

UJI ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ASAM LAKTAT HASIL FERMENTASI SELADA ROMAIN (*Lactuca sativa* var. *longifolia* Lam.)

Acika M. Sumual¹⁾, Fatimawali¹⁾, Trina E. Tallei²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

²⁾Jurusan Biologi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Lactic Acid Bacteria (LAB) are a group of Gram-positive bacteria that produce lactic acid as the major metabolic end product. They are cocci or rods, nonsporulating and are anaerobic or facultative anaerobes bacteria. Most LABs are probiotics that are known to have good benefits to health, such as inhibiting some pathogens. This study was aimed to examine the potential probiotics properties of LAB isolates from Romaine lettuce fermentation which is included antibacterial activity of isolates. The isolates are spread on MRS agar supplemented with 1% of CaCO₃ and then purified by using streak method to obtain pure isolates. The results showed that there are 4 isolates from Romaine lettuce fermentation which have the potential to inhibits some pathogens.

Key words: Lactic acid bacteria, fermentation, Romain lettuce, potential probiotic

ABSTRAK

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan sekelompok bakteri Gram positif yang menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir metabolisme. Berbentuk kokus atau batang, tidak memiliki spora dan bersifat anaerob atau fakultatif anaerob. Sebagian besar BAL merupakan probiotik yang diketahui memiliki manfaat baik bagi kesehatan, seperti memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan isolat BAL dari hasil fermentasi selada Romain sebagai probiotik potensial yang mencakup aktivitas antibakteri isolat. Isolat bakteri ditumbuhkan pada media MRS agar yang ditambahkan 1% CaCO₃ kemudian dimurnikan menggunakan metode gores (streak) sehingga diperoleh isolat murni yang kemudian diuji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ke empat isolat yang diperoleh dari hasil fermentasi selada romain yang berpotensi memiliki aktivitas penghambatan bakteri patogen

Kata kunci: Bakteri asam laktat, fermentasi, selada Romain, probiotik potensial

PENDAHULUAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan sekelompok bakteri Gram positif yang tidak menghasilkan spora dan memiliki metabolisme homofermentatif dan heterofermentatif serta menghasilkan asam laktat yang difermentasi dari karbohidrat (Salminen *et al.*, 2012).

Fermentasi merupakan salah satu bentuk pengolahan makanan yang paling kuno yang masih banyak dipakai untuk memperpanjang masa penyimpanan makanan (Juodeikiene *et al.*, 2012). Pada proses fermentasi terjadi konversi karbohidrat dan makromolekul lainnya menjadi asam organik menggunakan bakteri dalam kondisi anaerobik. Makanan yang difermentasi terbukti sebagai pangan fungsional yang dapat memberikan manfaat baik bagi tubuh yang mana dapat meminimalisir risiko penyakit tertentu (Getahun *et al.*, 2016) seperti penyakit *irritable bowel syndrome*, *inflammatory bowel diseases* sampai kanker usus besar (Kaur *et al.*, 2014; Lahtinen *et al.*, 2012).

Salah satu bahan makanan yang dapat difermentasi yaitu selada. Selada Romain merupakan salah satu varietas selada yang memiliki daun yang panjang, runcing dan tegak. Daun selada Romain lebih kuat dari daun selada yang lainnya (Fontenot *et al.*, 2014) yang membuat selada ini tidak mudah rapuh selama proses fermentasi.

Sebagian besar BAL merupakan probiotik. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang bila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dapat memberi manfaat baik pada inang. Para profesional kesehatan telah membuktikan

manfaatnya, seperti dapat menghasilkan senyawa antibakteri (Belicová *et al.*, 2013).

Oleh karena itu isolasi bakteri asam laktat dari cairan hasil fermentasi selada Romain perlu dilakukan untuk mengetahui kemampuan antibakteri, asimilasi kolesterol dan tahan asam dari isolat.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Sampel dalam penelitian ini diperoleh dari Urban Farming Hidroponik Manado. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Program Studi Farmasi dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 - Desember 2018. Jenis Penelitian yang dilakukan yaitu Deskriptif Laboratorik.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain; Tabung reaksi, cawan Petri, jarum Ose, mikropipet, autoklaf, *laminar air flow*, labu Erlenmeyer, gelas ukur, inkubator, tabung *Eppendorf*, *hotplate*, pisau, pinset, pipet, mikropipet, tips, *Jar* Fermentasi, timbangan analitik, mikroskop, pengaduk, *refrigerator*, sentrifus, bunshen, masker, sarung tangan, kardus, kantong plastik hitam, kamera dan gunting. Bahan yang digunakan yaitu selada Romain, MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) agar, nutrien agar, nutrien broth, alkohol, garam, aquades, antibiotic Ciprofloxacin, CaCO₃, bakteri uji *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers (ATCC[®] 25922), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC[®] 25923), natrium asam

taurodeoksikolat, gliserol, spritus, aluminium foil.

Cara Kerja

Fermentasi

Sebelum difermentasi, selada Romain dibersihkan dan dipotong-potong. Setelah potongan selada dimasukkan kedalam *jar* fermentasi yang sudah berisi larutan garam 10%. Selada difermentasikan pada suhu ruang selama 4 hari di dalam *jar* Fermentasi yang ditutup rapat dalam keadaan gelap yaitu dengan dibungkus menggunakan kantong plastik hitam dan ditutup dengan gardus pada suhu kamar (Tallei 2018, komunikasi pribadi). Cairan hasil fermentasi yang mengandung BAL kemudian digunakan dalam prosedur selanjutnya.

Isolasi Bakteri

Cairan hasil fermentasi diencerkan dengan pengenceran sampai 10^{-5} . Sebanyak 100 μ l cairan dipipet dari masing-masing tabung dan ditumbuhkan di media MRS agar. Selanjutnya diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C (Lawalata *et al.*, 2011). Setelah bakteri tumbuh, masing-masing koloni yang di sekitarnya berwarna bening dimurnikan pada MRS agar yang baru dengan metode *streak plate* yakni dengan cara menggoreskan jarum Ose yang terdapat bakteri pada media agar. Setelah itu, isolat murni di pindahkan ke MRS agar miring untuk ditumbuhkan dan digunakan untuk prosedur selanjutnya.

Skrining Aktivitas Antibakteri

BAL yang telah dimurnikan kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli* dan

Staphylococcus aureus. Metode yang digunakan yaitu *agar well diffusion method* (Balouiri *et al.*, 2015). Sebelum dilakukan pengujian, *E. coli* dan *S. aureus* diukur kekeruhannya mengikuti standar kekeruhan McFarland. Setelah itu sebanyak 500 μ l bakteri dipipet dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi berisi 50 mL nutrien agar.

Sebanyak 10 mL nutrien agar dituang ke dalam cawan petri yang telah diberi 4 pencadang (*stainless-steel cylinder*) untuk membuat sumuran. Setelah media memadat, ditambahkan lagi 10 mL nutrien agar yang telah dicampur dengan bakteri uji (*E. coli* atau *S. aureus*). Selanjutnya media dibiarkan sampai mengeras dan pencadang dikeluarkan kembali sehingga terbentuk sumuran.

Bakteri uji terlebih dahulu ditumbuhkan pada *Eppendorf* yang berisi nutrien broth dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, bakteri uji di *heatkill* dengan suhu 60°C selama 2 jam di termoblok. Masing-masing isolat bakteri yang telah di *heatkill* disisihkan, sebagian divortex dan bagian lainnya tidak di vortex. Selanjutnya semua tabung yang berisi isolat disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 2 menit untuk memperoleh supernatan.

Setelah itu, sebanyak 100 μ l supernatan dimasukkan kedalam sumuran. Kontrol positif yang digunakan yaitu 50 μ g/ 50 mL ciprofloxacin dan untuk kontrol negatif digunakan H₂O steril. Cawan petri kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 3 hari untuk melihat diameter zona hambat yang dihasilkan oleh BAL. Diameter zona hambat diukur setiap hari

menggunakan penggaris dan dihitung berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Adam *et al.* (2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat

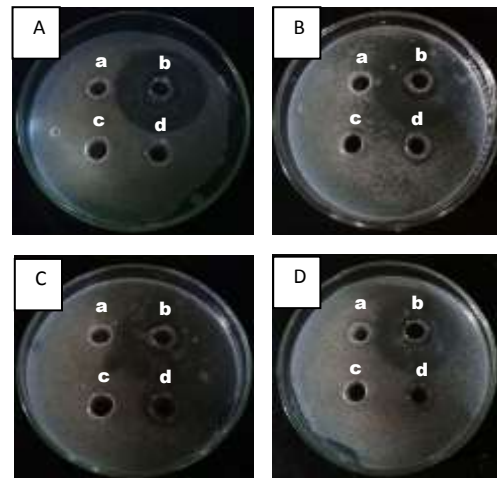
Bakteri Asam Laktat (BAL) diperoleh dari hasil fermentasi selada Romain yang dilakukan secara anaerob pada konsentrasi garam 10% selama 4 hari. Selama proses fermentasi, terjadi konversi karbohidrat menjadi asam laktat, dihari yang pertama dan kedua adalah waktu proses pertumbuhan BAL juga pada hari yang ketiga asam laktat mengeluarkan asam organik dan pada proses fermentasi hari keempat asam laktat yang berperan sebagai antibakterinya. Cairan hasil fermentasi diencerkan sampai pengenceran 10^{-5} dan kemudian ditebar pada MRS agar yang mengandung CaCO_3 1 % lalu di inkubasi. Dari hasil inkubasi terlihat koloni-koloni bakteri yang berbeda secara morfologi yang menandakan bahwa koloni tersebut mampu bertahan pada konsentrasi garam tinggi, hal ini sesuai dengan karakteristik BAL (Gomes *et al.*, 2010).

Koloni bakteri yang tumbuh memiliki zona bening di sekitarnya, zona bening ini adalah kalsium laktat yang merupakan produk akhir dari reaksi antara asam laktat yang diproduksi oleh bakteri dan CaCO_3 yang ada pada media. Hal ini merupakan salah satu indikator yang menjadi penentu dalam pemilihan koloni yang kemudian dimurnikan. Koloni yang dimurnikan diambil dari pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} menggunakan metode *streak plate* yang kemudian didapat 4 isolat murni yang diberi nama AS1, AS2, AS3 dan AS4.

Uji Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan guna untuk melihat apakah ke empat isolat memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri patogen seperti *E. coli* dan *S. aureus*. Dalam pengujian ini digunakan kontrol positif Ciprofloxacin 50 $\mu\text{g}/50\text{mL}$ dan kontrol negatif H_2O steril.

Pada uji efektivitas BAL sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang dihasilkan selama 3 hari waktu inkubasi pada suhu 37°C dan dibandingkan dengan zona hambat kontrol positifnya.



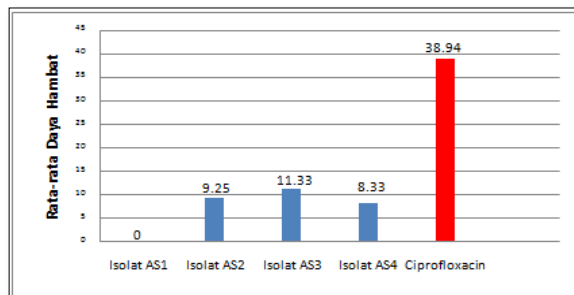
Gambar 1. Aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *S. aureus* (A) isolat AS1, (B) isolat AS2, (C) isolat AS3 dan (D) isolat AS4 dengan a = Aquades steril (+), b = Antibiotik Ciprofloxacin (+), c = Isolat yang tidak divortex dan d = Isolat yang divortex

Seperti yang terlihat pada Gambar 1, isolat AS1 tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* karena tidak terdapat zona bening disekitar sumuran, sedangkan isolat AS2, AS3 dan AS4 memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona

bening disekitar sumuran. Besarnya diameter zona bening yang dihasilkan berbeda-beda pada setiap isolat. Zona bening yang dihasilkan dari setiap isolat dan kontrol positif yang di beri kedalam sumuran diukur besar zona hambatnya setiap hari selama 3 hari pengamatan.

Tabel 1. Diameter zona hambat (mm) pada pengamatan 1 x 24-78 jam isolat AS1, AS2, AS3 dan AS4 terhadap bakteri patogen *S. aureus*

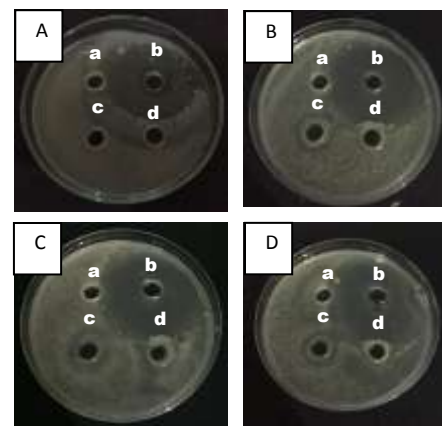
Isolat	Daya hambat	Diameter zona hambat (mm)			
		Hari 1	Hari 2	Hari 3	Rerata
AS1	Isolat	-	-	-	-
	Kuinolon (+)	-	-	-	-
	Aquades (-)	-	-	-	-
AS2	Isolat	9,5	9	9,25	9,25
	Kuinolon (+)	38	36,5	40,5	38,33
	Aquades (-)	0	0	0	0
AS3	Isolat	12	11	11	11,33
	Kuinolon (+)	37,5	37,5	38,5	37,83
	Aquades (-)	0	0	0	0
AS4	Isolat	9	7,5	8,5	8,33
	Kuinolon (+)	39,5	39,5	43	40,67
	Aquades (-)	0	0	0	0



Gambar 2. Zona hambat BAL hasil fermentasi selada Romain terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*

Terlihat dari hasil yang diperoleh bahwa isolat yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar adalah AS3 yaitu sebesar 11.33 mm. Kontrol positif menunjukkan daya hambat yang besar yaitu dengan rerata 38.94 mm sedangkan kontrol

negatif tidak memperlihatkan adanya zona hambat disekitar sumuran, ada yang pada bagian yang di vortex. Hal ini membuktikan bahwa isolat AS2, AS3 dan AS4 memiliki senyawa antibakteri seperti bakteriosin, bakteriosin merupakan suatu protein yang berada di dalam sel bakteri sehingga salah satu cara untuk memperolehnya adalah dengan membuat sel bakteri lisis. Faktor lain yang mungkin membuat ketiga isolat memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* yaitu pH media yang turun karena asam laktat dan asam asetat yang diproduksinya, senyawa asam ini membuat bakteri patogen tidak mampu bertahan. Selain itu terdapat hidrogen peroksida yang merupakan senyawa toksik yang dapat membuat bakteri patogen seperti *S. aureus* mengalami apoptosis.



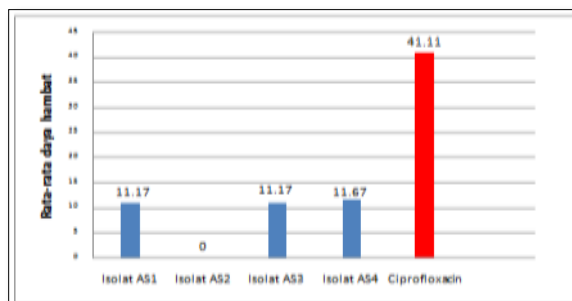
Gambar 3. Aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *E. coli* (A) isolat AS1, (B) isolat AS2, (C) isolat AS3 dan (D) isolat AS4. Dengan a = Aquades steril (+), b= Antibiotik Ciprofloxacin (+), c = Isolat yang tidak di vortex dan d = Isolat yang di vortex

Pengujian efektivitas BAL sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*

dilakukan sama seperti pengujian antibakteri pada *Staphylococcus aureus*. Pada Gambar 3 terlihat bahwa isolat AS1, AS3 dan AS4 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *E. coli*. Hal ini terlihat dari zona bening yang terbentuk disekitar sumuran, sedangkan isolat AS2 tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar sumuran. Pengamatan dilakukan selama 3 hari dan setiap hari diukur besar zona hambat yang terbentuk. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter zona hambat (mm) pada pengamatan 1x24-78 jam isolat AS1 terhadap bakteri patogen *E. coli*.

Isolat	Daya hambat	Diameter zona hambat (mm)			
		Hari 1	Hari 2	Hari 3	Rerata
AS1	Isolat	11.45	11	11	11.17
	Kuinolon (+)	40.5	41	41	40.83
	Aquades (-)	0	0	0	0
AS2	Isolat	-	-	-	-
	Kuinolon (+)	-	-	-	-
	Aquades (-)	-	-	-	-
AS3	Isolat	11.5	11	11	11.17
	Kuinolon (+)	42	42	42.5	42.17
	Aquades (-)	0	0	0	0
AS4	Isolat	12	11.5	11.5	11.67
	Kuinolon (+)	41	40	40	40.33
	Aquades (-)	0	0	0	0



Gambar 7. Zona hambat BAL hasil fermentasi selada Romain terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*

Berdasarkan hasil yang diperoleh, isolat AS1, AS3 dan AS4 memiliki aktivitas antibakteri rerata yang paling besar terhadap *E. coli*, yaitu sebesar 11.67 mm. Kontrol positif menunjukkan rerata daya hambat sebesar 41.11 mm, sedangkan kontrol negatif tidak memperlihatkan adanya zona hambat disekitar sumuran.

Berdasarkan hasil pengujian antibakteri isolat AS1 terhadap *S. aureus* dan isolat AS2 terhadap *E. coli* menunjukkan bahwa kedua isolat ini tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Hal ini dikarenakan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi efektivitas antibakteri yaitu jenis, jumlah, umur dan latar belakang kehidupan bakteri juga temperatur (Frazier dan Westof, 1998).

Luas lingkaran daya hambat terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dihitung menggunakan rumus $\pi \times r^2$ sehingga hasil diperoleh, dimana r merupakan jari-jari yang diperoleh dari Diameter dibagi dua. Dengan $\pi = 3.14$.

Tabel 3. Luas lingkaran daya hambat isolat AS1, AS2, AS3, AS4 dan AS5 terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Isolat	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	Kuinolon	Kuinolon
AS1	-	17.5369
	-	64.1031
AS2	14.5225	-
	60.1781	-
AS3	17.7881	17.5369
	59.3931	66.2026
AS4	13.0781	18.3219
	63.8519	63.3181

Dari hasil tersebut dapat dilihat perbandingan efektivitas isolat AS1, AS2, AS3 dan AS4 terhadap antibiotik kuinolon 50 µg/50mL dalam menghambat bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*. Didapat dari hasil hitungan $V1:M1 = V2:M2$, dimana V

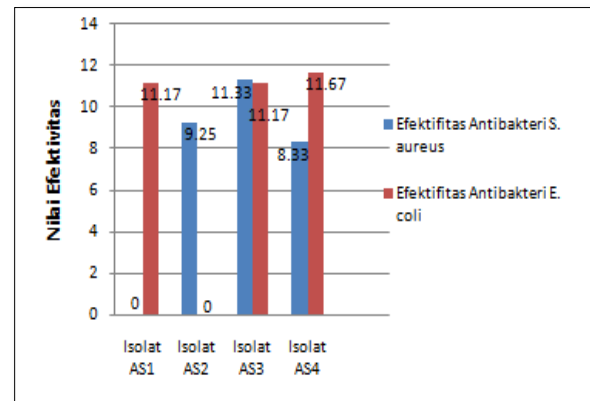
merupakan luas zona bening dan M merupakan konsentrasi supernatan dan antibiotik yang digunakan.

Tabel 4. Perbandingan efektivitas BAL hasil fermentasi selada Romain dengan antibiotik ciprofloxacin 50µg/50mL dalam menghambat bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*

Isolat	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	M _i (µg/mL)	M _i (µg/mL)
AS1	-	1.368
AS2	1.206	-
AS3	1.505	1.324
AS4	1.024	1.447

Dengan demikian, hasil perbandingan efektivitas isolat BAL hasil fermentasi selada Romain yang menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing isolat AS1, AS2, AS3 dan AS4 dengan rerata diameter pada Tabel 1 dan Tabel 2 setara dengan antibiotik kuinolon Tabel 4 yaitu pada isolat AS1 yang bisa menghambat pertumbuhan *E. coli* diameter 11.17 setara dengan konsentrasi antibiotik kuinolon 1.368 yang mampu menghambat mikroorganisme. Begitu juga isolat AS2 yang bisa menghambat pertumbuhan *S. aureus* diameter 9.25 setara dengan konsentrasi antibiotik kuinolon 1.206 yang mampu untuk menghambat mikroorganisme. Isolat AS3 yang juga bisa menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing rerata 11.33 dan 11.17 setara dengan konsentrasi antibiotik kuinolon 1.324 dan 1.505 yang mampu menghambat mikroorganisme dan isolat AS4 yang bisa menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing rerata

8.33 dan 11.67 setara dengan konsentrasi antibiotik kuinolon 1.505 dan 1.324 yang mampu untuk menghambat mikroorganisme.



Gambar 8. Perbandingan efektivitas BAL hasil fermentasi selada Romain terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Menurut Adam *et al.* Semakin besar zona hambat menunjukkan bahwa senyawa bioaktif tersebut semakin efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Walaupun demikian, zona hambat yang kecil tidak menunjukkan bahwa senyawa aktif tersebut kurang efektif, akan tetapi konsentrasinya yang belum mencapai konsentrasi yang efektif untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Senyawa antibakteri dari BAL menunjukkan zona bening yang jelas disebabkan adanya aktivitas bakteriosin yang memiliki *single inactivation* yang artinya satu molekul bakteriosin akan membunuh satu sel bakteri indikator. Bakteriosin juga mencegah sintesis peptidoglikan yang utuh, sehingga dinding sel bakteri akan melemah dan akibatnya bakteri mengalami lisis. Adanya akumulasi metabolit primer berupa asam laktat, etanol dan karbondioksida ataupun karena metabolit sekunder berupa senyawa

hydrogen peroksida dan bakteriosin memungkinkan terjadinya aktivitas penghambatan. Menurut Morales *et al.* (2003), aktivitas zona hambat dikelompokkan menjadi empat kategori yaitu aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (>10-20 mm) dan sangat kuat (>20-30 mm). Dari hasil yang diperoleh dapat dikategorikan aktivitas zona hambat ada dikategori sedang sampai kuat dalam aktivitas penghambatan bakteri patogen. Bakteriosin yang merupakan senyawa protein yang dieksresikan oleh bakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain yaitu bakteri patogen yang pada umumnya tidak stabil dan tidak bisa bertahan pada kondisi media pertumbuhan tertentu termasuk di dalamnya untuk bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sehingga sangat tepat dalam proses penghambatan karena bakteriosin fleksibel dan stabil terhadap pH dan suhu yang cukup luas. Penggunaan bakteriosin fleksibel dan stabil terhadap pH dan suhu yang cukup luas (Rohman, 2017). Aktivitas antibakteri dari *E. faecium* salah satunya bersumber dari bakteriosin yang diproduksinya yaitu enteriosin. Spesies *Enterococci* sendiri merupakan spesies yang paling banyak memproduksi bakteriosin (Gani *et al.*, 2018) efektif untuk menangani penyakit.

KESIMPULAN

Isolat BAL hasil fermentasi selada Romain dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* yaitu isolat AS2, AS3 dan AS4 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan isolat AS1, AS3 dan AS4 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan kategori aktivitas

penghambatan sedang dan kategori aktivitas penghambatan kuat.

SARAN

Perlu di lakukan pemurnian bakteriosin yang diproduksi oleh isolat yang memiliki aktivitas antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, A. A., Posangi, J., Tumewu, E., Tallei, T.E. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak kasar tunikata *Polycarpa aurata* terhadap *Streptococcus mutans*. *Dentire Journal*. **3(2)**: 118-122.
- Balouiri, M., Saad, M.S., Ibnsouda, K. 2015. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J. Pharm. Anal.* **6(2)**:71-79.
- Belicová, A., Mikulášová, M., and Dušinský, R. 2013. Probiotic potential and safety properties of *Lactobacillus plantarum* from Slovak Bryndza Cheese. *BioMed Res.Int.* Volume 2013.
- Fontenot., Morgan, A.L., Johnson., Charles, E., Afton., William., Williams., Robert, C., Ivey, L., Melani. 2014. *Lettuce*. LSU Collage Of Agriculture, USA.
- Getahun, A., Tesfaye, A., Muleta, D. 2016. Investigation of the Potential Benefits and Risks of Probiotics and Prebiotics and their Synergy in Fermented Foods. *Singapore Journal of Chemical Biology*. **6(1)**: 1-16.
- Juodeikiene *et al.*, 2012. Fermentation Processes Using Lactic Acid Bacteria Producing Bacteriocins for Preservation and Improving

Functional Properties of Food Products. *Advances in Applied Biotechnology*. ISBN: 978-953-307-820.

Kaur, A., Aurora,M., Pandove,G. 2014. Probiotics and Its Health Benefits. *Journal of Global Biosciences*. **3(3)**: 686-693.

Salminen, S., Wright, A. V., Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., 2012. *Lactic Acid Bacteria:Microbiological and Functional Aspects*. Fourth Edition. CRC Press, United States.