

Original research

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KEFIR SUSU KAMBING TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes*

TEST OF GOAT MILK KEFIR ANTIBACTERIAL ON BACTERI *Propionibacterium acnes*

Satrio Rantono^{1*}, Nina Jusnita

^{1,2}Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Indonesia, 14350

*E-mail: satrionrantono@gmail.com

Diterima: 30/09/2019

Direvisi: 06/11/2019

Disetujui: 02/12/2019

Abstrak

Kefir merupakan produk susu fermentasi yang dapat dibuat dari bahan baku susu baik susu sapi, susu kambing atau susu domba dengan menambahkan biji kefir yang terdiri dari bakteri asam laktat dan khamir. Secara empiris kefir juga sudah dikenal memiliki khasiat terhadap bakteri penyebab jerawat. Oleh sebab itu penelitian ini dilakukan untuk menguji aktifitas antibakteri kefir susu kambing terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* sebagai bakteri penyebab jerawat. Susu kambing yang digunakan kemudian dicampurkan dengan biji kefir berbeda konsentrasi yaitu 2%, 4% dan 6%. Kemudian dilakukan pengujian dengan menggunakan media TSA untuk mengukur daya hambat bakteri dari susu kefir yang sudah dicampurkan dengan biji kefir. Dari hasil percobaan diperoleh daya hambat lemah untuk campuran susu kambing dengan biji kefir konsentrasi 2%, sedangkan untuk konsentrasi 4% dan 6% memiliki daya hambat sedang. Tetapi hasil daya hambat yang terbaik yaitu campuran susu kambing dengan biji kefir pada konsentrasi 6%. Tingginya daya hambat tersebut disebabkan karena tingginya konsentrasi biji kefir dalam susu, biji kefir sendiri sudah mengandung bakteri yang menghasilkan senyawa bakteriosin dan senyawa laktat yang dapat mempengaruhi dan menghambat pertumbuhan bakteri lain. Walaupun efektivitas daya hambat kefir tidak sebaik dengan menggunakan antibiotik.

Kata kunci: Kefir, Bakteri, Konsentrasi

Abstract

Turmeric (*Curcuma longa* L.) is a plant commonly used as traditional medicine by the community. Curcumin from turmeric is known to have bioactive compounds that have antioxidant properties but have low solubility and bioavailability activity. To improve these things, nanoemulsion is generally a new formulation for turmeric (*Curcuma longa* L.). This research uses the phase inversion temperature homogenisation method of 30° C and 10° C. The extract concentration used was 30% and Tween 3% as an emulsifier. The results of this study indicate that the nanoemulsion particle size at a temperature of 30°C has a smaller size of 18.1 nm. The antioxidant activity of turmeric extract nanoemulsion preparations had IC₅₀ of 31.16% and 32.11%. This result is greater than the extract that is equal to 30.01%. Turmeric extract nanoemulsion is stable at high storage 40°C and the solubility of nanoemulsion is increased.

Keywords: *Kefir, Bacteria, Concentration*

PENDAHULUAN

Pada zaman modern ini terutama di kota besar seperti kota Jakarta dimana populasi besar masyarakat berkumpul, sebanding juga dengan banyaknya jumlah kendaraan, sehingga tingkat polusi menjadi tinggi, dan mempengaruhi kesehatan masyarakat terutama kesehatan kulit. Salah satu masalah kesehatan kulit yang umum dijumpai di kota besar adalah timbulnya jerawat di kulit. Jerawat adalah suatu keadaan di mana pori - pori kulit tersumbat, baik oleh kotoran maupun oleh bakteri, sehingga menimbulkan kantung nanah yang meradang. Jerawat adalah penyakit kulit yang cukup besar jumlah penderitanya[1].

Salah satu penyebab jerawat adalah perubahan hormon yang merangsang kelenjar minyak di kulit. Penyebab lain timbulnya jerawat adalah bakteri *Propionibacterium acnes* yang cenderung berkembang biak di dalam kelenjar sebaceous yang tersumbat, yang menghasilkan zat - zat yang menimbulkan iritasi daerah sekitarnya. Kelenjar tersebut akan terus membengkak dan mungkin akan pecah, yang kemudian akan meninggalkan bekas luka[1].

Untuk mengatasi masalah timbulnya jerawat tersebut, kebanyakan orang menggunakan obat – obat yang diklaim mampu menghilangkan penyebab jerawat baik berupa obat herbal atau non herbal.maka dari itu perlu suatu zat yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri yang dapat membunuh bakteri-bakteri tersebut dimana pada zaman modern ini aktifitas antibakteri hanya didapat dari pengobatan dengan penggunaan Antibiotik. Antibiotik sendiri memiliki banyak kelemahan seperti dapat menimbulkan hipersensitif, alergi ataupun bisa menimbulkan efek resisten apabila penggunaannya tidak sesuai dengan anjuran pengobatan.

Oleh karena itu, salah satu alternatif yang sedang banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi jerawat adalah kefir. Kefir merupakan produk susu fermentasi yang dapat dibuat dari bahan baku susu baik susu sapi, susu kambing maupun susu domba dengan menambahkan biji kefir yang terdiri dari bakteri asam laktat dan khamir[2]. secara empiris kefir juga sudah dikenal memiliki khasiat terhadap bakteri penyebab jerawat [3].

Kebanyakan produk kefir di pasaran dibuat dari fermentasi susu sapi sedangkan kita ketahui juga susu kambing banyak digemari karena manfaat gizi yang banyak. Keterkaitannya dengan hal tersebut maka produk kefir yang dibuat dari fermentasi susu kambing memiliki manfaat terhadap kesehatan terutama kesehatan kulit, namun hal tersebut belum terbukti secara ilmiah

Oleh sebab itu penelitian ini dilakukan untuk menguji aktifitas antibakteri kefir susu kambing terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* sebagai bakteri penyebab jerawat. *Propionibacterium acnes* adalah mikrobiota kulit yang biasanya sering ditemukan pada kulit yang kaya akan kelenjar sebacea seperti di kulit kepala dan muka[4].

METODE

Sampel (Bahan) penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu kambing segar dan biji kefir yang diperoleh dari produsen rumah kefir Jakarta selatan. Larutan NaCl fisiologis, bakteri *Propionibacterium acnes*, kefir, media TSA, larutan NaCl fisiologis dan alkohol.

Prosedur kerja

Penelitian Tahap 1/ Penelitian Pendahuluan

Validasi Pewarnaan Gram Bakteri *Propionibacterium acnes*

Siapkan kaca preparat yang bersih dari lemak dan kotoran. Basahi permukaan kaca objek dengan air steril, lalu oleskan bakteri *Propionibacterium acnes* pada permukaan kaca objek. Setelah kering, fiksasi kaca preparat untuk mematikan mikroorganisme dan membuatnya menempel di kaca objek. Lakukan pewarnaan dan tambahkan Kristal violet kemudian diamkan selama 1 menit. Bilas dengan air, tambahkan iodium (lugol) diamkan selama 2 menit. Bilas dengan air, cuci dengan alcohol 96% selama 30 detik atau sampai warna ungu tidak ada lagi. Bilas dengan air dan tambahkan safranin dan diamkan selama 30 detik. Bilas dengan air, tiriskan dan diangin anginkan. Amati hasil pewarnaan gram dibawah mikroskop[5].

Jumlah starter awal biji kefir yang digunakan

Susu sapi segar dan susu kambing dipanaskan pada suhu 85⁰C selama 30 menit, kemudian didinginkan sampai mencapai suhu kamar ($\pm 28^0$ C). Ke dalam susu tersebut kemudian ditambahkan 2% biji kefir dan diaduk merata. Dibiarkan atau diinkubasi selama 2 hari (suhu 25-37⁰C) agar proses fermentasi berlangsung. Hasilnya dilihat dan dibandingkan dengan produk kefir yang sudah dibeli, yang diperhatikan adalah kekentalan, aroma, dan rasa apakah sudah sama dengan produk komersial kefir. Apabila sudah sama, maka konsentrasi biji kefir awal yang digunakan adalah 2%, namun apabila hasil fermentasi belum berupa kefir maka dilakukan pembuatan berikutnya dengan menggunakan konsentrasi biji kefir 4% [6].

Validasi Metode Kertas Cakram dengan Kontrol Positif

Ambil bakteri *Propionibacterium acnes* dari media subculture dengan menggunakan ose steril, kemudian larutkan bakteri yang sudah diambil ke dalam larutan NaCl cair, kemudian diinkubasikan selama 3-4 jam. lalubandingkan tingkat kekeruhan dengan standar Mc.Farland. Tahapan selanjutnya adalahrendam kapas lidi steril ke dalam larutan NaCl fisiologis yang telah diukur kekeruhannya, lalu kapas lidi diangkat dan diperas dengan menekan pada dinding tabung. Setelah itu oleskan kapas lidi yang sudah direndam ke permukaan media TSA secara merata sebanyak 3x penggoresan permukaan. Kertas cakram dengan diameter 6 mm yang mengandung zat antibiotik ditempelkan pada media TSA yang telah dioleskan suspensi bakteri. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37⁰ C selama 20-24 jam, amati apakah terdapat zona bening atau tidak.

Validasi Inkubator dan Media TSA

Ambil bakteri *P.acnes* dari media subculture dengan menggunakan ose steril, kemudian larutkan bakteri yang sudah diambil ke dalam larutan NaCl fisiologis, lalu bandingkan tingkat kekeruhan dengan standar Mc.Farland. Kemudian rendam kapas lidi steril ke dalam larutan NaCl fisiologis yang telah diukur kekeruhannya kapas lidi diangkat dan diperas dengan menekan pada dinding tabung. Setelah itu oleskan kapas lidi yang sudah direndam ke permukaan media TSA secara merata sebanyak 3x penggoresan permukaan. Kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 20-24 jam, amati apakah terdapat pertumbuhan koloni bakteri atau tidak .

Penelitian Tahap 2

Pembuatan Kefir susu kambing 2%, 4%, 6%

Formula kefir susu kambing

Komposisi	Kontrol (-)	Kefir susu kambing 2%	Kefir susu kambing 4%	Kefir susu kambing 6%
Susukambing	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml
Biji kefir	-	2 gram	4 gram	6 gram

Susu kambing segar di panaskan pada suhu 85-90⁰C selama 30 menit kemudian didinginkan sampai mencapai suhu kamar, Masukkan biji kefir dengan konsentrasi 2%, 4%, 6% dan di aduk secara merata, lalu inkubasi pada suhu kamar selama 2 hari, bila sudah menggumpal saring dengan kertas saringring untuk mendapatkan biji kefir kembali,maka terbentuklah kefir[6].

Uji Mikrobiologi

Uji Mikrobiologi dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

Sterilisasi

Semua peralatan yang digunakan seperti labu ukur, Erlenmeyer, pipet ukur, pipet volume, dan alat-alat gelas lainnya disterilkan dengan oven pada suhu 170°C selama 2 jam, sedangkan yellow tip, media dan Aquadest, NaCl 0,9 % disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit[7].

Uji Aktivitas Antibakteri

Sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri, maka dilakukan penyiapan koloni bakteri serta pembuatan suspensi bakteri. dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan Metode *Kirby Bauer* (kertas cakram)[8].

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan statistika. Dilakukan uji pendahuluan dengan uji Kolgomorov-Smirnov untuk memeriksa normalitas data dan uji Levene untuk melihat homogenitas data. Jika data yang diuji terdistribusi normal dan homogen ($p > 0.05$), maka dilanjutkan dengan uji parametrik meliputi uji t berpasangan, ANOVA satu jalur dilanjutkan uji t Tukey's dengan taraf kepercayaan 95% untuk menunjukkan perbedaan yang signifikan antar pasangan kelompok. Jika dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji Levene tidak didapatkan distribusi normal dan homogenya, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu uji Wilcoxon.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi Kefir Komersial dengan Jumlah Awal Biji Kefir yang Digunakan

Menurut rancangan penelitian awal, jumlah awal starter biji kefir yang digunakan sebesar 2% dari total volume susu yang digunakan. Dari rancangan tersebut kemudian dilakukan orientasi awal pembuatan kefir menggunakan stater biji kefir 2%, kemudian dilihat hasilnya. Apabila sudah terbentuk kefir maka jumlah awal terkecil starter kefir yang dibuat adalah 2% (dari jumlah medium susu yang digunakan), namun apabila belum terbentuk kefir maka dilakukan pembuatan kefir dengan jumlah konsentrasi 4% (dari jumlah medium susu yang digunakan).

Dari percobaan yang dilakukan didapatkan hasil bahwa jumlah awal starter biji kefir yang dapat membentuk kefir sebesar 2% dari jumlah volume susu dengan inkubasi selama 2 hari.

Tabel 1.Perbandingan kefir hasil penelitian dengan produk komersial

Organoleptis	Produk komersial kefir	Kefir 2%	Kefir 4%	Kefir 6%
Rasa	Asam, khas	Asam, khas	Asam, khas	Asam, khas
Aroma	Khas kefir	Khas kefir	Khas kefir	Khas kefir
Keasaman	Asam	Asam	Asam	Asam

Adapun alasan kefir sudah terbentuk yang hanya dengan menggunakan biji kefir 2% adalah dikarenakan cuaca di Indonesia yang hangat sehingga proses fermentasi kefir menjadi lebih optimal dibanding membuat kefir di negara lain yang memiliki cuaca dingin.

Validasi Metode Kertas Cakram dengan Kontrol Positif

Hasil validasi metode kertas cakram dengan menggunakan kontrol positif yang menggunakan Antibiotik yang ditempelkan dipermukaan media TSA yang telah ditanam bakteri *Propionibacterium acnes* adalah terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram yang mengandung Antibiotik.

Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi difusi senyawa Antibiotik dari kertas cakram ke dalam medium sehingga menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Dengan begitu, apabila kertas cakram ditetesi dengan kefir maka kefir akan berdifusi dan dapat dilihat kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*.

Validasi Inkubator dan Media TSA

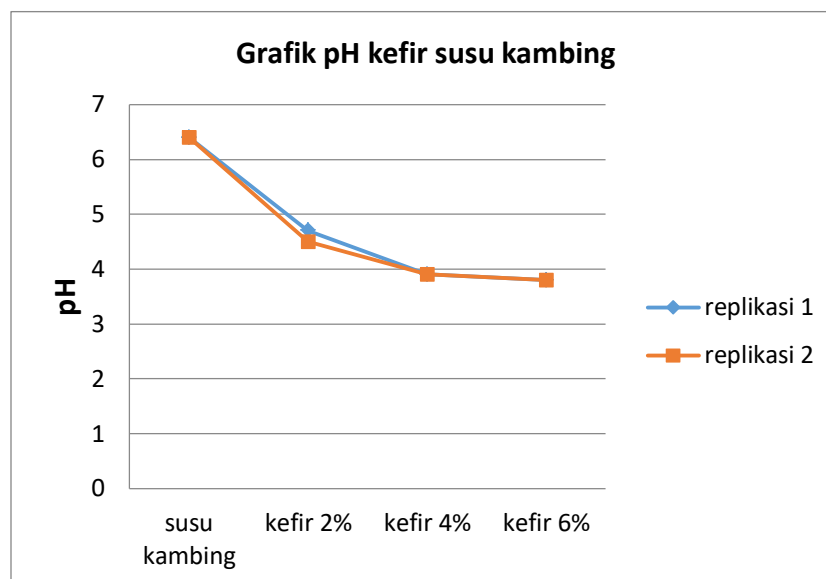
Hasil validasi Inkubator dan media TSA adalah terbentuknya pertumbuhan bakteri pada media hal ini menunjukkan bahwa Inkubator bekerja dengan baik dan media TSA yang digunakan dapat menumbuhkan bakteri *Propionibacterium acnes*. Yang nanti akan digunakan untuk uji aktivitas.

Hasil Uji pH Kefir

Uji pH ini dilakukan untuk melihat tingkat keasaman kefir susu kambing maupun susu kambing baik sebelum atau sesudah diinkubasi.

Tabel 2. Hasil pH kefir susu kambing

pH kefir susu kambing		
Susu	pH	
	replikasi 1	replikasi 2
susu kambing	6.4	6.4
kefir 2%	4.7	4.5
kefir 4%	3.9	3.9
kefir 6%	3.8	3.8



Gambar 1. Grafik pH kefir susu kambing

Dari hasil grafik pH di atas, hasil menunjukkan bahwa semakin besar jumlah biji kefir yang digunakan, pH yang dihasilkan semakin kecil. Hal ini disebabkan karena pada biji kefir yang lebih banyak, maka jumlah bakteri penghasil asam seperti bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat lebih banyak juga, sehingga jumlah laktosa yang diubah menjadi asam organik oleh bakteri tersebut semakin banyak.

Kemampuan kefir dalam menghambat pertumbuhan bakteri *patogen*, melalui banyak sebab, diantaranya adalah kondisi asam pada kefir sehingga bakteri *patogen* tertentu yang tidak tahan asam atau pertumbuhannya yang terhambat karena suasana asam akan sulit berkembang sehingga bakteri tersebut akan mati karena tidak terjadi proses reproduksi. Hal tersebut dapat dilihat dari grafik pH pada gambar diatas yang menunjukkan perubahan pH yang keasamannya meningkat dari susu menjadi kefir.

Sebab kedua bisa disebabkan oleh metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri penghuni biji kefir yaitu Bakteriosin, senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain yang sensitif terhadapnya. Pada dasarnya setiap makhluk hidup memiliki cara sendiri untuk melawan spesies lain yang mengancam keberadaannya, seperti halnya senyawa Antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri jenis tertentu untuk membunuh bakteri lain, Bakteriosin adalah senyawa yang dihasilkan oleh bakteri pada biji kefir.

Sebab terakhir adalah karena bakteri pada biji kefir adalah bakteri probiotik, yaitu bakteri yang dapat menunjang kehidupan manusia dengan cara membantu metabolisme senyawa tertentu dalam tubuh manusia ataupun dengan mendesak pertumbuhan bakteri patogen dalam tubuh sehingga terjadi keseimbangan antara flora normal usus dalam tubuh manusia. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan zona bening yang makin lama diinkubasi akan tertutup oleh koloni bakteri yang berasal dari kertas cakram yang mengandung kefir. Bakteri tersebut adalah bakteri probiotik yang berasal dari kefir[9].

Hasil Uji Mikrobiologi

Hasil diameter Zona Hambat Kefir Susu Kambing

Dari percobaan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk melihat diameter zona hambat. Hasil percobaan diameter zona hambat kefir susu kambing dapat dilihat pada Tabel dibawah.

Tabel 3.Diameter Zona Hambat Kefir Susu Kambing

Kelompok	replikasi (mm)		
	replikasi 1	replikasi 2	replikasi 3
2%	10	8	8
4%	12	10	11
6%	13	13	12
Kontrol positif	22	19	20
Kontrol negative	6	6	6

Tabel 4. Hasil Kekuatan Antibakteri

Kelompok	Hasil Kekuatan zona hambat (mm)				Kriteria kekuatan antibakteri
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata -rata	
Kontrol negatif	0	0	0	0	Tidak ada
Kontrol positif (2µg)	16	13	14	14.3	Daya hambat kuat
Kefir 2%	4	2	2	2.6	Daya hambat lemah
Kefir 4%	6	4	5	5	Daya hambat sedang
Kefir 6%	7	7	6	6.67	Daya hambat sedang

Berdasarkan tabel diatas, hasil dari uji aktivitas antibakteri adalah nilai diameter zona hambat (mm) kelompok konsentrasi kefir yang akan dibandingkan terhadap diameter zona hambat kontrol negatif (susu) dan kontrol positif (antibiotik). Dari semua kelompok kefir (2%, 4%, dan 6%) memiliki nilai diameter zona hambat yang lebih besar dibanding kontrol negatif yang menandakan bahwa kelompok kefir memiliki aktifitas antibakteri, kemudian diameter zona hambat kelompok kefir tidak lebih besar dibanding kontrol positif yang menandakan juga bahwa aktifitas antibakteri kefir tidak sekuat antibiotik. Diantara kelompok kefir, rata-rata diameter zona hambat terbesar adalah kefir 6%. Dari kriteria kekuatan antibakteri kefir, kefir 2 % termasuk kriteria daya hambat lemah sedangkan kefir 4% dan 6% memiliki kriteria daya hambat sedang.

Hasil kontrol positif memiliki nilai daya hambat yang cukup bervariasi. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu cara pembuatan media, ketebalan media agar, dan pemerataan suspensi bakteri pada media agar.

Kesimpulan sementara yang dapat diambil adalah kefir memiliki aktifitas antibakteri namun tidak sekuat antibiotik dan formula kefir dengan aktifitas terkuat adalah kefir 6%. Kemudian data tersebut diuji statistik.

Berdasarkan hasil uji statistik, didapatkan nilai P value sebesar $0.575 > 0.05$ untuk uji Normalitas dan P value $0.089 > 0.05$ untuk uji Homogenitas sehingga disimpulkan data bersifat terdistribusi normal dan homogen.

Kemudian hasil uji Anova diperoleh nilai F hitung ($88.233 > F$ tabel (3.259167)), maka H_0 ditolak. Dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan antara rata-rata nilai diameter zona hambat kefir 2%, 4%, 6%, kontrol (+) dan kontrol (-).

Setelah diketahui ada perbedaan di antara kelima kelompok data di atas, selanjutnya dilakukan uji Tukey dan Duncan untuk melihat hubungan antar kelompok data dan melihat kelompok manakah yang memiliki daya hambat terbesar. Hasil uji Tukey kemudian diinterpretasikan pada tabel dibawah

Tabel 5. Interpretasi Hasil Uji Tukey kefir susu kambing

Formula	Kontrol +	2%	4%	6%	Kontrol -
Kontrol +		+	+	+	+
2%	+		-	+	-
4%	+	-		-	+
6%	+	+	-		+
Kontrol -	+	-	+	+	

Keterangan :

(+) : berbeda bermakna

(-) : tidak berbeda bermakna

Dari hasil Tukey di atas, dapat dilihat bahwa hasil diameter zona hambat kelompok kontrol (+) berbeda bermakna dengan semua kelompok (kelompok 2%, 4%, 6%, dan kontrol (-)). Hal ini menunjukkan bahwa ternyata Antibiotik yang dipakai sebagai kontrol (+) memiliki aktivitas Antibakteri yang terbesar terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

Kemudian hasil perbandingan antara kefir dengan kontrol negatif menunjukkan bahwa antara kontrol negatif dengan kefir 4% dan 6% terdapat perbedaan bermakna, sedangkan antara kontrol negatif dengan kefir 2% tidak terdapat perbedaan bermakna sehingga disimpulkan kefir 4% dan 6% memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* sedangkan kefir 2% tidak memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

Dari hasil uji Duncan yang diperoleh, dapat dilihat bahwa nilai diameter zona hambat terbesar adalah kelompok kontrol (+) > kefir 6% > kefir 4% > kefir 2% > kontrol (-). Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa kefir dengan penambahan biji kefir 6% dari total susu kambing adalah formula yang terbaik.

KESIMPULAN

Kefir susu kambing memiliki aktivitas Antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yang termasuk kategori lemah untuk kefir 2 % dan kategori sedang untuk kefir 4% dan 6% dan formula aktivitas Antibakteri terbesar adalah kefir dengan penambahan biji kefir sebesar 6% dari jumlah susu yang digunakan.

DAFTAR RUJUKAN

1. Loveckova, Y.; Havlikova, I. A. Microbiological Approach to Acne Vulgaris. 2002;2: 29-32.
2. Kosikowski, F. Cheese and Fermented Foods. Di dalam: wood R. J. B. Microbiology of Fermented Food. London: blackie Academic and Professional An Imprint of Thomson Science 2-6 Boundary Row.1982
3. Otlés.; Semih.;Cagind.; Ozem. “Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional, and Therapeutic Aspects”. Pakistan Journal of Nutrition. 2003;2: 54-59.
4. Jawetz, E.; Melnick, Y.L.; Adelberg, E.A. Mikrobiologi Kedokteran Edisi XX, Diterjemahkan oleh Edi Nugroho dan RF. Maulany, Penerbit EGC, Jakarta. 1996.
5. Suriawiria, U. *Mikrobiologi Dasar*, Papas Sinar Sinanti, Jakarta ; 2005.49.
6. Rahman, A., S. *et al. Bahan Pengajaran Teknologi Fermentasi Susu*.Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. 1992.
7. Manu, K. R. *Sterilisasi, Teknik Aseptik Laboratoriu, Media Pertumbuhan Bakteri Dan Isolasi Bakteri*. Laporan Praktikum Bakteriologi Dan Mikrobiologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Nusa Cendana. Kupang; 2013.
8. Noverita, D,F., et al, *Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Dari Daun dan Rimpang Zingiber ottensii* Vol, jurnal Farmasi Indonesia. 2009;(4): 171-176 Sharma, D. a. Y. P. *Preliminary and Pharmacological Profile of Melia azedarach L:An Overview*. Journal of Applied Pharmaceutal Science, 2013;3(12): 133-138.
9. Agustina, L.; Setyawardani, T.; Astuti ,T, Y. “Penggunaan Starter Biji Kefir dengan Konsentrasi yang berbeda pada susu sapi terhadap pH Kadar Asam Laktat”. 2013;1: 254-259.