

EFFECTIVENESS OF LACTIC ACID BACTERIA AS A BARRIER TO GROWTH OF *ESCHERICHIA COLI* O157:H7, *SALMONELLA SP.* AND *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* ISOLATED FROM ANIMAL PRODUCTS

¹Yuherman, ¹Aulia Rahmi, ²Lili Warly, ³Rozila Alias, ⁴Son Radu and ⁵Mitsuaki Nishibuchi

¹Department of Livestock Production, ²Department of Nutrition and Forage, Faculty of Animal Science, Andalas University, Indonesia, ³Institute of Bio-IT Selangor Universiti Selangor, Malaysia, ⁴Center of Excellence for Food Safety Research, Universiti Putra Malaysia, Malaysia, ⁵Center for Southeast Asian Studies, Kyoto University, Japan.

Abstract

Lactic acid bacteria belonging to the good bacteria to humans or meet GRAS status (Generally Recognized As Safe) microorganisms that are not a health risk even useful for health. Naturally, lactic acid bacteria can be found in livestock foodstuffs and other foodstuffs, such as milk and meat are used as food. Lactic acid bacteria belonging to the gram-positive bacteria are actively damaging lipopolysaccharide from the outer membrane of gram-negative bacterial cells. Gram-negative bacteria are often found in contaminated animal products is *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella sp.* and *Vibrio parahaemolyticus* resulting slimy foods and lower shelf, foul-smelling, bad taste, and cause health problems if consumed by humans. Lactic acid bacteria will produce organic acids, such as lactic acid, acetic acid, diacetyl, besides asetildehyd, bacteriocins and hydrogen peroxide that can be bactericidal or bacteriostatic effect of carbohydrate fermentation. Some lactic acid bacteria derived from livestock food is *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* contained in fermented milk and *Lactobacillus plantarum* contained in processed meat products fermented. Efforts to utilize lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus plantarum* to inhibit the growth of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella sp* and *Vibrio parahaemolyticus* is expected to be a natural preservative for the people and the food processing industry. The research objective was to determine the effectiveness of the lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus plantarum* to inhibit the growth of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella sp* and *Vibrio parahaemolyticus* isolated from animal products. The analysis showed that there was significant interaction ($P > 0.05$) between lactic acid bacteria *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* with bacterial pathogens *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella sp* and *Vibrio parahaemolyticus* to the resulting clear zone, while the pH value does not occur significant interaction ($P > .05$). Provision of *Bifidobacterium bifidum* concentrations up to 6% and up to 36 hours of contact time was not a significant effect ($P > 0.05$) on the growth of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella sp*, but had a significant effect ($P < 0.05$) on the growth of the bacteria *Vibrio parahaemolyticus*. From these results it can be concluded that the lactic acid bacteria *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* is able to provide power resistor is marked with a diameter of clear zone and a decrease in the pH value on the growth of pathogenic bacteria *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella sp* and *Vibrio parahaemolyticus*. Provision of *Bifidobacterium bifidum* concentrations up to 6% and contact time up to 36 hours have not been able to kill the bacteria *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella sp*, but was able to inhibit the growth of bacteria *Vibrio parahaemolyticus*. Guided by the results of this study suggested further research is necessary to use the maximum concentration of *Bifidobacterium bifidum* in inhibiting the growth of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella sp*.

Key words : Effectiveness, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus*, Lactic acid bacteria, barrier.

I. INTRODUCTION

Pangan merupakan kebutuhan yang paling mendasar bagi kehidupan manusia, sehingga perlu diperhatikan kualitas dan kuantitasnya. Perhatian terhadap ketersediaan pangan dapat diimplementasikan melalui program ketahanan pangan, agar masyarakat memperoleh pangan dalam jumlah yang cukup, aman, bergizi, sehat, dan halal untuk dikonsumsi. Bahan pangan asal ternak merupakan sumber zat gizi utama untuk pertumbuhan dan penunjang hidup pokok manusia karena mengandung zat gizi yang tinggi, seperti protein, karbohidrat, lemak, air, vitamin dan kandungan gizi lainnya.

Tingginya kandungan zat gizi pada produk pangan asal ternak merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme. Apabila produk pangan tersebut tidak dijaga dengan baik dapat mengakibatkan terjadinya kontaminasi pada makanan tersebut. Kontaminasi makanan asal ternak dapat berasal saat ternak masih hidup dan selanjutnya mikroorganisme masuk dalam rantai makanan. Kontaminasi silang juga dapat terjadi pada makanan melalui hubungan langsung dengan alat atau perkakas yang digunakan saat penyajian makanan yang sebelumnya telah terkontaminasi oleh mikroba patogen.

Kontaminasi akibat mikroba patogen yang melebihi ambang batas akan menurunkan mutu dan keamanan pangan, yang menyebabkan makanan menjadi berlendir, berjamur, penurunan daya simpan, berbau busuk, rasa tidak enak dan menyebabkan gangguan kesehatan bila dikonsumsi manusia. Oleh karena itu, peningkatan keamanan pangan asal ternak mutlak diperlukan untuk mencegah peningkatan prevalensi *foodborne pathogens* selama mata rantai penyiapan makanan, mulai dari bahan pangan di peternakan sampai dengan ditingkat rumah tangga. Beberapa mikroba patogen yang bertindak sebagai kontaminasi dan mampu mencemari bahan pangan asal ternak, antara lain adalah *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus*.

Penularan *Escherichia coli* O157:H7 pada manusia dapat ditemukan pada daging yang dimakan dalam keadaan kurang masak dan pada susu yang diminum tanpa dipasteurisasi yang mengakibatkan diare yang berbahaya dan gagal ginjal bagi yang mengkonsumsinya (Sartika, Yvonne, Indrawani dan Sudiarti, 2005). Bakteri *Salmonella sp* merupakan bakteri yang banyak ditemukan dalam produk unggas, seperti daging ayam dan telur. Bakteri ini tidak boleh ada (negatif) dalam produk pangan, disamping itu juga mengakibatkan makanan menjadi berlendir, penurunan daya simpan serta rasa yang tidak enak. Bakteri ini mengakibatkan gangguan kesehatan, seperti demam tifoid dan paratifoid (Djaafar dan Rahayu, 2007). Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* tidak boleh ada (negatif) dalam pangan, apabila makan terkontaminasi dengan bakteri tersebut akan mengakibatkan gastroenteritis dengan gejala diare, kram perut, mual, muntah dengan masa inkubasi 4 - 96 jam dengan rata-rata 15 jam dan menyebabkan infeksi apabila luka terbuka terkontak langsung dengan bakteri tersebut (Yuherman, 2001).

Keberadaan mikroorganisme di dalam bahan pangan tidak selalu menyebabkan kerusakan terhadap pangan tersebut. Akan tetapi, terdapat beberapa mikroorganisme yang menguntungkan dan menjaga keseimbangan mikroorganisme di dalam saluran pencernaan, seperti kelompok bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat telah banyak dimanfaatkan untuk pengawetan produk pangan asal ternak secara alami, karena penggunaan bahan pengawet sintetik akhir-akhir ini mendapatkan perhatian serius karena bersifat merugikan. Bakteri asam laktat bermanfaat meningkatkan kualitas dan ketahanan pangan melalui

penghambatan secara alami terhadap pertumbuhan bakteri yang bersifat patogen. Pemanfaatan bakteri asam laktat sebagai penghambat pertumbuhan bakteri patogen akibat dari fermentasi karbohidrat dengan menghasilkan asam organik seperti asam laktat, asam asetat, asam propionat disamping terjadinya penurunan pH dari 6,8 mencapai 4 (Vesterlund dan Ouwehand, 2004). Bakteri asam laktat tergolong pada bakteri gram positif yang aktif merusak lipopolisakarida pada membran terluar sel bakteri gram negatif, mengubah permeabilitas sel, mengubah molekul protein dan asam nukleat (Tamine dan Marshal, 2002). Selain menghasilkan asam-asam organik, aktifitas penghambatan pertumbuhan bakteri patogen ditandai dengan aksi dari bakteriosin dan hidrogen peroksida. Bakteriosin dihasilkan oleh bermacam spesies bakteri asam laktat dari hasil sintesa senyawa protein pada ribosom yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tanpa mengganggu pertumbuhan mikrobiota yang menguntungkan karena daya hambatnya sempit sehingga hanya mampu mempengaruhi bakteri yang berhubungan dekat dengan strainnya (Einarso dan Lauzon, 1995).

Hidrogen peroksida dihasilkan dari kemampuan oksidasi yang kuat dari bakteri asam laktat sehingga merusak dinding terluar dari sel bakteri patogen, beberapa bakteri asam laktat mampu bersifat bakteristatik (menghambat) dengan menghasilkan hidrogen peroksida sebanyak 6 – 8 $\mu\text{g/ml}$ dan bakterisidal (membunuh) dengan menghasilkan hidrogen peroksida sebesar 30 – 40 $\mu\text{g/ml}$ (Ray, 2003). Beberapa bakteri asam laktat yang bersumber dari pangan hasil ternak adalah *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* yang terdapat pada susu fermentasi dan *Lactobacillus plantarum* yang terdapat pada produk olahan daging yang difermentasi.

II. MATERIALS AND METHODS

Persiapan Sampel

Bahan yang digunakan adalah daging sapi segar yang dijual di Pasar Bandar Buat untuk mengisolasi *E. coli* O157:H7, daging ayam yang dijual di Pasar Bandar Buat untuk mengisolasi *Salmonella sp.* dan daging sapi yang terkontaminasi di Pasar Pagi, Kota Padang untuk mengisolasi *Vibrio parahaemolyticus*. Media untuk pemurnian bakteri *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* menggunakan medium MRS Agar (Man Rogosa Sharpe). Untuk bakteri *E. coli* O157 H7 menggunakan media selektif CHROMagar O157:H7, bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menggunakan media CHROMagar Vibrio.

Isolasi *E. coli* O157:H7

Menggunakan Media Selektif CHROMagar *E. coli* O157:H7 menurut CHROMagar (2011). Sebanyak 5 gram sampel daging dihaluskan dalam mortal dan dimasukkan dalam Erlenmeyer yang berisi 45 ml larutan pepton 0,1% (pengenceran 10^{-1}). Selanjutnya hasil pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan pepton 0,1% (pengenceran 10^{-2}). Demikian dilakukan seterusnya sampai pengenceran 10^{-6} diambil sebanyak 1 ml suspensi bakteri pada Erlenmeyer, selanjutnya diaduk sampai homogen serta dipindahkan ke cawan petridish yang berisi media CHROMagar *E. coli* O157 H7. Cawan petridish diinkubasi selama 24 jam pada

suhu 37 °C. Setelah 24 jam koloni yang berwarna ungu diambil, yang menunjukkan bakteri *Escherichia coli* O157: H7.

Isolasi *Salmonella sp.*

Isolasi *Salmonella* berdasarkan metode Fardiaz (1993) dengan menggunakan metode pre-enrichment sebanyak 1 gram sampel dihaluskan dengan menggunakan mortal dicampur dengan Buffered Peptone Water (BPW) steril (pengenceran 10^{-1}) diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37 °C. Setelah itu dilakukan enrichment dengan Rappaport Vassiliadis Broth (RVB) untuk *Salmonella sp.* yaitu 1 ml dari BPW (10^{-1}) yang sudah diinkubasi ditambahkan kepada 9 ml RVB (10^{-2}) dan diinkubasi pada temperature 37 °C selama 24 jam. Planting pada media SS agar terlebih dahulu dilakukan dengan pengenceran menggunakan Rappaport Vassiliadis Broth (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6}). Pengenceran 10^{-6} diambil sebanyak 1 ml suspensi bakteri pada Erlenmeyer. Selanjutnya diaduk sampai homogen dan dipindahkan ke cawan petridish yang berisi media SS agar, cawan petridish tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, setelah 24 jam koloni yang berwarna hitam yang dikelilingi warna kuning menunjukkan adanya bakteri *Salmonella sp.*

Isolasi *Vibrio parahaemolyticus*

Alat yang digunakan untuk mengisolasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* disterilisasikan terlebih dahulu. Pembuatan Media Alkaline Peptone Water (APW) dengan melarutkan 0,01 gram pepton dan 0,01 g NaCl dalam 10 ml aquades dalam Erlenmeyer, kemudian dipanaskan secara homogen dan mendidih, disterilkan dengan autoclave pada tekanan 15 lbs pada suhu 121 °C selama 15 menit. Sebanyak 1,12 gram serbuk CHROMagar™ *Vibrio* dilarutkan dalam 15 ml aquadest steril didalam Erlenmeyer steril, dipanaskan selama 1 - 2 menit sehingga terbentuk massa homogen, lalu dituang pada cawan petri steril. Selanjutnya sampel daging di ambil sebanyak 1 gram dicampurkan dengan media APW steril lalu diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 6-8 jam. Setelah diinkubasi, sampel diambil menggunakan jarum ose untuk dilakukan penanaman ke media CHROMagar *Vibrio* dan diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 18-24 jam. Pemunculan warna ungu pada media CRHOMagar *Vibrio* menunjukkan adanya bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Pemurnian Kultur Bakteri *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum*

Medium MRS agar sebanyak 3,07 gram dilarutkan dengan 45 ml aquades dan dipanaskan sampai homogen. Selanjutnya disterilkan pada suhu 121 °C pada tekanan 15 lb selama 15 menit, lalu dituangkan ke tiga buah cawan petri masing-masing 15 ml, lalu dibiarkan sampai membeku dan disimpan dalam keadaan terbalik. Pemurnian kultur bakteri *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* dilakukan dengan metode streak. Pertama, ose dibakar sampai membara, lalu didinginkan kemudian diambil inokulum *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum*, lalu diinokulasikan dengan metode streak pada cawan petri yang telah berisi MRS agar dan selanjutnya diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37 °C dengan kondisi anaerob.

Metode Difusi Agar

Metode difusi agar dilakukan menurut Cintas, Rodriguez, Fernandez, Sletten, Nes, Hernandez dan Holo (1995). Sebanyak 1 ml kultur cair masing-masing mikroba penguji (*E. coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Salmonella* sp.) disebarkan kedalam 15 ml *Mueller Hinton Agar* (MHA). Selanjutnya di tuang kedalam cawan petri. Setelah agar membeku, dibuat sumur dengan menggunakan ujung pipet biru (blue tip) yang dipotong sehingga besar diameter sumur 6 mm. Selanjutnya sebanyak 50 µl kultur aktif dari *Bifidobacterium*, *L. plantarum* dan *L. achidopilus* di teteskan ke dalam sumur pada media MHA dan didiamkan selama 15 - 20 menit. Cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam.

Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba dilakukan berdasarkan Rahayu (2005). Metode ini bertujuan untuk mengevaluasi jumlah koloni dan pertumbuhan spesifik *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* sp dan *Vibrio parahaemolyticus* dengan ditambahkannya beberapa macam konsentrasi bakteri asam laktat *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus plantarum* pada waktu kontak tertentu. Medium Nutrien Broth masing-masing sebanyak 9 ml dalam erlenmeyer disterilisasi, lalu dimasukkan masing-masing bakteri asam laktat *Bifidobacterium*, *L. plantarum* dan *L. achidopilus* dengan konsentrasi 0.0, 2.0, 4.0 dan 8.0% dan bakteri patogen *E. coli* O157:H7, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Salmonella* sp sebanyak 1 ml dengan konsentrasi 10^7 sel per ml diinokuasikan kedalam masing-masing erlenmeyer. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C dan dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri dengan waktu kontak 0, 12, 36 dan 24 jam menggunakan Standar Plate Count . Metoda yang dipakai dalam penelitian metode difusi agar adalah metoda eksperimen dan menggunakan percobaan RAL (Rancangan Acak Lengkap) pola faktorial 3x3 dengan 3 ulangan. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap peubah yang digunakan dilakukan dengan menggunakan Analisa Keragaman.

III. RESULTS AND DISCUSSION

Daya Hambat

Hasil analisis statistik penghambatan bakteri asam laktat *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* sp dan *Vibrio parahaemolyticus* yang ditandai dengan pembentukan zona bening (mm) yang dihasilkan.

Tabel 2. Rataan Zona Bening Hasil Penelitian Antara Bakteri Asam Laktat dengan Bakteri Patogen (mm)

Bakteri Asam Laktat	Bakteri Patogen			
	B1	B2	B3	
A1	15.00	21.00	21.67	19.22
A2	16.00	15.33	21.00	17.44
A3	12,67	14,33	20,00	15,66
Rata-rata	14,55	16,87	21,23	

Keterangan : Superskrip dengan huruf kapital pada baris yang sama menunjukkan hasil berbeda nyata ($P < 0,01$), sedangkan hurup kecil pada lajur yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Hasil analisis keragaman menunjukkan adanya interaksi yang nyata ($P < 0.05$) antara bakteri asam laktat *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* dengan bakteri patogen *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus* terhadap zona bening yang dihasilkan. Dari hasil analisis ini juga menunjukkan bahwa antar faktor A (bakteri asam laktat) dan antar faktor B (bakteri patogen) memperlihatkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap zona bening yang dihasilkan. Setelah dilakukan uji lanjut, menunjukan zona bening yang dihasilkan *Bifidobacterium bifidum* terhadap *E. coli* O157:H7 (A1B1) berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dengan zona bening yang dihasilkan oleh *Lactobacillus acidophilus* (A2B1) dan *Lactobacillus plantarum* (A3B1). Begitu juga dengan zona bening yang dihasilkan *Bifidobacterium bifidum* terhadap *Salmonella sp* (A1B2) berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dengan zona bening yang dihasilkan oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* (A2B2) dan *Lactobacillus plantarum* (A2B3) dan zona bening yang dihasilkan *Bifidobacterium bifidum* terhadap *Vibrio parahaemolyticus* (A1B3) berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dengan zona bening *Lactobacillus acidophilus* (A2B3) dan *Lactobacillus plantarum*. Dengan demikian zona bening yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus acidophilus* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus* melalui metode difusi sumur agar. Schillinger dan Lucke (1989) mengatakan daya hambat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen ditandai dengan zona bening yang dihasilkan, dengan diameter 0,5 mm atau lebih besar. Lay dan Hastowo (1992) menambahkan semakin besar diameter zona bening, semakin kuat daya hambat suatu antimikroba.

Kemampuan bakteri asam laktat *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus* ditandai dengan diameter zona bening yang dihasilkan akibat senyawa yang bersifat antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat seperti asam laktat, diasetil, asetildehid, d-isomer asam-asam amino, asam asetat, bakteriosin dan hydrogen peroksida yang mampu bersifat bakterisidal atau bakteristatik (Vuyst, 1995). Al-Allaf *et al.* (2009) menambahkan penghambatan berbagai bakteri oleh RAL karena kombinasi berbagai faktor yang dihasilkan oleh asam laktat, misalnya produksi asam laktat yang menurunkan pH dan juga zat penghambat seperti bakteriosin yang bertanggung jawab dalam aktivitas antimikroba. Selain itu, besarnya zona bening yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus* disebabkan karena bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri gram positif yang mampu menghambat bakteri gram negatif seperti *E. coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Diantara asam organik yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, yaitu asam laktat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dalam makanan dan bakteri gram negatif dari spesies *Enterobacteriaceae* dan *Pseudomonadaceae* (Ray, 1992). Alakomi *et al.* (2000)

mengatakan bahwa asam laktat aktif merusak lipopolisakarida dari membran terluar dari bakteri gram negatif. Baik *et al.* (1996) menambahkan asam organik yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat akan menghambat kelangsungan hidup bakteri patogen, dengan alasan seperti ini menjadikan asam organik digunakan sebagai bahan pengawet makanan. Berbedanya diameter zona bening yang dihasilkan oleh masing-masing bakteri asam laktat *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* terhadap bakteri patogen *E. coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus* diakibatkan ketahanan bakteri patogen terhadap zat antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat berbeda-beda. Vesterlund dan Ouwehand (2004) menyatakan bahwa sensitivitas bakteri terhadap antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dapat berbeda-beda. Selanjutnya Pelczar dan Chan (1988) menyatakan bahwa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antimikroba adalah jumlah atau konsentrasi antimikroba yang ada dan jenis mikroba yang diuji.

Luasnya zona bening yang dihasilkan bakteri *Bifidobacterium bifidum* dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus* disebabkan karena bakteri ini lebih mampu bersaing dengan bakteri asam laktat lainnya terhadap pertumbuhan bakteri patogen akibat produksi zat antimikroba berupa asam laktat dan asam asetat untuk mempertahankan diri, membentuk koloni dalam jumlah banyak dan menyerap nutrisi. Biavati *et al.* (2000) menyebutkan *Bifidobacterium* memiliki mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen yang dikaitkan dengan produksi asam laktat dan asam asetat serta *Bifidobacterium* memiliki spektrum yang luas dalam menghambat bakteri gram positif dan gram negatif. Gagnon *et al.* (2004) menyatakan genus *Bifidobacterium* lebih tahan dibandingkan bakteri gram positif lainnya. Hal ini sama dengan penelitian yang dilakukan Yusof *et al.* (2000) produksi asam organik (asam laktat dan asam asetat) dari *Bifidobacterium* memiliki aktifitas dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* O157: H7 and *S. typhimurium* S 285.

Diameter zona bening juga dihasilkan oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Hal ini diakibatkan sekresi metabolit yang dihasilkan oleh masing-masing bakteri tersebut, sesuai dengan penelitian Fazeli *et al.* (2009) *Lactobacillus plantarum* dalam strain berbeda mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella sp* dengan koloni bakteri 10^7 CFU/ml menjadi 10^1 - 10^2 CFU/ml dengan zona bening 20 mm melalui sekresi metabolit khususnya bakteriosin yang diinkubasi setelah 24 jam.

Nilai pH

Hasil analisis statistik penghambatan bakteri asam laktat (*Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum*) terhadap pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus* yang ditandai dengan nilai pH yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini. Hasil analisis keragaman (Lampiran 2) menunjukkan tidak adanya interaksi yang nyata ($P>0.05$) antara bakteri asam laktat *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* dengan bakteri patogen *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella sp* dan *Vibrio parahaemolyticus* terhadap nilai pH

yang dihasilkan. Dari hasil analisis ini juga menunjukkan bahwa antar faktor A (bakteri asam laktat) memperlihatkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) dan antar faktor B (bakteri patogen) memperlihatkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap nilai pH yang dihasilkan.

Tabel 2. Rataan Nilai pH Hasil Penelitian Antara Bakteri Asam Laktat dengan Bakteri Patogen

Bakteri Asam Laktat (Faktor A)	Bakteri Patogen (Faktor B)			Rata-rata
	B1	B2	B3	
A1	5,99	6,70	4,93	5,87 ^a
A2	5,63	3,40	5,04	4,69 ^{ab}
A3	6,02	5,67	5,23	5,64 ^a
Rata-rata	5,88	5,27	5,06	

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

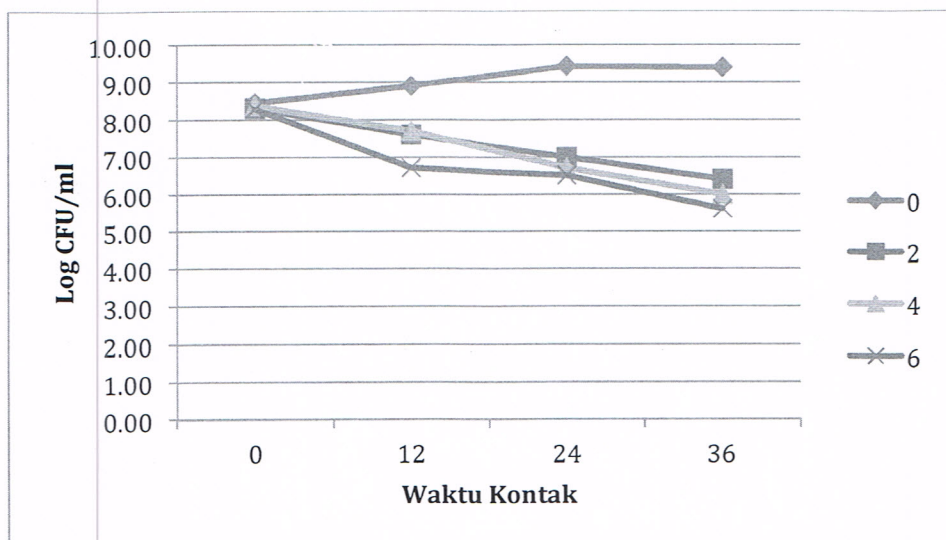
Setelah dilakukan uji lanjut, menunjukan nilai pH yang dihasilkan *Bifidobacterium bifidum* (A1) yaitu 5,87 paling tinggi diikuti oleh *Lactobacillus plantarum* (A2) dengan nilai 4,69 dan *Lactobacillus acidophilus* (A3) dengan nilai 5,64. Nilai pH yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* O157:H7 (B1) menunjukan nilai paling tinggi yaitu 5,63 dibandingkan *Salmonella sp* (B2) dengan nilai 5,27 dan *Vibrio parahaemolyticus* (B3) dengan nilai 5,06. Uji lanjut pada Faktor A, menunjukan bahwa antara bakteri asam laktat, *Bifidobacterium bifidum* (A1) berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dengan *Lactobacillus acidophilus* (A2) dan *Lactobacillus plantarum* (A3). Kondisi ini memperlihatkan setiap spesies dari bakteri asam laktat tidak memiliki perbedaan dalam menghasilkan nilai pH karena bakteri asam laktat akan memproduksi metabolit sederhana seperti asam laktat, asam asetat, asam propionat dan faktor tambahannya adalah penurunan pH. Alakomi *et al.* (2000) menyatakan penurunan pH merupakan efek dari kemampuan bakteri asam laktat mensekresikan metabolit sekunder dalam merusak membran terluar bakteri gram negatif.

Seperti tampak pada hasil penelitian yaitu bakteri *Bifidobacterium bifidum* (A1) menghasilkan nilai pH yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Lactobacillus acidophilus* (A2) dan *Lactobacillus plantarum* (A3) hal ini diduga karena produksi asam organik dari *Bifidobacterium bifidum* lebih sedikit dari spesies bakteri asam laktat lainnya. Scardovi (1986) dalam Zinedine dan Faid (2007) *Bifidobacterium* hanya memproduksi asam laktat dan asam asetat tidak seperti spesies bakteri asam laktat lain yang juga memproduksi asam laktat, asam asetat, asam butirat dan asam propionat. Rendahnya nilai pH yang dihasilkan oleh *Lactobacillus acidophilus* (A2) dibandingkan dengan nilai pH *Bifidobacterium bifidum* (A1) dan *Lactobacillus plantarum* (A3) diakibatkan bakteri *Lactobacillus*

Aktivitas Pertumbuhan Bakteri *Salmonella sp.*

Pengaruh metode kontak dan konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* dilihat pada Gambar 4 dibawah ini. Berdasarkan hasil analisis Uji Chi-square, tidak terjadi perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) antara waktu kontak dan konsentrasi bakteri *Bifidobacterium bifidum* terhadap penurunan jumlah total koloni bakteri *Salmonella sp.*, hal ini menjelaskan hanya terjadinya penghambatan pertumbuhan *Salmonella sp.* tetapi bukan membunuh *Salmonella sp.* dengan berbagai konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* yang ditumbuhkan pada berbagai waktu kontak. Kemampuan *Salmonella sp.* tetap hidup dalam berbagai konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* yang ditumbuhkan pada berbagai waktu kontak disebabkan karena spesies ini yang sangat tahan pada berbagai kondisi asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, garam dan suhu tinggi, kondisi seperti ini membuat *Salmonella sp.* mampu bertahan hidup pada kondisi lingkungan bagaimanapun juga (Tosun dan Aktuu, 2003). *Salmonella thipimurium* sangat tahan pada kondisi asam dan pada pH yang rendah, adaptasi terhadap asam yang dilakukan oleh spesies *Salmonella sp.* dapat digambarkan pada dua tahap proses yang dimulai dengan *preshock* dengan kondisi pH 5 – 6 dan tahap *shock* pada kondisi asam dengan kisaran pH dibawah 4 (Foster dan Hall, 1991).

Foster dan Spector (1995) menyatakan *Salmonella sp.* merupakan bakteri bersifat fakultatif anaerob yang tahan pada kondisi yang beragam seperti hidup pada pH yang rendah, kandungan gizi yang sedikit, tahan pada kondisi panas dan lainnya, dengan kondisi yang buruk diluar sel memberikan sinyal kepada *Salmonella sp.* untuk mempertahankan diri meliputi perubahan pada ekspresi gen dan sintesa protein, meskipun mekanisme *Salmonella sp.* mampu tahan pada berbagai kondisi lingkungan belum banyak dipahami tapi respon terhadap tekanan diluar sel menjadikan bakteri ini lebih tahan terhadap kondisi apapun. Foster (1995) menambahkan, salah satu mekanisme singkat dalam perlawanan *Salmonella sp.* terhadap kondisi asam dimulai pada sel bakteri tersebut terkena kondisi yang dianggap sedikit asam (pH 5,8) sehingga kondisi tersebut memberi kemampuan bagi *Salmonella sp.* beradaptasi pada kondisi asam.



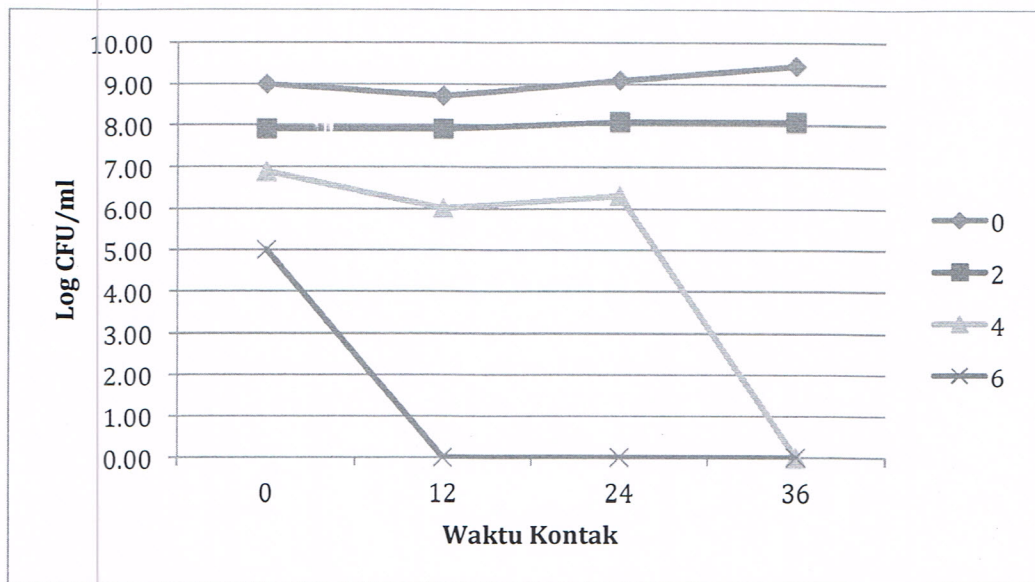
Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* dan waktu kontak terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* (Log CFU/ml)

Salmonella sp. dapat hidup pada berbagai lingkungan selama siklus hidupnya, salah satu faktor lingkungan yang berfluktuasi terhadap pertumbuhan hidup *Salmonella sp.* adalah pH, kemampuan bertahan hidup *Salmonella sp.* diberbagai tekanan lingkungan dan dibawah kondisi asam mempengaruhi bakteri tersebut mampu hidup dalam makanan, dalam produk olahan makanan dan mampu bertahan hidup di dalam berbagai pengawet kimia (Stocker dan Makela, 1986). Leyer and Johnson (1992) menambahkan, penambahan asam organik atau kemampuan hidup dalam kondisi asam rendah akan meningkatkan daya tahan sel bakteri *Salmonella sp.* pada tekanan lingkungan selama proses pengolahan makanan. Abdelwaheb *et al.* (2008) melaporkan jus jeruk dan sosis fermentasi memberikan kelangsungan hidup terhadap pertumbuhan *Salmonella sp* meskipun memiliki nilai pH yang sangat rendah.

Aktivitas Pertumbuhan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Pada tahap ini lebih jauh dilihat pengaruh konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. dengan menggunakan metode kontak bakteri. Pengaruh metode kontak dan konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Berdasarkan hasil analisis Uji Chi-square, terjadinya hubungan yang signifikan ($P < 0,05$) antara waktu kontak dan konsentrasi bakteri *Bifidobacterium bifidum* terhadap penurunan jumlah total koloni bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, hal ini menjelaskan terjadinya penghambatan pertumbuhan *Vibrio parahaemolyticus* dengan berbagai konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* yang ditumbuhkan pada berbagai waktu kontak.

Terjadinya penurunan jumlah bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada berbagai konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* yang ditumbuhkan pada berbagai waktu kontak disebabkan, karena bakteri *Vibrio parahaemolyticus* merupakan golongan bakteri gram negatif akibatnya yang akan mudah dirusak oleh asam laktat dan asam asetat yang diproduksi oleh *Bifidobacterium bifidum*. Asam organik yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat akan merusak dinding sel bakteri gram negatif, menghancurkan trans membran sehingga hilangnya transportasi nutrisi kedalam sel (Francoise, 1993). Yusof *et al.* (2000) menambahkan, mekanisme asam organik (asam laktat dan asetat) dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif ditandai dengan pH rendah yang akibatnya akan terjadi untuk penetrasi asam lemah terdisosiasi kedalam sel-sel bakteri patogen, sehingga pH internal sel bakteri patogen berubah dan mengakibatkan asam amino akan terserang sehingga sintesis protein akan terhenti yang mengakibatkan kematian sel.



Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* dan waktu kontak terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (Log CFU/ml)

Semakin tingginya konsentrasi *Bifidobacterium bifidum* yang ditumbuhkan dalam berbagai waktu kontak menunjukkan sedikitkan pertumbuhan *Vibrio parahaemolyticus* hal ini sesuai dengan pendapat Vuyst dan Vandamme (1994) semakin tinggi konsentrasi bakteri asam laktat yang diberikan akan bersifat sensitif bagi pertumbuhan bagi bakteri gram negatif terhadap aksi bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat tersebut. Smaoui *et al.* (2010) mengatakan, bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat akan efektif menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif setelah diinkubasi pada 16 jam pada suhu 30 °C.

ACKNOWLEDGMENTS

Ucapan terima disampaikan kepada Direktorat Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia, Universitas Andalas

REFERENCES

- Abdelwaheb, C., Ime I, and Ahmed, L. 2008. Growth and survival of *Salmonella zanzibar* in juice and salami stored under refrigerated and room temperature. *African Journal of Microbiology Research*. Vol.(2) pp. 047-049
- Adeline, H.S., Marianne, C., Sophie, L.B., Francoise, L., Isabelle, P., Sandra, R., Virginie, M., Philippe, M. and Nicolas, R. 2009. Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* contamination in 519 French laying hen flocks at the end of the laying period. *Prev Vet Med* 89:51–58.
- Ahmed, Z., Wang, Y., Cheng, Q. and Imran, M. 2010. *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin from production to their application. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9 (20), pp. 2843-2850

- Alakomi, H.L., Skytta, E., Saarela, M., Mattila, S.T., Lavta, K.K. Helander M.I. 2000. Lactid Acid Permeabilizer Gram Negative Bacteria by Distrupting the Outer Membran. *Applied and Enviro. Microbiology*, Vol.66 No.5
- Alam, M. J. and L. Zurek., 2005, "Association of *Escherichia coli* O157:H7 with Houseflies on A Cattle Farm", *Appl. Environ. Microbiol.*,70(12). 7578-7580
- Al-Allaf, M.H.A Al-Rawi, A.M.M and Al-Mola, A.T. 2009. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from minced beef meat against some pathogenic bacteria. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, Vol. 23, Supplement I, (115-117)
- Aly, S., Cheik A.T.O., Imael H. N. and Alfred, S.T. 2006. Bacteriocins and lactic acid bacteria - a minireview. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (9), pp. 678-683.
- Anand, S.K., R.A. Srinivasan and L.K. Rao 1985. Antimicrobial activity associated with 1985. *Antimicrobial activity associated with 11: 6-7.*
- Ansaruzzaman, M., Lucas, M., Deen, J.L., Bhuiyan, N.A., Wang, X.Y., Safa, A., Sultana, M., Chowdhury, A., Nair, B., Sack, D.A., Seidlein, L., Puri, M.K., Ali, M., Chaignat, C.L., Clemens, J. D., and Barreto, A. 2005. Pandemic serovars (O3:K6 and O4:K68) of *Vibrio parahaemolyticus* associated with diarrhea in Mozambique: spread of the pandemic into the African continent. *Journal of clinical microbiology*, 43, 6, 2559–2562.
- Arief, R.R.A, Maheswari, T. Suryati, Komariah dan S.Rahayu 2005. Kualitas Mikrobiologi Sosis Fermentasi daging sapi dan domba yang menggunakan kultur kering *Lactobacillus plantarum* 1B1 dengan umur yang berbeda. *Jurnal media peternakan april 2008 Vol 31 No.1*
- Baik, H. S., S. Bearson, S. Dunbar, and J. W. Foster. 1996. The acid tolerance response of *Salmonella typhimurium* provides protection against organic acids. *Microbiology* 142:3195–3200
- Bogovic, M.B., Rogelj., Nes, I.F. and Holo, H. 1998. Isolation and characterization of two bacteriocins of *Lactobacillus acidophilus* LF221. *Appl Microbiol Biotechnol.* 1998 May;49(5):606-12
- Boyd, E. F., Cohen1, A.L.V., Naughton, L.M., Ussery, D.W., Binnewies, T.T., Stine, O.C. and Parent, M.A. 2008. Molecular analysis of the emergence of pandemic *Vibrio parahaemolyticus*. *BMC Microbiology*, 1-14
- Buzby, J. C., T. Roberts, C. T. Jordan Lin, and J.M. MacDonald. 1996. Bacterial foodborne disease: Medical costs and productivity losses. Food and consumer economics division, ERS, USDA. *Agriculture Economic Report No. 741.*
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H dan Wooton, M. 1987. Ilmu Pangan. Edisi Kedua. Terjemahan : H.Purnomo. Penerbit UI press, Jakarta.
- Chromagar. 2011. Our Experience in Chromogenic Media For Your Microbial Testing. Diakses 15 Januari 2012 melalui : <http://www.chromagar.com/>
- Cintas, L. M., J. M. Rodriguez, M. F. Fernandez, K. Sletten, I. F. Nes, P. E. Hernandez dan H. Holo. 1995. Isolation and characterization of Pediocin L50, a new bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* with a broad inhibitory spectrum. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 61 (7) : 2643-2648.

- Deraz SF, Karlsson EN, Hedström M, Andersson MM, Mattiasson B. 2007. Purification and characterisation of acidocin D20079, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079. Department of Biotechnology, Center for Chemistry and Chemical Engineering, Lund University. Sweedan.
- Djaafar, T.F., Rahayu, S. 2007. Cemanaran mikroba pada produk pertanian, penyakit yang ditimbulkan dan pencegahannya. Balai Penelitian Teknologi Pertanian Yogyakarta.
- D'Aoust JV. 2001. *Salmonella*. Di dalam: Labbé RG & Garsía Santos, editor. *Guide to Foodborne Pathogens*. USA: Wiley-in
- Einarsson, H., H, Lauzon, 1994. Biopreservatif of Brine Shrimp by Bacteriocin Of Lantibiotic Nisin Genomic Organization and Membran Localization Of NisB Proteint. *J. Appl. Enveronment. Microbiol*, Nov.3730-3743
- Enan, G., Essawy, A.A., Uyttendaele, M., Debevere J.1996. Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* UG1 isolated from dry sausage: characterization, production and bactericidal action of plantaricin UG1. *Int J Food Microbiol*. 1996 Jul;30(3):189-215.
- Fardiaz S. 1989. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Fardiaz, S., Laksmi, B.S., Solihati, A.1997. Isolasi dan Seleksi Bakteri Asam Laktat yang bersifat antimikroba dari serkaut . *Jurnal teknologi dan industry pangan vol III, No.3, Th.1997*
- Farouque, S. M., J. A. Albert, and J.J Mekalanos. 1998. Epidemiology, Genetics, and Ecology of Toxigenic *Vibrio cholerae*, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 62 No.4, 1301-1314
- Fazeli, M.R., Vaghari, E. Jamalifar, H., Ebrahim, Z., Samadi, N. 2009. Antimicrobial Activity of *Lactobacillus plantarum* Staint Isolated from Fermented Olive Origin. *Journal of Medicine Plants*, Vol. 8, No.31
- Felis, E.G. dan Dellagio, F.2005. Taxonomy of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. *Curr. Issues Intestinal Microbiol*. 8: 44–61. Online journal at www.ciim.net
- Gibson, G.R. and X. Wang. 1994. Regulatory effects of *Bifidobacteria* on the growth of othercolonic bacteria. *J. Appl. Bacteriol*. 77:412-420.*Internet Journal of Food Safety V.2, 6-8*
- Gibson G.R., Roberfroid M.B., 1995, Human colonicbacteria. Role in physiology, pathology and nutrition,CRC Press, Boca Raton, Florida, USA
- Antimicrobial Activity of *Bifidobacterium longum* (NCFB 2259) as Influenced by Spices
- Grijspeerdt K, Kreft JU, Messens W. 2005. Individual-based modelling of growth and migration of *Salmonella* Enteritidis in hens eggs. *Int J Food Microbiol* 100:323– 333.
- Holtj. G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T. & Williams, S.T.1994. Bergeys Manual Determinative Bacteriology.Baltimore: Williamn and Wilkins Baltimore
- Hugas M, Tsigarida E, Robinson T, Calistri P . 2009. The EFSA scientific panel on biological hazards first mandate: May 2003-May 2006. Insight into foodborne zoonoses. *Trends Food Sci Technol* 20:188-193

- Biavati, B., Vescovo, M., Torriani, S., Bottazzi, V. 2000. Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Annals of Microbiology*, 50, 117-131
- Buttris, J. 1997. Nutritional properties of fermented milk products. *International Journal of Dairy Technology* 50(1):21-27
- Francoise MB, Brassarat D, Nasser JR, Servin AL. Adhesion of human *Bifidobacteria* strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogenic cell interactions. *App Env Microbiology* 4121-4128
- Foster, J. W., and Hall. 1991. Inducible pH homeostasis and the acid tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol.* 173:5129-5135
- Foster, J.W., Spector, M., 1995. How *Salmonella* survive against the odds. *Annual Rev. Microbiology* 49: 145-174
- Gagnon, M, Kheadr, E.E. Blay, G.L. Fliss, I. 2003. Invitro inhibition *E.coli* O157:H7 by *Bifidobacterium* staint of human origin. *Internasional Journal of Food Microbiology*, 92, 69-78
- Jothikumar, N. and Griffiths, M. W., 2002, Rapid Detection of *Escherichia coli* O157:H7 with Multiplex Real-Time PCR Assays, *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(6). 3169-3171
- Karaoglu, S.A. Aydin, F., Kilic, S.S and Kilic, A.O. 2003. Antimicrobial Activity and Characteristics of Bacteriocins Produced by Vaginal Lactobacilli. *Turk J Med Sci* 33 (2003) 7-13
- Kim, J.W., Rajagopal, S.N. 2001. Antibacterial Activities of *Lactobacillus crispatus* ATCC 33820 and *Lactobacillus gasseri* ATCC 33323. *The Journal of Microbiology*, June 2001, p.146-148 Vol. 39, No. 2
- Kleerebezem, M., Boekhorst, J., van Kranenburg, R. & 17 other authors (2003). Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 1990-1995
- Kumar, H. S., S. K. Otta, I. Karunasagar, 2001, Detection of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) in Fresh Seafood And Meat Marketed in Mangalore, India by PCR, Lett. *In Appl. Microbiol.*, 33. 334-338.
- Kusmiati, Malik, A. 2002. Aktifitas Bakteriosin Dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Phac1 Pada Berbagai Media. *Makara Kesehatan*, Vol 6 no.1
- Lay, B. W. dan S. Hastowo. 1992. Mikrobiologi. Penerbit CV. Rajawali, Jakarta.
- Marlina. 2008. Identifikasi bakteri *vibrio parahaemolyticus* dengan metode biolog Dan deteksi gen *toxR* nya secara pcr. *Jurnal sains dan teknologi farmasi*, vol. 13, no. 1
- Menssens W and De Vugst L 2002. Inhibitory substances produced by *Lactoacilli* isolated from sourdoughs- a rev. *Intl J. of food Microbiol* 72: 31-43
- Nair, G.B., Ramamurthy, T., Bhattacharya, S.K., Dutta, B., Takeda, Y., & Sack, D.A. 2007. Global dissemination of *Vibrio parahaemolyticus* serotype O3:K6 and its serovariants. *Clinical Microbiology Reviews*, 20, (1), 39-48.
- Patterson S, Isaacson ER. 2003. Genetics and pathogenesis of *Salmonella*. Di dalam: Torrence ME, Isaacson ER, editor. *Microbial Food Safety in Animal Agriculture*. Iowa: Iowa State Pr

- Pereira, C.I., Gomes, E.O., Gomes, A.M.P., Malcata, F.X., (2008). Proteolysis in model Portuguese cheeses: effects of rennet and starter culture. *Food hem.* 108, 862-868
- Perna, NT., Burland, V., Mau, B., Glasner, J.D., Rose, D.J. and Mayhew, G.F.** 2001. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature*, 2001 Jan 25;409(6819):529-33.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid II. Terjemahan: R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo dan S. L. Angka. UI Press, Jakarta.
- Priti, R. A. L., 2004, Waspada! Serangan Bakteri *E. coli* O157:H7", <http://www.dkp.go.id/content.php>.
- Quilici, M.L., Pillot, A.R., Picart, J. & Fournier, J.M. July 2005. Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 Spread, France, Diakses 19 juli 2011 dari <http://www.cdc.gov/eid>
- Rahayu, W.P., 2000. Aktivitas Antimikrona Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri Terhadap Bakteri PAtogen dan Perusak. *Bul. Teknol. dan Industri Pangan, Vol X1, Th.2000*
- Ray, B. 1992. Diacetyl of lactic acid bacteria as a food biopreservative, p. 137–153. In B. Ray and M. Daeschel (ed.), Food preservatives of microbial origin. CRC Press, Boca Raton, Fla
- Rodriguez, E., Gonzalez, B., Gaya, P., Nunez, M. and Medina, M., 2000. Diversity Of Bacteriocins Produced By Lactic Acid Bacteria Isolated From Raw Milk. *Intl Dairy J.* 10: 7-15
- Rostini.I. 2007. Peranan Bakteri Asam Laktat (*L.plantarum*) terhadap masa simpan Simpan Fillet Merah pada Suhu Rendah. Karya Ilmiah. www.unpad.co.id/karyailmiah/pdf
- Raouf, A U. M., L. R. Beuchat, and Ammar.M.S 1993. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 in ground roasted beef as affected by pH, acidulants, and temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:2364–2368.
- Sartika, R.A.D., M. Yvonne, Indrawani, Sudiarti. 2005. Analisis mikrobiologi *E.coli* O157 H7 pada hasil olahan sapi di dalam proses produksinya. *Makara, Kesehatan, Vol 9, No,1 Juni 2005 : 23-28*
- Selvamohan, T. Sujitha, S.2010. Antimicrobial activity of a probiotic *Lactobacillus Plantarum* against urinary tract infection (UTI) causing pathogens. *Der Pharmacia Lettre*, 2(5): 432-440
- Schillinger, U., Lucke, F., 1989. Antibacterial of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl Environ Microbiol* 55 : 1901-1906
- Smaoui S, Elleuch L, Bejar W, Karray-Rebai I, Ayadi I, Jaouadi B, Mathieu F, Chouayekh H, Bejar S, Mellouli L.** 2010. Inhibition of fungi and gram-negative bacteria by bacteriocin BacTN635 produced by *Lactobacillus plantarum* sp. TN635. *Appl Biochem Biotechnol.* ;162(4):1132-46. Epub
- Suardana, I. W., 2005, Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 dan Shiga toxin *Escherichia coli* (STEC) Pada Feses Sapi, Daging Sapi, dan Feses Manusia Di Kabupaten Badung Propinsi Bali
- Surono, I.S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. PT. Tri Cipta Karya, Jakarta
- Sujaya, N., Ramona, Y, Widarini, N.P. Suariani, N.P, Dwipayanti, N.M., Nociantitri, K.A., Nursini, N.W.2008. Isolasi dan Karakteristik Bakteri

Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa.
Jurnal Veteriner, Vol.9, No.2: 52-59

- Stocker BAD, Makela PH (1986). Genetic determinances of bacterial virulence with special reference to *Salmonella*. *Curr. Trop. Microbiol.Immunol.* 124: 149-172
- Tadesse, G. Ephraim, E., Ashenafi, M , _____, Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Borde and Shamita, traditional thioipian fermented beverages, on some foodborne pathogens and effect of growth medium on the inhibitory activity. *Internet Journal of Food Safety V (5) 13-20*
- Tamime, A.Y. dan V. M. E. Marshall. 2002. Physiology and biochemistry of fermented milk. Chapman and Hall, London.
- Tannock, G. W. (1999) Introduction. In: Probiotics: A Critical Review, pp. 1– 4. Horizon Scientific Press, Norfolk, England.
- Todar, K., 2008. Bacterial resistance to antibiotics, principles of bacterial pathogenesis. Todar's Online Textbook of Bacteriology.
- Todorov, S.D. 2009. Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* – production, genetic Organization and mode of action. *Brazilian Journal of Microbiology* (2009) 40:209-221
- Tosun, H.,Aktuú P.G.N.L, 2003. Acid Adaptation Protects *Salmonella typhimurium* From Environmental Stresses. *Turk J Biol* 27 (2003) 31-36 © T.BÜTAK 31
- Vesterlund, S. dan A. C. Ouwehand. 2004. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. Dalam : S. Salminen dan A. VonWright (Eds). Lactic Acid Bacteria, Microbiology and Functional Aspect. Marcel Dekker, Inc. London.
- Vuyst, L.D. 2005. Nutritional Factor Affering Nisin Production by *Lactococcus lactis* NIZO 22186 in a Syntetic. *J. Appl. Bacteriol.* 78, -10
- Yildirin, Z. and Johnson, 1998. Characterization and antimicrobial spectrum of bifidocin B, a bacteriocin produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. *J. Food Prot.*, 61: 47-51
- Yuherman.2001. Molecular Characterization of *Vibrio* Species Isolated From Sea Water, Thesis, Faculty of food and Biotechnology, UPM, Kuala Lumpur.
- Yusof,R.M., Haque, F., Ismail, M. Hassan, Z.2000. Isolation of *Bifidobacteria infantis* and its antagonistic activity against ETEC 0157 and *Salmonella typhimurium* S-285 in weaning foods. *Asia Pacific J Clin Nutr* (2000) 9(2): 130–135
- Zhao, T., M. P. Doyle, and R. E. Besser. 1993. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:2526–2530.
- Zinedine A and Faid M.2007. Isolation and Characterization of Strains of Bifidobacteria with Probiotic Proprieties *In vitro*. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 2 (1): 28-34