

**Pemberian Effective Microorganism (EM4[®])
terhadap Gambaran Histopatologi Hati
Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Betina**

I GEDE ENDRA KUSUMA¹,
ANAK AGUNG GDE ARJANA², I KETUT BERATA¹

¹Lab Patologi Veteriner ²Lab Farmakologi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl.P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp. 0361-223791

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Effective Microorganism 4 (EM4[®]) Terhadap Gambaran Histopatologis Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina” yang bertujuan untuk mengetahui efek farmakodinamik dari probiotik EM4[®] dengan dosis dan interval pemberian waktu tertentu serta dengan melihat pengaruhnya pada gambaran histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL), dengan menggunakan sampel berupa 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang betumur tiga bulan dengan berat badan rata-rata 200 gram yang dibagi kedalam lima kelompok perlakuan (K1, K2, K3, K4, K5) dengan lima kali pengulangan dan interval waktu pemberian selama 21 hari. Sebelum diberikan perlakuan tikus putih (*Rattus norvegicus*) diadaptasikan selama 7 hari. Kelompok K1 tanpa perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®]), kelompok K2 diberikan perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®]) dengan dosis 0,25 ml/ekor/hari, kelompok K3 diberikan perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®]) dengan dosis 0,5 ml/ekor/hari, kelompok K4 diberikan perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®]) dengan dosis 1/ekor/hari, kelompok K5 diberikan perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®]) dengan dosis 2 ml/ekor/hari. Pemberian probiotik EM4[®] dilakukan peroral dengan sonde khusus yang dilakukan pada hari ke 8, setelah

diberikan perlakuan selama 21 hari hewan dieuthanasia menggunakan dietil eter kemudian di nekropsikan untuk diambil organ hati untuk pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan *Harri* Hematoxylin-Eosin, kemudian diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x.

Hasil pemeriksaan histopatologi hati dianalisis secara deskriptif. Hasil analisis berdasarkan data pengamatan didapat bahwa tidak ditemukannya degenerasi hidrofik, degenerasi meleak dan nekrosis pada kelompok yang diberikan perlakuan probiotik

Kata kunci: Effective Microorganism, Tikus Putih, Farmakodinamik, Histopatologi

PENDAHULUAN

Penggunaan mikroba sebagai agen probiotik telah dikembangkan secara luas belakangan ini, karena beberapa hal antara lain: mudah diperbanyak, substrat untuk pertumbuhan mikroba relatif murah, dan dapat menghasilkan produk yang diinginkan dalam jumlah besar sehingga potensial untuk dikembangkan dalam skala industri (Wididana, 1999). Konsep probiotik pertama kali diperkenalkan oleh Fuller (1992), sebagai mikroorganisme hidup yang menguntungkan yang dimasukkan ke dalam tubuh manusia atau hewan secara oral. Mikroba hidup itu diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia atau hewan dengan cara memperbaiki sifat-sifat yang dimiliki mikroba alami yang tinggal di dalam tubuh manusia atau hewan tersebut sehingga dapat mengembalikan keseimbangan rasio antara bakteri patogen dan nonpatogen dalam saluran pencernaan.

Pengertian probiotik secara umum adalah suatu bahan pakan suplemen berupa jasad hidup mikrobial yang mempunyai pengaruh menguntungkan bagi induk semangnya dengan meningkatkan keseimbangan mikroba usus halus. Aplikasi penggunaan probiotik mencakup kultur mikroba hidup, ekstrak kultur atau sediaan enzim. Istilah probiotik beresepadan dengan *Direct-Fed Microbial* (DFM). Salah satu probiotik atau *effective microorganism* yang terdapat di

pasaran adalah EM4[®] produksi PT. Songgolangit Persada. EM4[®] mengandung kombinasi bakteri fotosintetik (*Rhodopseudomonas spp.*), bakteri asam laktat (*Lactobacillus spp.*) dan yeast (*Saccharomyces spp.*). Mikroorganisme yang terkandung dalam probiotik EM4[®] dapat meningkatkan konsumsi pakan pada hewan ternak. EM4[®] bekerja secara sinergis dimana kombinasi bakteri tersebut akan menyebabkan perubahan biokimia tanpa ada kerjasama diantaranya melainkan suatu urutan proses yang menguntungkan bakteri lainnya tanpa merugikan bakteri itu sendiri (Soeharsono, 2002).

Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh dan melakukan fungsi penting yang sangat kompleks dalam tubuh. (Corwin,2001). Ada empat fungsi hati yaitu pembentukan dan sekresi empedu, metabolisme zat-zat penting bagi tubuh, berperan dalam pertahanan tubuh baik berupa detoksifikasi maupun fungsi perlindungan, serta fungsi vaskuler. (Dalimartha, 2001). Fungsi hati antara lain sebagai tempat berlangsungnya metabolisme lemak, detoksikasi toksin, kuman, hormon, dan obat yang terserap dalam usus. (Ressang, 1984). Sedangkan menurut Junqiera *et al* (1995) hati adalah organ tempat nutrien yang diserap dari saluran pencernaan diolah dan disimpan untuk dipakai oleh bagian tubuh lain. Melihat banyaknya fungsi hati, maka apabila terjadi kerusakan ataupun kelainan pada hati akan mempengaruhi fungsi jaringan tubuh yang lainnya. Patofisiologi hati sangat berkaitan dengan makanan dan minuman yang dikonsumsi. Probiotik sebagai salah satu suplemen dalam makanan perlu dikaji pengaruhnya pada hati.

Telah banyak dilakukan penelitian tentang pemanfaatan mikroba sebagai probiotik dalam dunia peternakan. Selanjutnya hal yang sama juga dipaparkan oleh Santoso dan Kurniati (2000) menyatakan bahwa probiotik EM4[®] mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar serat kasar pada kotoran ayam petelur. Selain itu probiotik EM4[®] juga dapat meningkatkan pertumbuhan panjang dan menaikkan berat pada udang galah (Murtati *et al*, 2006). Wididana dan Muntoyah (1999) menyatakan bahwa probiotik EM4[®] yang disemprotkan ke seluruh kandang dan pada kotoran ternak dapat mengurangi bau ammonia yang dikeluarkan bersama feses.

Keamanan dari probiotik sangat ditentukan oleh karakter dan jumlah bakteri yang digunakan. Oleh karena itu, dalam menilai keamanan dan kemanjuran suatu produk probiotik, beberapa faktor harus diperhatikan diantaranya sifat-sifat bakteri yang digunakan seperti kemampuan bakteri terus hidup (*viability*) selama proses produksi, ketika bakteri berada dalam produk (*carrier*), ketika berada dalam saluran pencernaan dan ketika dalam penyimpanan. Sebagaimana diketahui bakteri mudah mengalami degradasi oleh panas, cahaya, kelembapan dan oksigen. Oleh karena itu, produk probiotik biasanya harus disimpan dalam pendingin dengan tujuan untuk menjaga agar bakteri tetap hidup dan aktif. Sifat bakteri lainnya yang harus diperhatikan adalah sifat ketahanannya terhadap antibiotic dan tidak memiliki sifat virulen/dapat menyebabkan penyakit (Surono,2005).

Jumlah bakteri dalam probiotik juga sangat penting diperhatikan karena berhubungan dengan keamanan produk probiotik bersangkutan dan juga untuk mencegah agar tidak terjadi “overdosis”. Meskipun belum pernah dilaporkan mengenai efek samping negatif probiotik dalam konsentrasi tinggi, namun kelebihan probiotik di dalam tubuh biasanya dapat dikeluarkan melalui tinja. Efek samping probiotik, jika terjadi, cenderung ringan dan bersifat digestif (seperti buang angin dan kembung). Efek yang lebih serius bias saja terjadi. Secara teoritis probiotik dapat menyebabkan infeksi yang membutuhkan perawatan antibiotic, aktivitas metabolik yang tidak sehat, stimulasi system kekebalan tubuh berlebihan dan transfer gen akibat penyisipan material genetic ke dalam sel (Sudarmono *et al*, 2006).

Tidak sembarang bakteri bisa digunakan sebagai probiotik. Ada beberapa persyaratan yang harus dipenuhi, diantaranya punya aktivitas antimikroba dan anti karsinogenik, mampu berkoloni dalam saluran pencernaan serta mampu meningkatkan penyerapan usus. Beberapa jenis bakteri yang ada dalam probiotik yang sering digunakan adalah *Bifidobacterium brevis*, *B. infantis*, *B. longu*, *Lactobacillus acidopholus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. rhammnosus*, *L. casei*, dan *Streptococcus thermophilus* (Waspodo, 2001).

Dari latar belakang tersebut dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu : apakah pemberian EM4[®] dengan berbagai dosis akan menimbulkan perubahan histopatologi hati pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian EM4[®] dalam berbagai dosis melalui air minum.

Berdasarkan kerangka pemikiran tersebut, maka dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut : pemberian probiotik EM4 dalam berbagai dosis menyebabkan perubahan histopatologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina.

MATERI DAN METODE

25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa betina, umur 3 bulan, dengan berat badan rata-rata 200 gram. *Effective Microorganism – 4* (EM4[®]) produksi PT. Songgolangit Persada. Pakan tikus berupa pakan babi konvesioanl berbentuk pelet produksi PT. Charoen Phokphand. Bahan-bahan untuk pembuatan sediaan histologis seperti larutan formalin buffer 10%, alkohol, xylol, paraffin, gliserin, Canada balsam dan zat warna hematoksilin eosin. Kandang tikus terbuat dari plastik yang tertutup kawat yang dilengkapi tempat minum. Timbangan yang digunakan untuk menimbang berat badan tikus. Sonde yang sudah didesain khusus untuk memasukkan obat ke dalam lambung tikus. Seperangkat alat seksi untuk mengambil jaringan hati. Alat untuk pembuatan sediaan histologis seperti inkubator, mikrotom, parafin blok, objek gelas dan cover gelas.

Sampel yang digunakan adalah sebanyak 25 ekor tikus dewasa betina, umur 3 bulan dengan berat rerata 200 gram dikelompokkan secara acak yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor dengan rincian sebagai berikut:

Tabel 1.1 Skema Rancangan Penelitian

Kelompok	Dosis Perlakuan	Jumlah (Ekor)
K1	2 ml Aquades (kontrol)	5
K2	0,25 ml EM4 [®]	5
K3	0,5 ml EM4 [®]	5
K4	1 ml EM4 [®]	5
K5	2 ml EM4 [®]	5

Keterangan :

- K1 : 5 ekor tikus putih tanpa diberikan perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®])
- K2 : 5 ekor tikus putih diberikan perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®]) dengan dosis 0,25 ml setiap hari selama 21 hari.
- K3 : 5 ekor tikus putih diberikan perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®]) dengan dosis 0,5 ml setiap hari selama 21 hari.
- K4 : 5 ekor tikus putih diberikan perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®]) dengan dosis 1 ml setiap hari selama 21 hari.
- K5 : 5 ekor tikus putih diberikan perlakuan *Effective Microorganism* (EM4[®]) dengan dosis 2 ml setiap hari selama 21 hari.

Variabel Bebas

Pemberian EM4[®] pada tikus yang terdiri dari 4 tingkat dosis yaitu 0,25 ml, 0,5 ml, 1 ml, dan 2 ml yang diberikan tiap hari dengan waktu pemberian selama 21 hari.

Variabel Tergantung

Perubahan histopatologi jaringan hati.

Variabel Kendali

Umur tikus putih, berat badan, jenis kelamin dan strain tikus putih.

Definisi Operasional Variabel

Perubahan histologis hati : perubahan yang terjadi pada hati yang dilihat secara mikroskopis dan ditentukan dengan scoring

Prosedur

Pemberian *Effective Microorganism* (EM4[®]) dengan dosis yang telah ditentukan dilakukan dengan cara memberikan per-oral dengan sonde khusus. Pemberian *Effective Microorganism* (EM4[®]) diberikan setiap hari dengan waktu pemberian selama 21 hari

Sampel penelitian yang diambil setelah 21 hari perlakuan EM4[®] adalah setelah tikus putih dieuthanasia organ hati diambil dan dimasukkan kedalam pot plastik yang telah berisi formalin 40%, selanjutnya dibuat preparat histopatologi.

Cara Pembuatan Preparat Histopatologi

Setiap spesimen yang akan diperiksa dipotong dengan ukuran 1x1x1 cm, lalu direndam didalam *Netral Buffer Formalin* (NBF) 10%.

Sampel organ selanjutnya diperkecil lagi dengan irisan tipis untuk selanjutnya disimpan dalam *tissue cassette* dan pada tahap ini jaringan kembali direndam dalam formalin 10% untuk fiksasi.

Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi bertingkat dengan cara merendam potongan organ secara berturut-turut di alkohol 70%, 80%, 90%, 96%. Dengan lamanya waktu masing-masing perendaman adalah selama 2 jam.

ahap selanjutnya adalah *clearing* atau penjernihan, dengan cara merendam potongan organ dalam Xylol/toluena/benzene. Selanjutnya dilakukan filtrasi dengan parafin cair.

Kemudian dilakukan *embedding* dan *blocking* dimana potongan organ ditanam pada blok yang telah disiapkan kemudia disimpan pada lemari es selama 24 jam.

Sampel organ di *sectioning* atau pemotongan dengan alat microtome dengan ketebalan 4-5 mikron.

Proses yang terakhir adalah pewarnaan dengan metode Harris Hematoxylin-Eosin dan *mounting* media.

Preparat histopatologi diamati di bawah mikroskop dan dicatat perubahan mikroskopik yang ditemukan.

Standarisasi Pemeriksaan Preparat Histopatologi

Pemeriksaan preparat histopatologi dilakukan masing-masing pada 5 lapang pandang mikroskopik. Perubahan histopatologi hati setelah pemberian EM4[®] dibuat skor berdasarkan tingkat keparahan sebagai berikut :

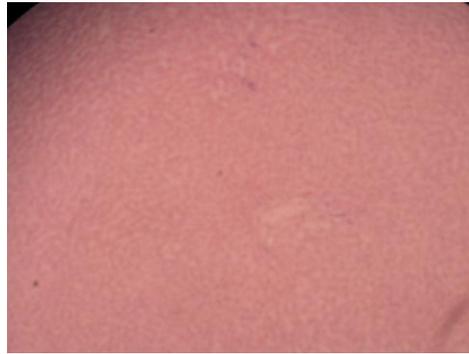
1. + : Jika ada perubahan berupa degenerasi parenkimatososa.
2. ++ : Jika ada perubahan berupa degenerasi hidrofik atau melemak.
3. +++ : Jika ada perubahan berupa nekrosis pada sel-sel hati

Perubahan yang ditemukan pada preparat histopatologi hati disajikan dan dianalisis secara deskriptif.

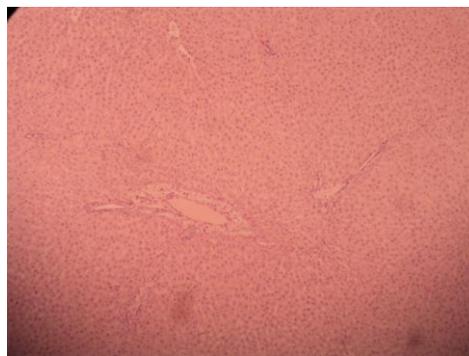
Tempat penelitian dilakukan di Lab. Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, serta dilanjutkan di Lab. Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian terhadap pengaruh pemberian probiotik EM4[®] dalam dosis yang berbeda dan interval waktu tertentu terhadap struktur histologis hati tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan sampel organ hati 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina, untuk selanjutnya dibuat preparat histopatologi. Dari hasil pemeriksaan yang dilakukan, tidak ditemukan adanya perubahan patologik pada jaringan hati, baik berupa degenerasi hidrofik, degenerasi melemak ataupun nekrosis (data terlampir). Gambar jaringan histopatologi hati masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 4.1.a,b, c, d, e.



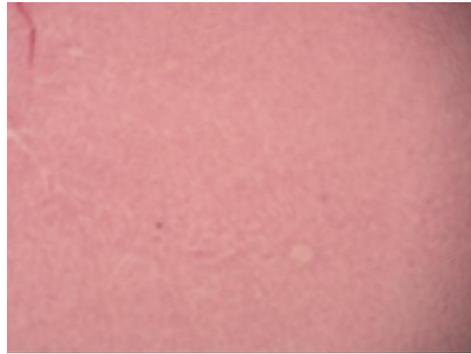
Gambar 4.1.a struktur histopatologi hati tikus putih kelompok K1 (tanpa pemberian probiotik EM4[®]). Dengan pewarnaan HE dan pembesaran 100x.



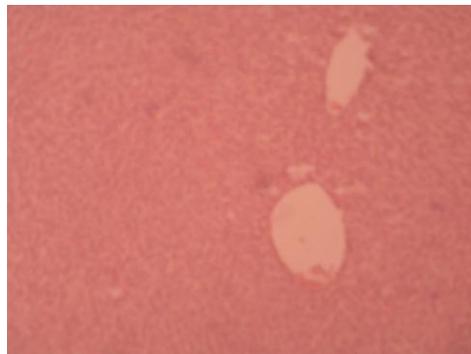
Gambar 4.1.b struktur histopatologi hati tikus putih kelompok K2 (pemberian probiotik EM4[®] dosis 0,25 ml). Dengan pewarnaan HE dan pembesaran 100x.



Gambar 4.1.c struktur histopatologi hati tikus putih kelompok K3 (pemberian probiotik EM4[®] dosis 0,5 ml). Dengan pewarnaan HE dan pembesaran 100x.



Gambar 4.1.d struktur histopatologi hati tikus putih kelompok K4 (pemberian probiotik EM4[®] dosis 1 ml). Dengan pewarnaan HE dan pembesaran 100x.



Gambar 4.1.e struktur histopatologi hati tikus putih kelompok K1 (pemberian probiotik EM4[®] dosis 2 ml). Dengan pewarnaan HE dan pembesaran 100x.

Berdasarkan hasil penelitian dan pengamatan mikroskopik (histopatologi), diperoleh hasil bahwa tidak terdapat perbedaan antara kelompok kontrol (K1) dengan kelompok yang diberikan perlakuan (K2,K3,K4,K5) (Gambar 4.1.a, b, c, d, e). Dengan memperhatikan gambar histopatologi hasil penelitian, tidak ada yang mengalami perubahan, baik degenerasi maupun nekrosis, sebagaimana tanda-tanda dari toksisitas maupun infeksi. Tidak ada hiperemia, dan indikasi adanya sel radang berupa leukositosis tidak terlihat seperti halnya kalau tikus putih terinfeksi agen infeksius atau terinduksi zat-zat kimia.

Hasil ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perubahan ke arah patologis apabila dilihat dari kelompok kontrol positif (K1) dengan kelompok yang diberikan perlakuan (K2,K3,K4,K5). Hal ini disebabkan karena peran probiotik yang tidak mengganggu kerja organ hati, sehingga tidak menyebabkan perubahan pada struktur histologinya. Fuller (1992), memperkenalkan probiotik sebagai

mikroorganisme hidup yang menguntungkan yang dimasukkan ke dalam tubuh manusia atau hewan secara oral. Mikroba hidup itu diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia atau hewan dengan cara memperbaiki sifat-sifat yang dimiliki mikroba alami yang tinggal di dalam tubuh manusia atau hewan tersebut sehingga dapat mengembalikan keseimbangan rasio antara bakteri patogen dan nonpatogen dalam saluran pencernaan.

Tidak adanya perubahan histopatologi hati dikarenakan sifat kerja probiotik itu sendiri yang hanya bertahan hidup dan bekerja dalam saluran pencernaan saja, serta menempel pada sel-sel usus, dan tidak turut serta dalam sistem sirkulasi darah. Hal ini merupakan tahap pertama untuk berkolonisasi, dan selanjutnya dapat dimodifikasi untuk sistem imunisasi/kekebalan hewan inang. Kemampuan menempel pada sel-sel usus ini akan menyebabkan mikroba-mikroba probiotik berkembang dengan baik dan mikroba-mikroba patogen tereduksi dari sel-sel usus hewan inang, sehingga perkembangan organisme-organisme patogen yang menyebabkan penyakit seperti *Escherichia coli*, *Salmonella thyphimurium* dalam saluran pencernaan akan mengalami hambatan. Sejumlah probiotik telah memperlihatkan kemampuan menempel yang kuat pada sel-sel usus manusia seperti *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* dan sejumlah besar *Bifidobacteria*. (McNaught dan MacFie, 2000).

Penelitian yang dilakukan oleh Zhou *et al* (2000), melaporkan bahwa pemberian probiotik strain *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20™), *Lb.acidophilus* HN017 dan *Bifidobacterium lactis* HN019 (DR10™) pada mencit strain Balb/c selama interval waktu pemberian 8 hari dengan dosis 10^{11} /tikus/hari, hasil yang didapatkan adalah probiotik tidak menimbulkan efek perubahan terhadap kondisi kesehatan tikus putih. Tidak menyebabkan hilangnya nafsu makan, tidak mengurangi berat badan dan terutama adalah tidak menimbulkan perubahan morfologi sel-sel lymphonodus, hati, usus dan ginjal. Selain itu juga tidak ditemukan adanya bakteri yang tumbuh pada isolat darah yang ditanam pada media agar. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian probiotik strain HN019, HN001, dan HN017 melalui metode per oral adalah tidak bersifat patogenik dan juga aman untuk dikonsumsi.

Laporan ini ditunjang oleh penelitian yang dilakukan oleh Lara *et al* (2007), yang melaporkan bahwa pemberian probiotik *Lactobacillus salivarius* strain CECT5713 pada mencit strain Balb/C sebanyak 50 ekor dengan dosis 10^{10} /tikus dengan interval waktu pemberian selama 28 hari secara intra peritoneal, didapatkan hasil bahwa tidak ditemukannya bakteri pada jaringan thymus, ginjal, jantung, hati dan usus. Selain itu juga secara patologi anatomis organ-organ tersebut juga tidak menunjukkan perubahan.

Mikroorganisme probiotik mampu mengatur beberapa aspek dari sistem kekebalan hewan inang, dengan mekanisme merangsang pembentukan IgA pada lapisan mukosa usus. Selain itu kemampuan mikroba probiotik mengeluarkan senyawa hasil metabolisme dapat mereduksi/menghambat perkembangan mikroba-mikroba patogen dalam saluran pencernaan, merupakan suatu kondisi yang dapat meningkatkan kekebalan hewan inang. Senyawa hasil metabolisme yang dihasilkan tersebut merupakan antibiotika bagi mikroba-mikroba patogen, sehingga penyakit yang ditimbulkan oleh mikroba patogen tersebut akan berkurang dan dapat hilang atau sembuh dengan sendirinya. Hal ini akan memberikan keuntungan terhadap kesehatan hewan inang sehingga tahan terhadap serangan penyakit. Penggunaan probiotik pada ternak dilaporkan dapat menurunkan aktivitas urease, suatu enzim yang bekerja menghidrolisis urea menjadi amonia, sehingga pembentukan amonia menjadi berkurang.

Pengujian Hipotesis

Hipotesis : Pemberian probiotik EM4[®] dalam berbagai dosis berpengaruh terhadap struktur histopatologis hati tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Penyanggah : Berdasarkan data hasil pengamatan mikroskopik (histopatologi) diperoleh data bahwa tidak terdapat perbedaan antara kelompok kontrol (K1) dengan kelompok yang diberikan perlakuan (K2,K3,K4,K5).

Simpulan : **Hipotesis ditolak**

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut : Pemberian probiotik EM4[®] dengan dosis 0,25 ml – 2 ml dalam interval waktu pemberian 21 hari tidak menyebabkan gangguan patologi hati seperti degenerasi hidrofik, degenerasi melemak dan nekrosa

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan probiotik EM4[®] dalam dosis lebih dari 2 ml dan dengan interval waktu pemberian lebih dari 21 hari. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut penggunaan probiotik EM4[®] untuk pengobatan dalam mengatasi gangguan patologis hati akibat zat-zat toksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Barrow, P. A. (1992). Probiotics for Chicken. In : R. Fuller. 1st Ed. Probiotics The Scientific Basic. Chapman and Hall. London. Hal 225-250
- Corwin, E.J. (2001) Buku Saku Patofisiologi. Alih Bahasa dr. Brahm U. Pendit, Sp.K.K. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta.
- Dalimartha, S. (2001). Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Hepatitis. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Fuller, R. (1992). Probiotics :The ScienceBasics. Chapman and Hall. London
- Junqueira, LC., C. Jose. O.K Robert (1995). Basic Histology. Eight Edition. Alih Bahasa Dr. Jan Tambayong, Penerbit Buku Kedokteran EGC Jakarta
- Lara Villoslada, S. Sierra, M.P. Diaz-Ropero, M. Olivares dan J.Xaus. (2007). Safety Assesment of the Isolated Probiotic *Lactobacillus salivarius* CECT5713. Journal of Dairy Science. (<http://jds.fass.org/cgi/content/full/90/8/3583>). Tanggal akses 22 September 2010.
- McNaught, C.E., and J. MacFire, (2000). Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence. Nutr Research 21 (2001). Hal: 343-353.
- Murtati,K., Simbolon,T.Wahyuni, Juyana. (2006) Penggunaan Biokatalisator pada Budidaya Udang Galah. Sukabumi.
- Ressang. A.A. (1984). Patologi Khusus Veteriner. Edisi Kedua. Percetakan Bali. Denpasar.

- Santoso, B., Kurniati, P. (2000). Pengaruh Pemberian Probiotik terhadap Serat Kasar dalam Kotoran, Kadar Profil Lemak Darah, Berat Karkas pada Ayam Petelur. Laporan Penelitian Bidang Ilmu Pertanian & Peternakan. Ditkinlabmas. Dirjen Dikti. Fakultas Peternakan Unpad. Bandung.
- Soeharsono, H. (2002). Probiotik Sebagai Alternatif Pengganti Antibiotik Dalam Bidang Peternakan. Laboratorium Fisiologi dan Biokimia. Fakultas Peternakan. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Sudarmo, S.M., Reza G. H., Pitono dan L.S. Djupri. (2006). Kontribusi Prebiotika pada Formula untuk Pemeliharaan Ekosistem Mikrobiota Normal pada Usus, www.pediatrik.com/ilmiah_popular/20060220. Tanggal akses 8 Desember 2010
- Surono, I. (2005). Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan. YPMMI. Jakarta
- Waspodo, I. S. (2001). Manfaat Probiotik, Prebiotik dan Synbiotik bagi Kesehatan, <http://klinikibnsina.wordpress.com>. Tanggal akses 8 Desember 2010
- Wididana, G. N. dan Muntoyah (1999). Pengembangan Lingkungan Dengan Teknologi Effective Microorganism. Makalah Seminar Sehari Dampak Teknologi Pertanian Terhadap Kondisi Kesehatan Masyarakat, Lingkungan dan Keanekaragaman Hayati. Institut Pengembangan Sumber Daya Alam. Denpasar.
- Zhou, J. S. Q. Shu. K. J. Rutherford. J. Prasad. P. K. Gopal. H. S. Gill (2000). Acute Oral. Toxicity and Bacterial Translocation Studies on Potentially Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria. (<http://www.sciencedirect.com/science>). Tanggal akses 7 Juli 2011