



## ARTIKEL PENELITIAN—RESEARCH ARTICLE

# Uji Aktivitas Anti Kolonisasi Bakteri Asam Laktat dari Kefir Susu Kambing terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamase* pada Usus Mencit Balb/C

Qurrata'yuni Pratiwi<sup>1\*</sup>, Eustachius Hagni Wardoyo<sup>2</sup>, Eva Triani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram,

<sup>2</sup>Bagian Mikrobiologi Klinis, Fakultas kedokteran, Universitas Mataram,

<sup>3</sup>Bagian Kedokteran Tropis, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram,

\*Korespondensi:  
qurratayuni27@gmail.com

### Abstrak

**Latar belakang:** *Escherichia coli* (E.coli) adalah salah satu jenis spesies bakteri Gram negatif yang merupakan flora normal pada saluran pencernaan. Namun, berpotensi dapat menjadi patogen apabila jumlahnya dalam saluran pencernaan meningkat. Terinfeksi E.coli dapat menimbulkan beragam penyakit radang usus seperti IBD, Crohn dan kolitis ulserativa. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui potensi BAL dalam menghambat kolonisasi E.coli penghasil ESBL secara in-vivo pada mencit BALB/c.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian analitik menggunakan desain penelitian eksperimen kuasi dengan pendekatan post-test only control group design. Secara keseluruhan penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental laboratorium. Uji hambatan kolonisasi E.coli penghasil ESBL dilakukan secara in vivo dengan menggunakan mencit BALB/c berusia 6 minggu.

**Hasil:** Hasil penelitian memperlihatkan penurunan yang signifikan terhadap jumlah koloni E.coli penghasil ESBL pada mencit BALB/c yang di induksi pelet dan CFS BAL.

**Kesimpulan:** Isolat BAL yang diisolasi dari kefir susu kambing mampu menghambat kolonisasi bakteri E.coli penghasil ESBL pada usus mencit BALB/c.

**Kata Kunci:** Anti Kolonisasi, *Escherichia coli* Penghasil ESBL (ESBL-Ec), Bakteri Asam Laktat

## PENDAHULUAN

E.coli merupakan bakteri penyebab penyakit infeksi berbahaya seperti IBD, Crohn dan kolitis ulserativa.<sup>1</sup> Selain itu, terinfeksi E.coli juga dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, bakteremia, diare, diare berdarah, meningitis neonatal bahkan kematian akibat kerusakan pada sel endotelial dan rusaknya dinding pembuluh darah.<sup>2</sup> Jika sel tubuh sudah terinfeksi E.coli, maka sintesis pada sel akan terhenti.

Demikian pula jika bakteri sudah terserap usus, toksin bakteri akan masuk ke dalam aliran darah dan pada akhirnya merusak dinding pembuluh darah.<sup>3</sup>

Masalah infeksi oleh E.coli menjadi semakin kompleks dengan ditemukannya E.coli yang telah resisten terhadap berbagai antibiotik, diantaranya penisilin (100%), amoksisilin (100%), streptomisin (70%) dan trimethopim sulfametoksazol (60%).<sup>2</sup> Niasono, et al. (2019) juga melaporkan bahwa E.coli telah resisten terhadap antibiotik ampisilin (68,9%) dan asam nalidiksat (64,8%).<sup>4</sup> Menurut WHO tahun 2020, antibiotik fluoroquinolone yang biasa digunakan untuk pengobatan infeksi saluran kemih dan antibiotik sefalosporin generasi ketiga untuk pengobatan gonore juga dilaporkan telah resisten terhadap bakteri E.coli.<sup>5</sup> Resistensi antibiotik bakteri E.coli ini terkait dengan kemampuan E.coli yang dapat menghasilkan enzim ESBL (*Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase*) sehingga



dapat menghidrolisis cincin beta-laktam yang terdapat pada antibiotik beta-laktam dan menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tersebut.<sup>6</sup> Hal ini berdampak pada peningkatan morbiditas, mortalitas, dan tingginya biaya kesehatan.

Beberapa studi menemukan bahwa probiotik dapat berperan sebagai agen pencegahan dan terapeutik untuk mengeradikasi bakteri patogen melalui penghambatan adhesi sehingga tidak mampu melakukan kolonisasi.<sup>7</sup>

BAL mensintesa protein adhesi, bakteriosin, biosurfaktan dan EPS sebagai bahan antiadhesi yang secara kompetitif mampu menghambat perlekatan bakteri *E.coli* pada kolonisasi usus halus mencit BALB/c.

Studi ini dilakukan untuk mengetahui potensi BAL dalam menghambat kolonisasi *E.coli* penghasil ESBL (ESBL-Ec) secara in-vivo pada mencit BALB/c.

## METODE PENELITIAN

### Strain Bakteri

*E.coli* ESB diperoleh dari penelitian sebelumnya.<sup>8</sup> BAL diisolasi dari grain kefir susu kambing etawa.

Prosedur Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Kefir Susu Kambing (Deshmukh dan Thorat, 2013) Produk kefir susu kambing diperoleh dari Surabaya dengan merk Valenta. Sebanyak 10 ml kefir dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibuat seri pengencerannya mulai dari 10-1 sampai dengan 10-4 dengan H<sub>2</sub>O. Keempat larutan kefir susu kambing ditanam di media agar MRS (*de Mann Rogosa Sharpe*) steril dengan metode cawan sebar. Cawan diinkubasi dalam kondisi mikroaerofilik (5% CO<sub>2</sub>) dengan suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang berhasil tumbuh diinokulasi ke cawan petri berisi media agar MRS yang baru dengan metode goresan. Cawan diinkubasi dalam kondisi mikroaerofilik dengan suhu 37°C selama 48 jam.

### Penyiapan Suspensi BAL

Isolat BAL dari stock culture MYE diinokulasi dalam tabung reaksi berisi 3ml media cair MRS kemudian diinkubasi selama 16 jam dalam kondisi mikroaerofilik pada suhu 37°C.

Proses selanjutnya subkultur BAL disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan supernatan dengan pelet BAL.<sup>9</sup>

### Penyiapan Suspensi *E.coli* penghasil ESBL

Satu ose kultur *E.coli* penghasil ESBL diinokulasikan ke dalam 10 ml media NB, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kepadatan bakteri diukur menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda=480$  hingga OD=0,56-0,64 (setara  $2 \times 10^7$ - $2 \times 10^8$  CFU/ml).

### Uji Kolonisasi Usus Mencit BALB/c

Uji kolonisasi *E.coli* penghasil ESBL dilakukan menggunakan mencit BALB/c jantan berusia 6 minggu. Mencit BALB/c diberikan seftriakson (5 g/l dalam air minum) selama 48 jam. Setelah 48 jam, mencit BALB/c diinokulasi intragastrik dengan 200  $\mu$ l suspensi *E.coli* penghasil ESBL dengan OD 1 (setara  $3,0 \times 10^9$  CFU/ml). Setelah 24 jam selanjutnya mencit BALB/c diberi 200  $\mu$ l pelet BAL dengan OD 0,96-1,1 (setara  $1,9 \times 10^9$  CFU/ml), 200  $\mu$ l CFS BAL, dan 200  $\mu$ l PBS atau BHI sebagai kontrol. Kemudian feses mencit BALB/c diambil pada jam yang sama setiap hari selama 5 hari. Untuk mengukur jumlah total *E.coli* penghasil ESBL CFU/g feses, feses dihomogenisasi dalam 1 ml saline, dan kemudian dilakukan pengenceran serial menggunakan media selektif (mengandung 50 mg/l seftriakson).

### Uji Adhesi Mukosa Usus Mencit BALB/c

Untuk analisis adhesi mukosa, mencit-mencit BALB/c tersebut di korbakan pada hari ke-9. Usus mencit BALB/c diambil dan dicuci dengan saline. Untuk mengukur jumlah total *E.coli* penghasil ESBL pada usus, 1 cm panjang usus dari kolon distal ditimbang, kemudian usus digerus dan dihomogenisasi dalam 1 ml PBS (pH 6). Selanjutnya dilakukan pengenceran serial menggunakan media selektif (mengandung 50 mg/l seftriakson). Hasilnya dinyatakan dalam jumlah CFU/g jaringan.<sup>10</sup>

## HASIL

### Pengaruh Pemberian Pelet dan CFS BAL terhadap Jumlah Koloni E.coli penghasil ESBL pada Mencit BALB/c

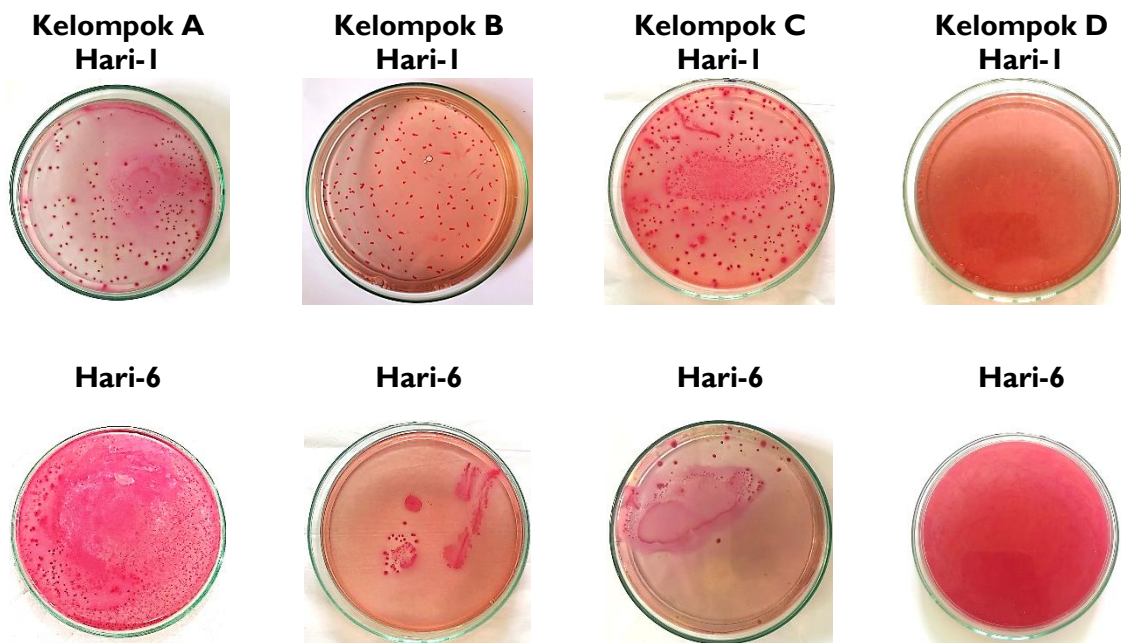
Hasil biakan feses mencit BALB/c, memperlihatkan bahwa pada kontrol positif (Kelompok A), tampak pertumbuhan koloni E.coli penghasil ESBL yang padat pada hari pertama dan semakin padat hingga hari keenam. Pada mencit BALB/c dengan perlakuan pemberian pelet BAL (Kelompok B), tampak pertumbuhan koloni bakteri E.coli penghasil ESBL yang padat di hari pertama dan terus mengalami penurunan setiap hari hingga hari keenam. Pada mencit BALB/c dengan perlakuan pemberian CFS BAL (Kelompok C), tampak pertumbuhan koloni bakteri E.coli penghasil ESBL yang padat pada hari pertama, namun terjadi penurunan hingga hari keenam. Pada kelompok mencit kontrol negatif (Kelompok D), tidak terlihat adanya pertumbuhan koloni dari hari pertama hingga hari keenam (**Gambar 1**).

Pengaruh pelet dan CFS BAL terhadap jumlah koloni E.coli penghasil ESBL pada mencit BALB/c secara in-vivo ini dilakukan dengan tiga ulangan. Hasil rata-ratanya disajikan pada **Tabel 1**.

### Pengaruh Pelet dan CFS BAL terhadap Jumlah Koloni E.coli penghasil ESBL pada kolon Mencit BALB/c

Pengamatan biakan kolon mencit BALB/c, memperlihatkan bahwa pada perlakuan kelompok mencit BALB/c kontrol positif, tampak pertumbuhan E.coli penghasil ESBL yang padat. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri E.coli penghasil ESBL dapat melakukan adhesi dan kolonisasi dengan baik pada kolon mencit BALB/c. Pada perlakuan kelompok mencit BALB/c yang diberikan CFS BAL terdapat pertumbuhan koloni bakteri E.coli penghasil ESBL namun tidak sepadat pada kontrol positif. Sedangkan pada perlakuan kelompok mencit BALB/c yang diberikan pelet BAL terlihat bahwa pertumbuhan koloni bakteri E.coli penghasil ESBL paling sedikit jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Penelitian ini dilakukan dengan tiga ulangan. Hasil rata-ratanya disajikan pada **Tabel 2**.



**Gambar 1.** Biakan Feses Mencit BALB-C pada Media MacConkey Agar.

**Tabel 1.** Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *E.coli* penghasil ESBL pada Feses Mencit BALB/c

Hari	Jumlah Koloni <i>E.coli</i> penghasil ESBL pada MacConkey Agar Per 1cc Homogenat Feses Mencit BALB/c			
	A (Kontrol +)	B (Pemberian Pelet)	C (Pemberian CFS)	D (Kontrol -)
1	$2.03 \times 10^5$	$1.76 \times 10^5$	$4.00 \times 10^5$	0
2	$3.34 \times 10^5$	$1.32 \times 10^5$	$2.53 \times 10^5$	0
3	$4.36 \times 10^5$	$4.56 \times 10^4$	$1.66 \times 10^5$	0
4	$5.40 \times 10^5$	$1.44 \times 10^4$	$6.91 \times 10^4$	0
5	$7.40 \times 10^5$	$1.58 \times 10^3$	$1.63 \times 10^4$	0
6	$9.00 \times 10^5$	$7.10 \times 10^2$	$3.69 \times 10^3$	0



**Gambar 2.** Biakan Kolon Mencit BALB/C pada Media Macconkey Agar.

**Tabel 2.** Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *E.coli* penghasil ESBL pada Kolon Mencit BALB/c

Replikasi	Jumlah Koloni <i>E.coli</i> penghasil ESBL pada MacConkey Agar Per 1cc Homogenat Kolon Mencit BALB/c			
	A (Kontrol +)	B (Pemberian Pelet)	C (Pemberian CFS)	D (Kontrol -)
1	$8.6 \times 10^5$	$5.7 \times 10^2$	$1.8 \times 10^3$	0
2	$6.9 \times 10^5$	$2.4 \times 10^2$	$1.6 \times 10^3$	0
3	$7.3 \times 10^5$	$3.3 \times 10^2$	$2.0 \times 10^3$	0
Rata-rata	$7.6 \times 10^5$	$3.8 \times 10^2$	$1.8 \times 10^3$	0

## PEMBAHASAN

Meskipun *E.coli* penghasil ESBL adalah flora normal yang berada di saluran pencernaan manusia, namun juga merupakan patogen umum yang dapat menyebabkan infeksi.<sup>11,12</sup> Munculnya *E.coli* penghasil ESBL yang resisten terhadap berbagai antibiotic menjadi masalah besar karena terbatasnya pilihan terapi yang tersedia serta morbiditas dan mortalitas yang signifikan yang disebabkan oleh infeksi *E.coli* penghasil ESBL.<sup>13,14</sup> Oleh karena itu, dibutuhkan strategi baru untuk

perawatan pada individu yang terinfeksi *E.coli* penghasil ESBL ini.

Penghitungan koloni *E.coli* penghasil ESBL dari feses dan kolon mencit BALB/c pada media agar MacConkey menunjukkan bahwa pada studi ini, mencit BALB/c tanpa diinduksi apapun, tidak memperlihatkan adanya koloni *E.coli* penghasil ESBL sejak hari pertama hingga hari keenam kultur feses mencit BALB/c pada media agar MacConkey. Hal ini bertentangan dengan pernyataan Brabb, et al. (2012) yang menyatakan bahwa terdapat sekitar 5% bakteri *E.coli* pada usus dan saluran pencernaan sebagai flora normal. Tidak ditemukannya koloni *E.coli* sejak hari pertama hingga hari keenam kultur feses mencit BALB/c



karena sebelumnya mencit telah dipapar dengan antibiotic seftriakson selama 48 jam, sehingga mengeradikasi flora normal E.coli. Sementara itu, kelompok mencit BALB/c yang di induksi dengan E.coli penghasil ESBL namun tanpa perlakuan pemberian pellet maupun CFS BAL, menunjukkan padatnya koloni E.coli penghasil ESBL pada media agar MacConkey. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri E.coli penghasil ESBL dapat melakukan adhesi dan kolonisasi dengan baik pada usus mencit BALB/c. Ketika masuk ke dalam tubuh, E.coli penghasil ESBL langsung melekat atau menempel pada sel epitel. Setelah menempati tempat infeksi primer, bakteri memperbanyak diri dan menyebar secara langsung ke aliran darah melalui jaringan atau sistem limfatik. Proses infeksi memungkinkan bakteri menyebarluas dalam tubuh dan mencapai jaringan yang cocok untuk multiplikasinya.<sup>15</sup>

BAL menunjukkan aktivitas penghambatan adhesi dan kolonisasi yang baik terhadap E.coli penghasil ESBL. Efek penghambatan ini ditunjukkan melalui penurunan jumlah koloni E.coli penghasil ESBL pada mencit BALB/c yang di induksi pelet dan CFS BAL. Temuan ini menunjukkan peran yang menjanjikan untuk BAL dalam pengobatan infeksi E.coli penghasil ESBL. BAL adalah salah satu dari sejumlah probiotik yang dianggap aman sebagai terapi yang memodulasi kekebalan tubuh. Bakteri probiotik memiliki peran perlindungan potensial terhadap patogen melalui mekanisme yang berbeda termasuk produksi senyawa antimikroba, penghambatan adhesi bakteri patogen pada reseptor epitel, stimulasi kekebalan tubuh dan kompetisi dalam mengikat inang. Selain itu, BAL dapat menghasilkan asam laktat, asam asetat, asam format dan asam lainnya untuk mengurangi pH usus, yang mungkin merupakan mekanisme yang paling penting. Bakteri ini juga dapat mengeluarkan molekul antimikroba tertentu, seperti etanol, asam lemak, hydrogen peroksida dan bakteriosin untuk mengeradikasi bakteri.<sup>16,17</sup> Etanol merupakan produk antara yang selanjutnya dapat dikonversi menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub> sebagai produk akhirnya. CO<sub>2</sub> mampu merusak membran sel bakteri patogen dengan menurunkan level pH di bagian luar dan dalam membran sel. Senyawa lainnya yang diproduksi oleh BAL adalah senyawa diacetyl yang merupakan produk dari metabolisme asam sitrat. Senyawa diacetyl diketahui mampu

berinteraksi dengan bagian guanida arginin pada enzim-enzim mikroba patogen sehingga enzim tersebut menjadi inaktif akibat *blocking* diacetyl pada bagian katalitik enzim.<sup>18</sup> Peroksida bekerja dengan cara mengoksidasi membran lipid serta protein-protein yang ada dalam sel bakteri patogen.<sup>19,20</sup> Bakteriosin adalah metabolit sekunder dari bakteri yang memiliki sifat antimikroba bagi bakteri lainnya. Bakteriosin dapat dihasilkan oleh berbagai macam bakteri dalam kondisi tertentu. Namun, bakteriosin yang diproduksi oleh BAL diketahui telah terbukti aman bagi manusia apabila dikonsumsi karena telah banyak digunakan dalam industri makanan/minuman dan termasuk ke dalam kategori GRAS (*Generally Recognized as Safe*).<sup>21</sup>

Penjelasan lain mengenai aktivitas anti adhesin dan kolonisasi bakteri BAL, menurut Reid, *et al.* (1999), aktivitas BAL dalam menghambat proses adhesi bakteri patogen berkaitan dengan kemampuannya memproduksi biosurfaktan. BAL mampu mensekresikan biosurfaktan yang berpotensi sebagai bahan anti-adhesin untuk mencegah perlekatan bakteri patogen pada suatu substrat sebagai tahap awal proses pembentukan biofilm.<sup>22</sup> Penelitian lain yang dilakukan oleh Shokouhfar, *et al.* (2015) membuktikan bahwa aktifitas anti-adhesin oleh biosurfaktan dari *Lactobacillus acidophilus* terhadap patogen pembentuk biofilm *Serratia marcescens*. Biosurfaktan tersebut mempengaruhi interaksi antar sel bakteri melalui perubahan tegangan permukaan dan muatan dinding sel, kedua faktor tersebut dibutuhkan untuk perlekatan sel bakteri dengan permukaan substrat maupun antar sel bakteri.<sup>23</sup>

Pada penelitian lain diketahui bahwa BAL memiliki kemampuan untuk menghambat beberapa patogen bakteri, termasuk *Clostridium difficile*<sup>24</sup>, *Shigella* spp.,<sup>25</sup> *Streptococcus mutans*<sup>26</sup> dan *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>27</sup> Dua laporan telah menyajikan bukti untuk mekanisme spesifik yang dikembangkan oleh strain *Lactobacillus* probiotik, dimana strain probiotik dapat bersaing melawan patogen bakteri dalam ekologi usus.<sup>28</sup>

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak dilakukannya identifikasi isolat BAL sehingga peneliti tidak mengetahui spesies BAL apa yang berperan dalam mekanisme aktivitas anti kolonisasi ini. Selain itu perlu dilakukan penelitian tersendiri apakah pemberian BAL dapat





mempengaruhi fungsi mikrobiota normal pada saluran pencernaan.

## KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa BAL merupakan strain probiotik potensial karena mampu menghambat kolonisasi bakteri *E.coli* penghasil ESBL.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Khan S, Imran A, Malik A, Chaudhary AA, Rub A, Jan AT, et al. Bacterial imbalance and gut pathologies: Association and contribution of *E. coli* in inflammatory bowel disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* [Internet]. 2018;56(1):1–17. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408363.2018.1517144>
2. Normaliska R, Sudarwanto MB, Latif H. Pola Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli* Penghasil ESBL dari Sampel Lingkungan di RPH-R Kota Bogor. *Acta Vet Indones*. 2019;7(2):42–8.
3. Lubis PN, Ferasyi TR, Rastina, Isa M, Nazaruddin, Etriwati. Angka Prevalensi Cemaran Bakteri *Escherichia Coli* Pada Tangan Pedagang Daging Ayam Broiler Di Dua Pasar Tradisional Kota Banda Aceh. *J Ilm Mhs Vet*. 2020;4(3):65–72.
4. Niasono A, Latif H, Purnawarman T. Resistensi Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* yang Diisolasi dari Peternakan Ayam Pedaging di Kabupaten Subang, Jawa Barat. *Veteriner* [Internet]. 2019;20(2):187–95. Available from: <http://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet>
5. World Health Organization. Antimicrobial Resistance. 2020;
6. Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8:1–15.
7. Pamer EG. Resurrecting the intestinal microbiota to combat antibiotic-resistant pathogens. *Science* (80-). 2016;352(6285):535–8.
8. John SAE, Wardoyo EH, Triani E. Hubungan Durasi Kontak Harian Dan Lama Kerja Terhadap Kolonisasi *E.coli* Penghasil Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL-Ec) Pada Peternak Ayam Di Desa Unggas Teruwai, Kabupaten Lombok Tengah. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Mataram; 2020.
9. Maldonado NC, Silva De Ruiz C, Cecilia M, Nader-Macias ME. A simple technique to detect *Klebsiella* biofilm-forming strains. Inhibitory potential of *Lactobacillus fermentum* CRL 1058 whole cells and products. *Commun Curr Res Educ Top Trends Appl Microbiol*. 2007;(May 2014):52–9.
10. Lagrèfeuille R, Miquel S, Balestrino D, Vareille-Delarbre M, Chain F, Langella P, et al. Opposing effect of *Lactobacillus* on in vitro *Klebsiella*

- pneumoniae* in biofilm and in an in vivo intestinal colonisation model. *Benef Microbes*. 2017;9(1):87–100.
11. Lai YC, Lin AC, Chiang MK, Dai YH, Hsu CC, Lu MC, et al. Genotoxic *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. *PLoS One*. 2014;9(5):1–9.
  12. Jean SS, Lee NY, Tang HJ, Lu MC, Ko WC, Hsueh PR. Carbapenem-resistant enterobacteriaceae infections: Taiwan aspects. *Front Microbiol*. 2018;9(NOV):1–11.
  13. Rodríguez-Baño J, Gutiérrez-Gutiérrez B, Machuca I, Pascual A. Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31(2):1–42.
  14. Tang H-L, Lai Y-C, Chiou C-S, Liu P-Y, Weng L-L, Hou W, et al. Liver abscess caused by *Klebsiella pneumoniae* in a red-footed tortoise. *J Microbiol Immunol Infect*. 2015;1–3.
  15. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 24th editi. McGraw-Hill; 2007. 273–275 p.
  16. Georgieva R, Yocheva L, Tserovska L, Zhelezova G, Stefanova N, Atanasova A, et al. Antimicrobial activity and antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. intended for use as starter and probiotic cultures. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 2015;29(1):84–91.
  17. Raras TYM, Firdausy AF, Kinanti IR, Noorhamdani N. Anti-Biofilm Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Kefir against Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Pure Appl Microbiol*. 2019;13(2):983–92.
  18. Russell NJ, Gould GW, editors. Food Preservatives. New York: Springer Science & Business Media; 2012. 294 p.
  19. Improving Food Safety Through a One Health Approach: Workshop Summary. Washington (DC): National Academies Press (US); 2012.
  20. Kasra-Kermanshahi R, Mobarak-Qamsari E. Inhibition effect of Lactic acid bacteria against food born pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Appl Food Biotechnol*. 2015;2(4):11–9.
  21. Bosch M, Rodriguez M, Garcia F, Fernández E, Fuentes MC, Cuñé J. Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* CECT 7315 and CECT 7316 isolated from faeces of healthy children. *Lett Appl Microbiol*. 2012;54(3):240–6.
  22. Rodrigues L, Banat IM, Teixeira J, Oliveira R. Biosurfactants: Potential applications in medicine. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57(4):609–18.
  23. Shokouhfard M, Kermanshahi RK, Shahandashti RV, Feizabadi M, Teimourian S. The inhibitory effect of a *Lactobacillus acidophilus* derived biosurfactant on biofilm producer *Serratia marcescens*. *Iran J Basic Med Sci*. 2015;18(19):1001–7.
  24. McFarland L V. Probiotics for the primary and secondary prevention of *C. difficile* infections: A meta-analysis and systematic review. *Antibiotics*. 2015;4(2):160–78.
  25. Mirnejad R, Vahdati AR, Rashidani J, Erfani M, Piranfar V. The antimicrobial effect of *Lactobacillus casei* culture supernatant against multiple drug



- resistant clinical isolates of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* in vitro. *Iran Red Crescent Med J.* 2013;15(2):122–6.
26. Ahn KB, Baik JE, Park O-J, Yun C-H, Han SH. Lactobacillus plantarum lipoteichoic acid inhibits biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *PLoS One.* 2018;13(2).
27. Jamalifar H, Rahimi HR, Samadi N, Shaverdi AR, Sharifian Z, Hosseini F, et al. Antimicrobial activity of different Lactobacillus species against multi-drug resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Iran J Microbiol.* 2011;3(1):21–5.
28. Deriu E, Liu JZ, Pezeshki M, Edwards RA, Ochoa RJ, Contreras H, et al. Probiotic bacteria reduce salmonella typhimurium intestinal colonization by competing for iron. *Cell Host Microbe.* 2013;14(1):26–37.
- arnida, H., Sukawaty, Y., dan Aulya, M.A. Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Pulveres pada Puskesmas di Kota Balikpapan. *Jurnal Ilmu Kesehatan.* 2018; 6(1).