2,0 ml HCl dingin (0,25 N) yang mengandung 15% TCA, 0,38% TBA dan 0,5% BHT. Campuran dipanaskan 80°C selama satu jam. Setelah dingin, campuran disentrifus pada 3500 rpm selama 10 menit. Absorbansi supernatan diukur pada 532 nm. Sebagai larutan standar digunakan tetraetoksipropana (TEP).

4. Aktivitas enzim GPx

Aktivitas enzim Glutation Peroksida (GPx) diukur dengan menggunakan Glutathione Peroxidase Activity Colorimetric Assay Kit (BioVision) dan cara kerjanya mengikuti prosedur yang terdapat pada Kit yang dipergunakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari probiotik isolat feses bayi (*Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81) secara *in vivo* pada tikus putih dengan pakan lemak tinggi didahului dengan uji konfirmasi terhadap isolat *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81 Hasil uji konfirmasi dapat dilihat pada Tabel 2.

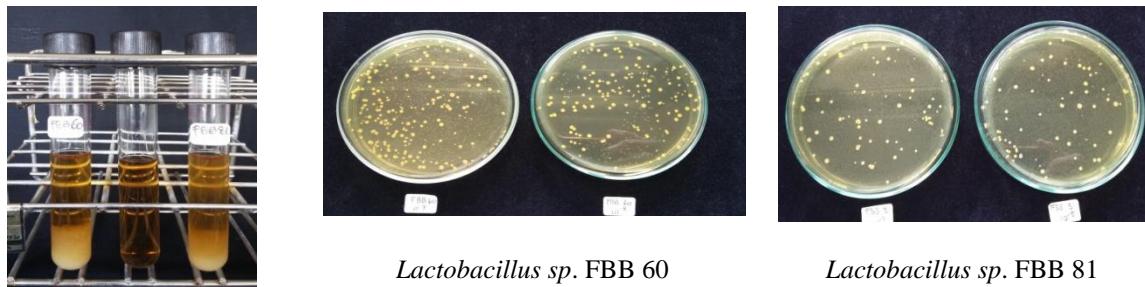
Tabel 2. Uji konfirmasi terhadap isolat *Lactobacillus sp.* FBB60 dan FBB81

Isolat	Cat Gram	Katalase	Gas	Morfologi
<i>Lactobacillus sp.</i> FBB 60	+	-	-	batang
<i>Lactobacillus sp.</i> FBB 81	+	-	-	batang

Populasi isolat *Lactobacillus sp.* FBB 60 dan *Lactobacillus sp.* FBB 81 pada Nilai optical density (OD) tertentu dapat dilihat pada Tabel 3. Tikus percobaan diberikan perlakuan probiotik sebesar 10^9 sel/ml per ekor tikus per hari selama 4 minggu.

Tabel 3. Nilai OD dan populasi dari *Lactobacillus sp.* FBB 60 dan FBB 81

Isolat	Nilai optical density (OD)	Populasi
<i>Lactobacillus sp.</i> FBB60	2,514	$3,03 \times 10^{10}$ cfu/ml
<i>Lactobacillus sp.</i> FBB81	2,629	$2,74 \times 10^{10}$ cfu/ml



Gambar 1. Isolat *Lactobacillus sp.* FBB 60 dan *Lactobacillus sp.* FBB 81 dalam MRS broth dan MRS agar.

Tikus putih yang digunakan pada penelitian ini mempunyai berat awal rata-rata untuk perlakuan pakan standar 89,4 g, pakan tinggi lemak 88,2 g, pakan tinggi dan *Lactobacillus sp.* FBB 60 sebesar 96,9 g dan pakan tinggi dan *Lactobacillus sp.* FBB 81 sebesar 94,6 g. Setelah pemberian probiotik selama 4 minggu, rata-rata konsumsi pakan per hari, total konsumsi pakan, dan penambahan berat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata berat akhir dan penambahan berat tikus dengan perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB 81 dengan pakan lemak tinggi.

Perlakuan	Berat akhir tikus (g)	Pertambahan berat tikus (g)
PS	125,2	31,0
PL	88,7	0,5
PL-FBB60	101,1	4,1
PL-FBB81	93,3	3,6

Total bakteri asam laktat dan pH sekum dengan perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81 dengan pakan lemak tinggi dapat dilihat pada Tabel 5. Rata-rata nilai pH untuk keempat perlakuan tidak berbeda yaitu dari 6,65 sampai dengan 6,72. Perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81 tidak dapat menurunkan pH sekum, Total bakteri asam laktat turun dengan perlakuan pakan lemak tinggi. Perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB60 sedikit meningkatkan total bakteri asam laktat.

Tabel 5. Total bakteri asam dan pH sekum dengan perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB 60 dan *Lactobacillus sp.* FBB 81 dengan pakan lemak tinggi

Perlakuan	pH	Total Bakteri Asam laktat (cfu/g) sekum
PS	6,65 ± 0,05	6,16 x 10 ⁷
PL	6,71 ± 0,05	5,56 x 10 ⁷
PL-FBB60	6,72 ± 0,08	7,68 x 10 ⁷
PL-FBB81	6,72 ± 0,03	5,15 x 10 ⁷

Malondialdehida merupakan salah satu produk akhir dari peroksidasi lipid terutama asam lemak tidak jenuh yang dapat dihasilkan melalui oksidasi oleh radikal bebas dan digunakan sebagai indikator aktivitas radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan konsentrasi MDA membuktikan adanya reaksi peroksidasi lipida pada tubuh. Lipid peroksid dapat meningkatkan permeabilitas membran dan menganggu distribusi ion-ion yang mengakibatkan kerusakan fungsi sel dan organela (Devlin, 2002).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81 dapat menurunkan kadar MDA pada hati dan serum serta meningkatkan aktivitas enzim GPx pada hati tikus (Tabel 6). Dibandingkan dengan pemberian pakan standar (SD), pemberian pakan lemak tinggi (HF) meningkatkan kadar MDA 14,40% pada hati dan 28,70% pada serum. Perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB60 dengan pakan lemak tinggi dapat menurunkan kadar MDA 2,66% pada hati dan 2,70% pada serum, sedangkan perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB81 menurunkan kadar MDA 8,81% pada hati dan 9,46% pada serum. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian yoghurt yang mengandung probiotik *L.acidophilus* La5 and *Bifidobacterium lactis* Bb12 pada pasien diabetes tipe 2 secara nyata dapat menurunkan MDA pada serum (Ejtahed *et al.*, 2012). Zhang *et al.*, (2010) juga melaporkan bahwa pemberian *L. casei* Zhang pada tikus dengan pakan tinggi lemak dapat menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktivitas enzim SOD dan GPx pada hati dan serum.

Tabel 6. Kadar MDA pada hati dan serum dan aktivitas enzim GPx pada hati tikus dengan perlakuan *Lactobacillus sp.* FBB 60 dan *Lactobacillus sp.* FBB 81 dengan pakan lemak tinggi

Perlakuan	MDA hati (nmol/g hati)	MDA serum (nmol/ml)	Aktivitas enzim GPx (U/g hati)
PS	7,09 ± 0,75	3,19 ± 0,58	2,09 ± 0,51
PL	8,11 ± 1,20	4,11 ± 0,80	1,50 ± 1,00
PL-FBB60	7,89 ± 2,11	4,00 ± 0,93	1,72 ± 0,63
PL-FBB81	7,39 ± 1,03	3,72 ± 1,04	1,98 ± 0,71

Enzim GPx termasuk enzim antioksidan intrasel yang diproduksi dalam tubuh yang berperan penting yang berfungsi menangkal radikal bebas sehingga dapat mencegah peroksidasi lipid. Aktivitas enzim GPx lebih rendah 28,32% pada perlakuan lemak tinggi dibandingkan dengan perlakuan pakan standar. Pemberian *Lactobacillus sp.* FBB60 meningkatkan aktivitas enzim GPx 13,17% dan meningkat 24,67% pada *Lactobacillus sp.* FBB81. Peningkatan aktivitas enzim GPx dengan pemberian *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81 disebabkan karena penggunaan enzim GPx untuk menangkal radikal bebas lebih sedikit pada perlakuan PL-FBB60 dan PL-FBB81 dibandingkan dengan kontrol (PL). Hal ini didukung oleh data kadar MDA pada hati dan serum yang lebih rendah dengan pemberian *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *Lactobacillus sp.* FBB60 dan *Lactobacillus sp.* FBB81 mempunyai sifat fungsional sebagai antioksidan dan aktivitas antioksidan dari *Lactobacillus sp.* FBB81 lebih baik dibandingkan dengan *Lactobacillus sp.* FBB60.

DAFTAR PUSTAKA

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. *Official methods of analysis*. AOAC, Inc. Virginia.
- Betsi, G. I., Papadavid, E., and Falagas, M.E. 2008. Probiotics for the Treatment or Prevention of Atopic Dermatitis: A Review of the Evidence From Randomized Controlled Trials. *Am. J. Clin. Dermatol.*: 9 (2); 93 - 103.
- Chu-Chyn, O., Tsong-Ming, L., Jaw- Ji, T., Jyh-Herng, Y., Haw -Wen, C., and Meei-Yn, L. 2009. Antioxidative Effect of Lactic Acid Bacteria: Intact Cells vs. Intracellular Extracts. *J. of Food and Drug Analysis*. 17 (3); 209-216
- Collado, M. C., Isolauri, E., Salmien ,S., and Sanz , Y. 2009. The impact of probiotic on gut health. *Curr. Drug Metabolism*. 10 (1); 68-78.
- Devlin, M.T. 2002. Bioenergetics and oxidative metabolism In: *Biochemistry with clinical correlations*. 5th ed. Wiley-liss, Canada. 590-592

Ejtahed, H.S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., and Mofid, V. 2012. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*. 28(5); 539-43.

Food and Agriculture Organization /World Health Organization (FAO/WHO). 2002. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London.

Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Fuller, R. 1989. A Review: Probiotic in Man and Animals. *Journal of Appl. Bacteriology*. 66; 365-378.

Gao, D., Zhu, G., Gao, Z., Liu, Z., Wang, L., and Guo, W. 2011. Antioxidative and hypolipidemic effect of lactic acid bacteria from pickled Chinese cabbage. *J. of Medicinal Plant Research*. 5(8); 1439-1446.

Isolauri, E. and Salminen .S. 2008. Probiotics: Use in Allergic Disorders: a Nutrition, Allergy, Mucosal Immunology, and Intestinal Microbiota (NAMI) Research Group Report. *J. Clin. Gastroenterol.* 42 (2); 91 – 96.

Kim, H.S., Chae, H.S., Jeong, S.G., Ham, J.S., Im, S.K., Ahn, C.N., and Lee, J.M. 2006b. In vitro antioxidative properties of *lactobacilli*. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19 (2); 262-265.

Kim, H.S., Jeong, S.G., Ham, J.S., Chae, H.S., Lee, J.M., and Ahn, C.N., 2006a. Antioxidative and probiotic properties of *Lactobacillus gasseri* NLRI-312 isolated from Korean infant feces. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19; 1335-1341.

Kullisaar, T., Zilmer, M., Mikelsaar ,M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C., and Kilk, A. 2002. Two antioxidative *Lactobacilli* strains as promising probiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 72; 215-224.

Kumar, M., Nagpal, R., Kumar, Hemalatha, R., Verma,V., Kumar, A., Chakraborty, C., Singh, B., Marotta, F., Jain, S., and Yadav, H. 2012. Review Article: Cholesterol-Lowering Probiotics as Potential Biotherapeutics for Metabolic Diseases. *Experimental Diabetes Research*. Article ID 902917, doi:10.1155/2012/902917.

Liong, M.T. 2008. Roles of Probiotics and Prebiotics in Colon Cancer Prevention: Postulated Mechanisms and In-vivo Evidence. *Int. J. Mol. Sci.* 9(5); 854-863.

Pant. N., Marcotte, H., Brussow, H., Svensson, L., and Hammarstrom, L. 2007. Effective Prophylaxis Against Rotavirus Diarrhea Using a Combination of *Lactobacillus rhamnosus* GG and Antibodies. *BMC Microbiol.* 7 (86); 2180 – 2187.

Pato, U. 2003. Potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari dadih untuk menurunkan resiko penyakit kanker. *Jurnal Natur Indonesia*. 5(2); 162-166.

- Sekhon, B.S., and Jairath, S. 2010. Prebiotics, probiotics, and synbiotics: an overview. *J. Pharm. Educ. Res.* 1 (2); 13-36
- Tokur, B., Korkmaz, K., and Ayas, D. 2006. Comparison of Two Thiobarbituric Acid (TBA) Method for Monitoring Lipid Oxidation in Fish, *J. Fisheries and Aquatic Sci.* 23; 331-34.
- Torii, S., Torii, A., Itoh, K., Urisu, A., Terada, A., Fujisawa, T., Yamada, K., Suzuki, H., Ishida, Y., Nakamura, F., Kanzato, H., Sawada, D., Nonaka, A., Hatanaka, M., and Fujiwara, S. 2010. Effects of Oral Administration of *Lactobacillus acidophilus* L-92 on the Symptoms and Serum Markers of Atopic Dermatitis in Children. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 154(3); 236-245.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., and Izakovic, M. 2006, Free radical, metals and antioxidant in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*. 160; 1-40.
- Zhang, Y., Du, R., Wang, L., and Zhang, H. 2010. The antioxidative effects of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang on the hyperlipidemic rats. *Eur. Food Res. Technol.* 231; 151–158.