

**EVALUASI *IN VITRO* TERHADAP KEMAMPUAN ISOLAT
Lactobacillus plantarum 1 DALAM MENGASIMILASI KOLESTEROL
DAN MENDEKONJUGASI GARAM EMPEDU**

***IN VITRO* EVALUATION OF CHOLESTEROL ASSIMILATION AND
BILE SALT DECONJUGATION by *Lactobacillus plantarum* 1**

Andre Pranata¹, Yusmarini², Netti Herawati²
Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas
Pertanian, Universitas Riau, 28293, Indonesia
andrepranata91@gmail.com

ABSTRACT

Several studies have shown that lactic acid bacteria can reduce cholesterol. The aim of the study was to evaluate the ability of *Lactobacillus plantarum* 1 that isolated from spontaneous fermented soymilk in reducing cholesterol by assimilation and by bile salt conjugation. Experimental method used to test the ability of *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2, *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 and *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 to assimilate cholesterol and to deconjugate bile salt. Cholesterol assimilation activity was determined by measuring the difference between remaining cholesterol in control medium and medium that inoculated by LAB. Bile salt deconjugation ability of LAB was determined by measuring free cholic acid released. The result showed that *Lactobacillus plantarum* R.11.1.2 and R.1.3.2 can assimilate cholesterol 0,56 µg/ml dan 0,48 µg/ml and can deconjugate sodium taurocholic 0,55 µmol/ml and 0,58 µmol/ml. *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 and *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 can assimilate cholesterol 0,38 µg/ml dan 0,49 µg/ml and can deconjugate sodium taurocholic 0,58 µmol/ml and 0,55 µmol/ml.

Keywords: *Spontaneous fermented soymilk, lactic acid bacteria, cholesterol assimilation, Bile salt deconjugation.*

PENDAHULUAN

Keanekaragaman produk pangan yang banyak mengandung bahan pengawet, pewarna, pemanis dan penyedap rasa memicu timbulnya berbagai macam penyakit berbahaya. Salah satu penyakit berbahaya yang ditakuti manusia adalah penyakit kardiovaskular yang merupakan salah satu penyakit yang dapat menyebabkan kematian.

Penyakit kardiovaskular erat kaitannya dengan kelebihan kolesterol di dalam tubuh atau lebih dikenal dengan hiperkolesterolemia. Tingginya kadar kolesterol di dalam darah yang melebihi batas normal merupakan faktor penyebab utama terjadinya penyempitan pembuluh darah sehingga memicu timbulnya berbagai macam penyakit berbahaya seperti stroke dan jantung koroner. Salah satu upaya yang dapat

dilakukan untuk mencegah penyakit tersebut adalah dengan mengkonsumsi makanan yang bersifat dapat menurunkan kadar kolesterol atau bersifat hipokolesterolemik.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri asam laktat dapat menurunkan kolesterol baik secara langsung yaitu dengan mengasimilasi kolesterol dan secara tidak langsung yaitu dengan mendekongjugasi garam empedu.

Hasil penelitian menyatakan bahwa terdapat beberapa contoh bakteri asam laktat yang dapat menurunkan kolesterol yaitu *Lactobacillus plantarum* (Brushan, 2005), *Lactobacillus* sp. Mar 8 (Yulinery dkk., 2006), *Lactobacillus plantarum* FNCC 250 dan *Lactobacillus* sp. FNCC 401 (Ngatirah, 2000).

Yusmarini dkk. (2009) telah mengisolasi BAL proteolitik dari susu kedelai terfermentasi spontan yaitu *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2. Hasil penelitian selanjutnya yang dilakukan oleh Yusmarini dkk. (2010) menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 mampu menghasilkan produk fermentasi susu kedelai yang bersifat hipokolesterolemik.

Bahan dan alat

Isolat bakteri asam laktat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 dan *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 (Koleksi pribadi Dr. Yusmarini, S.Pt., M.P.). Sebagai pembanding digunakan isolat BAL *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040. Bahan

kimia yang digunakan untuk analisis adalah MRS Broth, oxgall, kolesterol murni, natrium tioglikolat, reagen oftalaldehid, reagen furfuraldehid, etil asetat, 2-propanol, asam asetat glasial, akuades, n-heksana, gas nitrogen, etanol, KOH, NaOH, H₂SO₄ pekat, NaCl dan HCl.

Peralatan gelas yang digunakan pada penelitian adalah tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri, pipet kaca, gelas ukur serta gelas piala. Peralatan lainnya yang digunakan untuk analisis adalah timbangan analitik, spektrofotometer, sentrifuse, termometer, pH meter, *waterbath shaker* dan *automatic mixer*.

Peralatan lain yang digunakan adalah *laminar-flow*, *hot plate*, *autoclave*, inkubator, mikro pipet tabung gas nitrogen, refrigerator, jarum *ose*, batang pengaduk, penjepit, alumunium foil, spatula, tip, lampu bunsen, rak tabung reaksi, spatula, tisu, kertas label dan alat-alat tulis.

Metode penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen dengan cara menguji kemampuan isolat *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2, *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongjugasi garam empedu. Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis secara statistik.

Pelaksanaan Penelitian

Sterilisasi Peralatan

Peralatan yang digunakan terlebih dahulu dicuci dengan sabun sampai bersih, kemudian dikeringkan dalam alat pengering dan dihindarkan dari kotoran atau debu. Setelah dikeringkan semua peralatan

gelas (tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, pipet tetes kaca, gelas ukur dan gelas piala) serta tip disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas koran. Jarum ose disterilisasi dengan cara pemijaran di atas lampu bunsen sampai pijar.

Pembuatan media MRS Broth untuk Perbanyak Bakteri

MRS Broth ditimbang sebanyak 2,61 g lalu dilarutkan dengan akuades hingga volume menjadi 50 ml dan diaduk hingga rata. Larutan didistribusikan ke dalam sepuluh tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml, ditutup dengan kapas padat dan dilapisi aluminium foil. Kemudian larutan disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium ini siap digunakan untuk perbanyak bakteri.

Perbanyak Bakteri

Isolat *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2, *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2, *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040. masing-masing diinokulasikan sebanyak 1 ose ke dalam tabung reaksi yang berisi medium MRS Broth 5 ml. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator sehingga diperoleh kultur aktif yang ditandai dengan berubahnya warna menjadi keruh.

Uji Asimilasi Kolesterol

Uji asimilasi kolesterol mengacu pada Nuraida dkk. (2011). Kolesterol dilarutkan dengan 2-propanol (0,0025 g/ml 2-propanol). Medium MRS Broth yang mengandung

0,0506 g natrium tioglikolat dan 0,0755 g oxgall, kemudian ditambahkan kolesterol steril (0,0025 g/ml dalam 2-propanol) sehingga konsentrasi akhir kolesterol dalam MRS broth 95 µl/ml. Sebanyak 10 ml campuran tersebut diinokulasi dengan 0,1 ml kultur BAL dan dinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi sel dipisahkan dari larutan dengan sentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 4000 rpm.

Sebanyak 1 ml supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi (dibuat duplo untuk masing-masing sampel). Selanjutnya ke dalam tabung reaksi tersebut ditambahkan 3 ml etanol 95% lalu diaduk dengan *vortex* dan ditambahkan 2 ml KOH 50% lalu diaduk dengan *vortex* kembali. Kemudian tabung reaksi dipanaskan dengan *waterbath shaker* pada suhu 60°C selama 10 menit lalu dibiarkan hingga mencapai suhu kamar, setelah itu ditambahkan 5 ml n-heksana. Setelah penambahan n-heksana, tabung berisi larutan diaduk dengan *vortex* lalu ditambahkan 3 ml akuades dan diaduk dengan *vortex* kembali. Larutan dibiarkan selama 15 menit pada suhu kamar hingga terjadi pemisahan.

Sebanyak 2,5 ml lapisan heksana yang terpisah dipindahkan ke dalam tabung reaksi lain kemudian dikeringkan dengan gas nitrogen. Setelah dikeringkan, ke dalam masing-masing tabung reaksi ditambahkan 4 ml reagen *oftalaldehida*. Tabung dibiarkan pada suhu kamar selama 10 menit kemudian ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat secara perlahan dengan cara meneteskannya pada dinding tabung reaksi. Selanjutnya isi tabung segera diaduk dengan *vortex* dan dibiarkan kembali pada suhu kamar

selama 10 menit. Larutan tersebut dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Konsentrasi kolesterol ditentukan berdasarkan kurva standar kolesterol.

Uji Dekonjugasi Natrium Taurokolat

Natrium taurokolat digunakan sebagai asam empedu terkonjugasi. Pengujian dekonjugasi natrium taurokolat mengacu pada Nuraida dkk. (2011). Pengujian dilakukan dengan menggunakan medium MRS Broth yang disuplementasikan dengan 0,2% natrium tioglikolat dan 0,2% natrium taurokolat. Medium tersebut diinokulasikan dengan kultur BAL sebanyak 1% lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Sebanyak 20 ml kultur diatur pH nya pada 7,0 dengan NaOH 1 N. Kemudian ditambahkan akuades hingga volumenya menjadi 25 ml dan disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan sel. Sebanyak 15 ml supernatan yang dihasilkan ditetapkan pH nya menjadi 1 dengan ditambahkan HCl 10 N dan ditambah akuades hingga volumenya menjadi 24 ml. Kemudian 3 ml sampel dan 9 ml etil asetat 99,5% ditempatkan pada tabung yang berpenutup kaca, lalu campuran dicampur rata dan dibiarkan sampai terjadi pemisahan fase. Sebanyak 3 ml lapisan etil asetat dari tiap tabung dipindahkan ke tabung lain dan dievaporasi sampai kering pada suhu 60°C dengan aliran gas nitrogen.

Setelah penambahan 1 ml NaOH 0,1 N ditambahkan 6 ml H₂SO₄ 16 N dan 1 ml furfuraldehid 1% dan dicampur rata. Tabung reaksi kemudian dipanaskan pada suhu

65°C selama 13 menit dan didinginkan pada suhu kamar lalu ditambahkan 5 ml asetat glasial dan dicampur rata. Selanjutnya diukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 660 nm menggunakan spektrofotometer. Konsentrasi asam kolat bebas ditentukan menggunakan kurva standar asam kolat.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*). Jika F hitung lebih besar atau sama dengan F tabel maka analisis akan dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf 5%. Model matematis yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij}= Nilai pengamatan

μ = Nilai tengah umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij}= Pengaruh galat perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

HASIL DAN PEMBAHASAN

Asimilasi Kolesterol

Kemampuan mengasimilasi kolesterol merupakan salah satu karakteristik BAL yang dapat digunakan untuk melakukan seleksi terhadap kultur yang akan dikembangkan sebagai probiotik penurun kolesterol (Nuraida, dkk. 2011). Tujuan pengamatan ini adalah untuk mengetahui besarnya jumlah kolesterol yang diasimilasi oleh masing-masing isolat dihitung berdasarkan selisih jumlah kolesterol pada medium kontrol (medium yang tidak diinokulasikan kultur bakteri) dengan jumlah kolesterol pada medium yang diinokulasikan dengan kultur BAL. Berdasarkan hasil sidik

ragam diketahui bahwa masing-masing isolat mampu mengasimilasi kolesterol. Kemampuan BAL mengasimilasi kolesterol secara statistik berbeda tidak nyata. Rata-rata hasil asimilasi kolesterol disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah kolesterol yang diasimilasi oleh BAL

Isolat	Rata-rata($\mu\text{g/ml}$)
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.11.1.2	0,56
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.1.3.2	0,48
<i>Lactobacillus acidophilus</i> FNCC 0051	0,38
<i>Streptococcus thermophilus</i> FNCC 0040	0,43

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa jumlah kolesterol yang diasimilasi oleh setiap isolat berbeda-beda yaitu pada kisaran 0,38-0,56 $\mu\text{g/ml}$, namun secara statistik dianggap sama. yaitu *Lactobacillus plantarum* R.11.1.2 mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 0,56 $\mu\text{g/ml}$, *Lactobacillus plantarum* R.1.3.2 mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 0,48 $\mu\text{g/ml}$, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 0,38 $\mu\text{g/ml}$ dan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 0,43 $\mu\text{g/ml}$.

Aktivitas asimilasi pada masing-masing isolat yang diuji masih tergolong rendah jika dibandingkan dengan aktivitas asimilasi pada bakteri yang telah diuji oleh beberapa peneliti sebelumnya seperti *Lactobacillus* dari makanan fermentasi mampi mengasimilasi kolesterol sebesar 11,1-37,9 $\mu\text{g/ml}$ (Kusumawati, 2002). BAL yang diisolasi dari dadih, growol, sosis, bayi, gatot, asinan sawi dan yoghurt mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 19,96-42,68 $\mu\text{g/ml}$ (Ngatirah,

2000). *Lactococcus lactis* mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 21,7-68,1 $\mu\text{g/ml}$ (Kimoto dkk., 2002). *L. casei* dan *L. acidophilus* mengasimilasi kolesterol sebesar 12,03-32,25 $\mu\text{g/ml}$ (Liong dan Shah, 2005).

Hartati dkk. (2003) melaporkan bahwa *L. plantarum* Mut 7 FNCC 250 yang isolasi dari gatot mengasimilasi kolesterol sebesar 40,57 $\mu\text{g/ml}$. Kemampuan mengasimilasi kolesterol oleh setiap bakteri yang diuji pada penelitian ini berbeda karena strain yang digunakan berbeda, sehingga sifat dan kemampuan bakteri dalam mengasimilasi kolesterol juga berbeda-beda. Kimoto dkk. (2007) menyatakan bahwa perbedaan dalam asimilasi kolesterol dipengaruhi oleh sifat kimia dan struktural dari peptidoglikan dinding sel masing-masing strain yang mengandung asam amino yang mampu mengikat kolesterol.

Faktor lain yang menyebabkan perbedaan kemampuan bakteri dalam mengasimilasi kolesterol adalah kelarutan kolesterol di dalam media MRS Broth kurang sempurna.

Kusumawati (2002), menyatakan bahwa perbedaan kemampuan mengasimilasi kolesterol mungkin juga disebabkan oleh perbedaan sumber kolesterol yang digunakan dalam pengujian. Kolesterol murni tidak dapat larut dengan baik pada medium MRS Broth yang merupakan medium berbasis air, karena kelarutan kolesterol dalam air sangat rendah. Sehingga berpengaruh terhadap jumlah kolesterol yang dapat diasimilasi oleh bakteri. Penelitian ini menggunakan kolesterol murni yang sulit larut dalam MRS Broth.

Noh dkk. (1997) menyatakan bahwa dalam proses asimilasi, kolesterol telah mengubah dinding sel atau membran sel *Lactobacilli* sehingga lebih tahan terhadap gangguan sonikasi. Kimoto dkk (2002), menyatakan bahwa terdapat perbedaan pola distribusi asam lemak pada sel yang tumbuh pada media yang mengandung kolesterol dan yang tidak mengandung kolesterol. Kolesterol bergabung ke dalam membran sel dan mengubah komposisi asam lemak dalam sel.

Nuraida dkk. (2011) menyatakan bahwa isolat yang memiliki ketahanan tinggi terhadap garam empedu belum tentu memiliki kemampuan tinggi dalam mengasimilasi kolesterol. Usman dan Hosono (1999) menyatakan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara ketahanan terhadap garam empedu pada *Lactobacillus gasseri* dengan kemampuannya dalam mengikat kolesterol.

Dekonjugasi Natrium Taurokolat

Surono (2004) menyatakan bahwa beberapa strain bakteri dalam saluran pencernaan memiliki enzim

yang mampu menghidrolisis garam empedu terkonjugasi menjadi garam empedu terdekonjugasi. Kemampuan mendekonstruksi garam empedu berhubungan erat dengan aktivitas enzim *Bile Salt Hidrolase* (BSH).

Nuraida dkk (2011) menyatakan bahwa dekonjugasi garam empedu oleh enzim *bile salt hidrolase* (BSH) yang dihasilkan BAL berhubungan dengan penurunan kolesterol dalam darah. Garam empedu terdekonjugasi lebih sulit untuk diserap kembali di dalam saluran usus dibandingkan dengan garam empedu dalam bentuk terkonjugasi, sehingga garam empedu terdekonjugasi lebih cepat dikeluarkan melalui feses. Akibatnya tubuh harus mensintesis lebih banyak asam empedu dari kolesterol untuk menggantikan asam empedu yang hilang, sehingga kolesterol yang tersedia untuk diserap berkurang (Usman dan Hosono, 1999).

Hasil uji dekonjugasi natrium taurokolat pada penelitian ini menunjukkan bahwa isolat BAL memiliki kemampuan mendekonstruksi natrium taurokolat dengan membebaskan asam kolat dan taurin. Berdasarkan hasil sidik ragam diketahui bahwa masing-masing isolat mampu mendekonstruksi garam empedu. Rata-rata hasil dekonjugasi natrium taurokolat oleh BAL disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata hasil dekonjugasi natrium taurokolat oleh BAL

Isolat	Rata-rata ($\mu\text{mol/ml}$)
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.11.1.2	0,55
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1 R.1.3.2	0,58
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	0,58
<i>Streptococcus thermophilus</i>	0,55

Berdasarkan hasil perhitungan pada Tabel 2, kemampuan isolat dalam mendekonstruksi tergolong lemah, hal ini ditunjukkan dengan sedikitnya jumlah asam kolat yang dibebaskan oleh BAL. Kemampuan kemampuan mendekonstruksi masing-masing isolat berbeda tidak nyata yaitu *Lactobacillus plantarum* 1 R.11.1.2 mampu mendekonstruksi garam empedu sebesar 0,55 $\mu\text{mol/ml}$, *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2 mampu mendekonstruksi garam empedu sebesar 0,58 $\mu\text{mol/ml}$, *Lactobacillus acidophilus* mampu mendekonstruksi garam empedu sebesar 0,58 $\mu\text{mol/ml}$, *Streptococcus thermophilus* mampu mendekonstruksi garam empedu sebesar 0,55 $\mu\text{mol/ml}$.

Usman dan Hosono (1999) menyatakan bahwa sebanyak 28 isolat *L.gasseri* mampu mendekonstruksi natrium taurokolat dan membebaskan asam kolat pada kisaran 1,24-1,94 $\mu\text{mol/ml}$. Pato dkk. (2005), menyatakan bahwa terdapat 6 isolat BAL yang diisolasi dari dadih mampu mendekonstruksi asam taurokolat dengan membebaskan asam kolat dan aktivitas dekonjugasi berkisar antara 0,21 $\mu\text{mol/ml}$ sampai dengan 0,45 $\mu\text{mol/ml}$.

Smet dkk. (1995) menyatakan bahwa kemampuan dekonjugasi natrium taurokolat menjadi faktor bahwa isolat dapat memiliki ketahanan terhadap garam empedu. Proses dekonjugasi dapat menurunkan tingkat toksisitas dari

garam empedu terkonjugasi terhadap bakteri.

Kesimpulan

Lactobacillus plantarum R.11.1.2 dan R.1.3.2 mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 0,56 $\mu\text{g/ml}$ dan 0,48 $\mu\text{g/ml}$ dan mampu mendekonstruksi natrium taurokolat sebesar 0,55 $\mu\text{mol/ml}$ dan 0,58 $\mu\text{mol/ml}$. *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 0,38 $\mu\text{g/ml}$ dan 0,49 $\mu\text{g/ml}$ dan mampu mendekonstruksi natrium taurokolat sebesar 0,58 $\mu\text{mol/ml}$ dan 0,55 $\mu\text{mol/ml}$.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengaplikasikan isolat dalam pembuatan produk pangan fungsional yang bersifat probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Brushan, J. 2005. **Their role in prevention of dental caries.** Journal Oral Health Comm Dent, volume 4(3): 78-82.
- De Smet, I., L.V. Hoorde, M.V. Woestryne, H. Christaens dan W. Verstraete. 1995. **Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli.** J. App Bacteriol, volume 79: 292-301.

- Kimoto, N.H., S. Ohmono dan T. Okamoto. 2002. **Cholesterol removal from media by *Lactococci***. J. Dairy Sci, volume 85: 3182-3188.
- Kimoto, N.H., Mizumachi., K. Nomura., M. Kobayashi., M. Fujita dan Y. Okamoto. 2007. ***Lactococcus sp.* as potential probiotic lactic acid bacteria**. Japan Agricultural Research Quarterly, volume 41: 181-189.
- Kusumawati, N. 2002. **Seleksi Bakteri asam laktat indigenus sebagai genus probiotik dengan kemampuan mempertahankan keseimbangan mikroflora feses dan memproduksi kolesterol serum darah tikus**. Tesis. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Liong, M.T. dan N.P. Shah. 2005. **Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of *Lactobacilli* strains**. J. Dairy Sci, volume 88: 55-66.
- Ngatirah. 2000. **Seleksi bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik yang berpotensi menurunkan kolesterol**. Tesis Program Pasca Sarjana.UGM.Yogyakarta.
- Noh, D.O., S.H. Kim dan S.E. Gilliland. 1997. **Incorporation of cholesterol into celular membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121**. J. Dairy Sci, volume 80:3107-3113.
- Nuraida, L., S. Winarti., Hana dan E. Prangdimurti. 2011. **Evaluasi in vitro terhadap kemampuan bakteri asam laktat asal air susu ibu untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongugasi garam empedu**. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, volume 17 (1): 46-51
- Pato, U., M. Ali., dan A.K. Parlindungan. 2005. **Taurocholate deconjugation and cholesterol binding by indigenous dadih lactic acid bacteria**. Jurnal Hayati, volume 12 (3): 103-107.
- Surono, I.S. 2004. **Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan**. Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Usman dan A. Husono. 1999. **Bile tolerance, taurocholate deconjugation and binding of cholesterol by *Lactobacillus gasserii* strains**. J. Dairy Sci, volume 82: 243-248.
- Yulinery, T., E. Yulianto dan N. Hidayat. 2006. **Uji fisiologis probiotik *Lactobacillus Sp. Mar 8* yang telah dienkapsulasi dengan menggunakan spray dryer untuk menurunkan kolesterol**. Biodiversitas, volume 7 (2): 118-122.
- Yusmarini., R. Indrati., T. Utami dan Y. Marsono. 2009. **Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat proteolitik dari susu kedelai yang terfermentasi spontan**. Jurnal Natur Indonesia, volume 12 (1): 28-33.
- Yusmarini., R. Indriati., T. Utami., dan Y. Marsono. 2010. **Kemampuan susu kedelai yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum 1* dalam mengikat asam empedu**. Majalah Farmasi Indonesia, volume 21 (3): 205-211.