Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

EKSPLORASI SIFAT FUNGSIONAL DAN APLIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT PROBIOTIK PADA PRODUK SUSU FERMENTASI: TINJAUAN LITERATUR

Exploration of Functional Properties and Applications of Probiotic Lactic Acid Bacteria in Fermented Milk Products: A Literature Review

Putri Dian Wulansari[1], Nurul Frasiska[2], Nurul Mukminah[3], Rifda Naufalin[4*]

[1,2] Departemen of Animal Science Faculty of Agriculture, Universitas Perjuangan Tasikmalaya, Tasikmalaya, West Java, Indonesia
[3] Departemen of Agroindustry Faculty of Agriculture, Politeknik Negeri Subang, Subang, West Java, Indonesia
[4]Departemen of Food Technology Faculty of Agriculture, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Central Java, Indonesia

***Alamat koresponden:** rifda.naufalin@unsoed.ac.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Bakteri asam laktat (BAL) probiotik dalam produk susu fermentasi mendapat perhatian khusus karena kemampuannya menawarkan manfaat kesehatan yang beragam sekaligus meningkatkan kualitas produk. Eksplorasi menyeluruh terhadap sifat fungsional dan aplikasi BAL probiotik masih diperlukan untuk memenuhi kebutuhan industri susu yang terus berkembang. **Tujuan:** Kajian ini bertujuan untuk menganalisis dan mengevaluasi sifat fungsional, mekanisme kerja, dan aplikasi bakteri asam laktat probiotik pada berbagai produk susu fermentasi melalui pendekatan tinjauan literatur terpadu. **Metode:** Tinjauan literatur terstruktur dilakukan dengan mengumpulkan artikel dari basis data Scopus, PubMed, dan Google Scholar menggunakan kata kunci "bakteri asam laktat probiotik," "sifat fungsional," dan "produk susu fermentasi" untuk publikasi tahun 2015–2025. Dari 120+ artikel yang ditemukan, 35 artikel dipilih berdasarkan kriteria: (1) mengkaji sifat fungsional BAL probiotik, (2) fokus pada produk susu fermentasi, (3) metodologi yang jelas, dan (4) tersedia full-text. **Hasil:** BAL probiotik menunjukkan aktivitas antioksidan, imunomodulator, antimikroba, dan hipokolesterolemik. Aplikasi dominan ditemukan pada yogurt, kefir, dan susu fermentasi lainnya dengan peningkatan signifikan pada viskositas, stabilitas gel, dan penurunan sineresis. Strain *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, dan *Streptococcus thermophilus* menunjukkan potensi tertinggi. Manfaat kesehatan mencakup peningkatan kekebalan mukosa usus, pencegahan gastritis kronis, dan induksi antibodi IgA. **Kesimpulan:** BAL probiotik memiliki prospek besar sebagai biofungsional dalam industri susu fermentasi dengan keunggulan ganda (kesehatan dan kualitas). Namun, diperlukan penelitian lebih lanjut pada aspek bioavailabilitas, stabilitas penyimpanan jangka panjang, dan viabilitas pada skala produksi industri.

Kata kunci: fungsional, isolat, probiotik, produk susu, seleksi bakteri

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

ABSTRACT

Background: *Probiotic lactic acid bacteria (LAB) in fermented milk products have attracted considerable attention due to their ability to offer diverse health benefits while simultaneously improving product quality. Comprehensive exploration of the functional properties and applications of probiotic LAB is still needed to meet the evolving demands of the dairy industry.* ***Objective:*** *This study aims to analyze and evaluate the functional properties, mechanisms of action, and applications of probiotic lactic acid bacteria in various fermented milk products through a comprehensive literature review approach.* ***Methods:*** *A structured literature review was conducted by collecting articles from Scopus, PubMed, and Google Scholar databases using keywords "probiotic lactic acid bacteria," "functional properties," and "fermented milk products" for publications between 2015–2025. From 120+ identified articles, 35 were selected based on inclusion criteria: (1) investigation of functional properties of probiotic LAB, (2) focus on fermented milk products, (3) clear methodology, and (4) full-text availability.* ***Results:*** *Probiotic LAB demonstrated antioxidant, immunomodulatory, antimicrobial, and hypocholesterolemic activities. Dominant applications were identified in yogurt, kefir, and other fermented milk products with significant improvements in viscosity, gel stability, and reduction of syneresis. Strains of Lactobacillus plantarum, Lactobacillus kefiranofaciens, and Streptococcus thermophilus exhibited the highest potential. Health benefits included enhanced intestinal mucosal immunity, prevention of chronic gastritis, and induction of IgA antibodies.* ***Conclusion:*** *Probiotic LAB show significant potential as biofunctional agents in the fermented milk industry with dual advantages (health and quality enhancement). However, further research is required on bioavailability, long-term storage stability, and viability at industrial production scales.*

Keyword: lactic acid bacteria, probiotics, functional properties, fermented milk, literature review

PENDAHULUAN

Meningkatnya kesadaran konsumen akan pola makan dan kesehatan telah mendorong perkembangan makanan fungsional yang mengandung probiotik. Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang, jika dikonsumsi dalam jumlah tertentu, dapat memberikan manfaat kesehatan di luar nutrisi dasar (Wang et al., 2015). Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi mengakibatkan adanya perkembangan dari definisi probiotik sendiri. The international Scientifik Assosiation of Probiotics and Prebiotics (ISSAP), menyatakan bahwa probiotik saat ini bukan hanya mikroorganisme hidup tetapi merupakan strain yang teridentifikasi dengan baik (well-defined strains) (Hill et al., 2014).

Strain bakteri probiotik yang tersedia secara komersil dengan berbagai manfaat yang ditawarkan sudah banyak dipasaran, akan tetapi skrining strain baru dipandang masih menarik dari

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

segi industri (Ayeni et al., 2011). Sumber isolat yang berpotensi memiliki sifat probiotik dapat diperoleh dari manusia, hewan, tumbuhan dan lingkungan (Shokryazdan et al., 2017). Metode untuk mendapatkan strain probiotik dapat dilakukan dengan tahapan seleksi, identifikasi, dan karakterisasi bakteri yang diperoleh. Syarat untuk dapat dipertimbangkan ke dalam kategori yang berpotensi sebagai probiotik adalah setiap strain bakteri harus memiliki beberapa sifat khusus. Sifat-sifat tersebut meliputi ketahanan terhadap asam lambung, resistensi terhadap garam empedu, kemampuan perlekatan pada lendir dan/atau sel epitel usus, serta aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen (FAO/WHO, 2002; Shokryazdan et al., 2017). FAO/WHO menyarankan dalam pedomannya bahwa setiap strain yang berpotensi sebagai probiotik harus diidentifikasi dengan benar, diikuti dengan berbagai tes *in vitro* untuk menyelidiki sifat fungsionalnya (Joint, 2002).

Produk susu fermentasi banyak digunakan sebagai pembawa probiotik karena mengandung nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri probiotik. Selain itu, penambahan bakteri probiotik pada produk susu juga bermanfaat, salah satunya untuk memperpanjang umur simpan susu. Penambahan senyawa probiotik pada produk susu dapat meningkatkan kualitas produk dan sifat fungsionalnya. Sifat fungsional atau kesehatan dari probiotik pada produk susu dapat dianalisis dengan secara sel kultur (*in vitro*), sedangkan model hewan (*in vivo*) harus diikuti dengan pembuktian melalui uji klinis manusia (*in vivo*) tentunya dilakukan dengan metodologi yang tepat. Tujuan dari artikel ini adalah meninjau perkembangan definisi probiotik, bahan yang dapat digunakan sebagai sumber isolat probiotik, metode seleksi dan identifikasi probiotik, aplikasi probiotik pada produk susu, serta manfaat kesehatan dari bakteri probiotik.

METODE

Studi literatur ini disusun berdasarkan tinjauan komprehensif terhadap berbagai artikel penelitian ilmiah. Artikel-artikel yang telah dikumpulkan kemudian ditelaah secara mendalam untuk mengekstraksi informasi esensial. Selanjutnya, data dari masing-masing literatur tersebut disintesis secara sistematis guna merumuskan kesimpulan akhir yang relevan dengan tujuan kajian.

.

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengertian Probiotik

Istilah probiotik pada mulanya memiliki pengertian yang berbeda-beda. Elie Metchnikoff merupakan pemenang Nobel yang mengajukan konsep probiotik pertama kali, bahwa konsumsi beberapa bakteri tertentu dapat secara menguntungkan dan mempengaruhi saluran pencernaan manusia (Lilly & Stillwell, 1965). Lilley dan Stilwell menggunakan kata probiotik yang berasal dari Bahasa Yunani yang memiliki arti berkembang biak. Istilah probiotik pertama kali muncul pada tahun 1965 dengan definisi sebagai substansi yang dihasilkan oleh satu mikroorganisme yang dapat menstimulasi pertumbuhan mikroorganisme yang lain (Metchnikoff, 1907). Selanjutnya dijelaskan oleh Parker, bahwa probiotik sebagai organisme dan zat yang berkontribusi terhadap keseimbangan mikroba usus (Parker, 1974). Pada tahun 1989, Fuller memperbaiki definisi tersebut dengan mengartikan sebagai suplemen pangan/pakan berupa mikroorganisme hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi inang yang mengkonsumsinya melalui keseimbangan mikrobiota saluran pencernaan (Fuller, 1989). Definisi diperluas oleh (Guarner & Schaafsma, 1998) yaitu mikroorganisme hidup yang bila dikonsumsi dalam jumlah yang memadai, memberikan efek kesehatan pada inang.

Pada tahun 2001, ilmuan internasional dari Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) dan WHO mengeluarkan definisi probiotik yaitu merupakan mikroorganisme hidup yang bila diberikan dalam jumlah cukup, yang setelah dikonsumsi dapat memberikan manfaat kesehatan tambahan yang berasal dari probiotik pada inang (FAO/WHO, 2001). Pada tahun 2002, kelompok kerja FAO/WHO membuat pedoman untuk membantu menginterprestasi dokumen asli (Morelli & Capurso, 2012). The international Scientifik Assosiation of Probiotics and Prebiotics (ISSAP), pada tanggal 23 Oktober 2013 menyelenggarakan pertemuan dengan para ahli klinis tentang probiotik untuk mengkaji kembali konsep probiotik (Hill et al., 2014). The international Scientifik Assosiation of Probiotics and Prebiotics (ISSAP), merekomendasikan bahwa probiotik tidak hanya mikroorganisme hidup tetapi merupakan strain yang teridentifikasi dengan baik (Hill et al., 2014).

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

Sumber Isolat Probiotik

Penelitian tentang eksploitasi bakteri asam laktat (BAL) dalam produksi makanan fermentasi telah lama dilakukan. Hal ini didorong oleh kemampuan BAL dalam menghasilkan perubahan rasa, aroma, dan tekstur yang diinginkan, sekaligus menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen dan pembusuk. BAL telah terlibat dalam berbagai proses fermentasi makanan yang telah dikonsumsi manusia selama ribuan tahun. Oleh karena itu, sebagian besar kelompok BAL dianggap tidak menimbulkan risiko kesehatan bagi manusia dan ditetapkan berstatus GRAS *(Generally Recognized as Safe)* (Jamuna & Jeevaratnam, 2004). Saat ini, eksploitasi bakteri lebih dikhususkan untuk mendapatkan bakteri yang berperan sebagai probiotik. Hal ini dikaitkan dengan peran dan manfaat luas yang ditawarkan oleh strain probiotik pada produk susu fermentasi. Namun, selain penggunaan strain probiotik, terdapat pula alternatif mikroba lain yang dapat digunakan sebagai agen fungsional, seperti kultur starter non-probiotik atau kultur pelindung (*protective cultures*) yang umum digunakan dalam industri susu fermentasi. Pemilihan agen mikroba tersebut, baik probiotik maupun alternatif lainnya, tidak hanya didasarkan pada kemampuan dalam menghambat bakteri patogen, tetapi juga berdasarkan karakteristik strainnya, seperti sifat fungsional spesifik yang dimiliki (Jena et al., 2013).

Meskipun sejumlah strain probiotik dengan kemampuan baik tersedia secara komersil diseluruh dunia, skrining untuk strain baru masih menarik jika dilihat dari sudut pandang industri. Dari perspektif industri, penemuan strain baru membuka peluang untuk pengembangan produk inovatif yang memiliki keunggulan kompetitif di pasar global. (Ayeni et al., 2011). Terdapat banyak strain probiotik komersial di pasaran, tetapi masih ada permintaan untuk strain probiotik baru dengan karakteristik yang lebih baik daripada yang sudah ada. Sifat probiotik yang spesifik pada tingkat strain menuntut identifikasi dan karakterisasi yang ketat terhadap setiap galur baru demi memastikan efikasi dan kualitas galur yang diperoleh. Strain yang berpotensi memiliki sifat probiotik dapat diisolasi dari manusia, hewan, tumbuhan dan lingkungan (Shokryazdan et al., 2017). Susu dan produk turunannya merupakan sumber probiotik yang baik (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro, 2010). Sumber probiotik lainnya adalah saluran pencernaan pada manusia. Terdapat lebih dari 500 spesies bakteri berbeda yang berada pada usus manusia (Fontana et al., 2013). Tidak hanya terbatas pada saluran pencernaan manusia, isolasi bakteri yang berpotensi sebagai probiotik juga bisa dilakukan pada beberapa spesies hewan yang merupakan sumber

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

probiotik yang baik, seperti babi, tikus, dan unggas (Petrof, 2009). Strain probiotik juga ditemukan dalam substrat fermentasi non susu (Rivera-Espinoza and Gallardo-Navarro, 2010). Tabel 1 menyajikan sumber isolat dan jenis bakteri yang berpotensi sebagai probiotik yang di peroleh.

Tabel 1. Sumber isolate dan bakteri yang berpotensi sebagai probiotik

Sumber	Organisme	Pustaka
Feses bayi	*Lacticaseibacillus casei AP*	(Widodo & Anindita, 2014)
Feses bayi	*Lactobacillus casei* BF1; *Lactobacillus casei* BF2; *Lactobacillus casei* BF3	(Shokryazdan et al., 2014)
Feses tikus wistar jantan	*Lactobacillus helveticus* PJ4; *Lactobacillus plantarum* PJ7	(Jena et al., 2013)
Air susu ibu	*Lactobacillus acidophillus* HM1; *Lactobacillus acidophillus* HM2; *Lactobacillus acidophillus* HM3	(Shokryazdan et al., 2014)
Air susu ibu	*Lacticaseibacillus rhamnosus; Leuconostoc mesenteroides*	(Damaceno et al., 2021)
Air susu ibu	*Lactobacillus fermentum* JCM3	(Serrano-Nino et al., 2016)
Susu kambing	*Lactococcus plantarum* (DF60Mi); *Lactococcus lactis* (DF04Mi)	(da Silva et al., 2019)
Susu Kerbau	*Lactobacillus fermentum; Lactobacillus casei; Lactobacillus acidophilus; Bifidobacterium longum*	(Rahman, 2015)
Susu unta	*Lactobacillus plantarum KX881779; Lactococcus lactis KX881782*	(Abushelaibi et al., 2017)
Susu dan grain kefir	*Lactococcus lactis ssp. lactis*	(Yerlikaya, 2019)
Grain kefir	*Lactobacillus kefiranofaciens* 8U; *Lactobacillus diolivorans* 1Z; *Lactobacillus casei* 17U	(Zanirati et al., 2015)
Yogurt tradisional	*Pediococcus acidilacticii; Lactobacillus plantarum; Lactobacillus brevis; Lactobacillus fermentum*	(Sharifi Yazdi et al., 2017)
Keju putih	*Enterococcus faecium*	(Albayrak & Duran, 2021)

Keju Bazoft	*Lactobacillus brevis*	(Dehghani Champiri et al., 2022)
Susu fermentasi	*Lactobacillus casei* MSJ1; *Lactobacillus casei* Dwan5; *Lactobacillus plantarum* EyLan2; *Enterococcus faecium* Gail-BawZir8	(Bin Masalam et al., 2018)
Madu	*Lactobacillus kunkeei* HD1	(UĞRAŞ, 2017)
Anggur dan kurma fermentasi	*Lactobacillus buchneri* FG1; *Lactobacillus buchneri* FD1; *Lactobacillus buchneri* FD2	(Shokryazdan et al., 2014)
Makanan fermentasi tradisional (berbahan sorgum)	*Lactobacillus plantarum; Lactobacillus pentosus*	(Poornachandra Rao et al., 2015)
Makanan fermentasi tradisional (kimchi)	*Lactobacillus plantarum; Lactobacillus brevis*	(Gebru & Sbhatu, 2020)
Makanan fermentasi tradisional (Tarkhineh)	*Lactobacillus fermentum; Lactobacillus plantarum*	(Vasiee et al., 2014)

Berdasarkan Tabel 1, sumber isolat bakteri yang berpotensi sebagai probiotik sangat beragam dan dapat diperoleh dari berbagai matriks biologis maupun pangan. Sumber isolat tersebut meliputi feses bayi dan feses hewan (Widodo & Anindita, 2014; Jena et al., 2013), berbagai jenis susu seperti air susu ibu, susu kambing, susu kerbau, dan susu unta (Shokryazdan et al., 2014; da Silva et al., 2019; Rahman, 2015; Abushelaibi et al., 2017), produk susu fermentasi seperti kefir, yogurt tradisional, dan keju (Yerlikaya, 2019; Sharifi Yazdi et al., 2017; Albayrak & Duran, 2021), serta bahan pangan fermentasi non-susu seperti madu, anggur, kurma, sorgum, kimchi, dan Tarkhineh (Uğraş, 2017; Shokryazdan et al., 2014; Gebru & Sbhatu, 2020; Vasiee et al., 2014). Bakteri dari genus *Lactobacillus* mendominasi sebagai isolat yang ditemukan dari berbagai sumber tersebut, yang menunjukkan bahwa eksplorasi bakteri probiotik dapat dilakukan secara luas dari berbagai ekosistem biologis maupun substrat pangan fermentasi, sehingga membuka peluang bagi penemuan strain-strain baru dengan karakteristik probiotik yang lebih unggul.

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

Seleksi dan Identifikasi Probiotik

a. Seleksi strain probiotik

Langkah pertama dalam isolasi bakteri probiotik adalah memastikan sampel disimpan dalam kondisi yang memadai sebelum dilakukan inkubasi pada media seleksi, guna menjaga viabilitas mikroorganisme yang terkandung di dalamnya.. Sebagian besar probiotik bersifat anaerobik atau aerobik fakultatif, diharapkan sampel segera ditempatkan dalam kondisi anaerobik dan diproses sesegera mungkin. Beberapa media telah dirancang untuk isolasi yang efektif dan selektif. Sampel diinokulasi pada media agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48–72 jam. Inkubasi dilakukan dalam kondisi anaerobik untuk spesies sensitif oksigen seperti *Bifidobacterium*, sedangkan untuk Bakteri Asam Laktat (BAL) yang bersifat anaerob fakultatif, inkubasi dapat dilakukan dalam kondisi mikroaerofilik atau atmosfer yang mengandung banyak CO_2 guna mengoptimalkan pertumbuhan (Fontana et al., 2013).

FAO/WHO menyarankan bahwa setiap galur kandidat probiotik harus diidentifikasi secara akurat, diikuti dengan serangkaian pengujian *in vitro* untuk mengevaluasi sifat fungsionalnya. Hal ini didasarkan pada fakta bahwa sifat probiotik bersifat spesifik terhadap galur (*strain-specific*), kondisi, dan dosis tertentu; oleh karena itu, dua galur berbeda dari spesies yang sama tidak akan memiliki karakteristik fungsional yang identik (Joint, 2002). Hanya galur dengan profil karakterisasi yang jelas yang diperbolehkan untuk diaplikasikan dalam produk probiotik. Sejumlah kriteria seleksi telah ditetapkan sebagai uji awal *in vitro*, yang kemudian harus divalidasi melalui studi *in vivo* pada inang yang sehat untuk mengonfirmasi potensi probiotik dari galur yang telah terpilih (Morelli, 2000).

(FAO/WHO, 2002) telah menyediakan daftar uji *in vitro* yang umum digunakan untuk skrining dan karakterisasi galur probitik yang potensial dengan daftar sebagai berikut:

1. Ketahanan terhadap asam lambung
2. Aktivitas hydrolase gram empedu dan resistensi terhadap garam empedu
3. Kemampuan adhesi pada lendir (mukus) dan/atau sel epitel manusia serta *cell lines*
4. Aktifitas antimikroba dan antogonisme terhadap bakteri pathogen pada umumnya

b. Identifikasi menggunakan karakteristik fenotipik dan genotipik

Mengingat karakteristik fungsional probiotik bersifat spesifik pada tingkat galur (*strain-*

specific), pelaksanaan identifikasi isolat secara akurat menjadi tahapan yang sangat krusial. Setiap galur potensial harus diidentifikasi secara tepat menggunakan kombinasi metode fenotipik dan genotipik (FAO/WHO, 2002; Jacobsen et al., 1999). Di antara kedua pendekatan tersebut, identifikasi genotipik berbasis teknik molekuler menjadi tahapan yang paling utama dan wajib dilakukan, karena mampu mendiferensiasi mikroorganisme hingga tingkat spesies dan galur dengan resolusi serta akurasi yang tinggi (Morelli & Capurso, 2012).

Beberapa metode fenotipik dapat digunakan untuk mengidentifikasi strain bakteri termasuk pewarnaan Gram, morfologi koloni dan sel, persyaratan pertumbuhan, produksi enzim dan aktifitas metabolisme. Akan tetapi, metode fenotipik dasar seperti evaluasi morfologi dan pewarnaan Gram saat ini umumnya hanya diaplikasikan pada tahap skrining awal isolat. Di sisi lain, sistem identifikasi fenotipik komersial yang mengandalkan profil reaksi biokimia kini dianggap telah tertinggal zaman. Hal ini disebabkan oleh berbagai keterbatasan fungsional, pengaplikasian yang rumit, serta waktu analisis yang lama. Kendala tersebut menjadi semakin signifikan ketika metode ini digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang tumbuh lambat atau bersifat *fastidious* (membutuhkan persyaratan nutrisi dan lingkungan yang sangat spesifik) (Ochman et al., 2005).

Identifikasi genotipik telah diterapkan secara luas untuk mengidentifikasi isolat mikroba hingga tingkat spesies dan *strain*. Beberapa metode molekuler yang umum digunakan untuk identifikasi dan diferensiasi *strain* mikroba antara lain *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE), sekuensing gen rRNA, profil protein, *ribotyping*, *Polymerase Chain Reaction* (PCR) konvensional, serta *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) (Kizerwetter-Swida & Binek, 2005). Di antara metode-metode tersebut, sekuensing gen 16S rRNA merupakan pendekatan yang paling sering digunakan untuk identifikasi mikroba. Hal ini dikarenakan metode sekuensing gen 16S rRNA memiliki kemampuan dan keandalan untuk mengidentifikasi hubungan taksonomi antar *strain* mikroba (Petti et al., 2005).

Identifikasi genotipik berbasis molekuler sangat esensial untuk mendiferensiasi isolat hingga tingkat *strain* (Kizerwetter-Swida & Binek, 2005). Di antara berbagai metode yang ada, sekuensing gen 16S rRNA menjadi standar utama karena keandalannya dalam menentukan hubungan taksonomi dan filogenetik bakteri (Petti et al., 2005; Winker & Woese, 1991). Fragmen DNA 16S yang diamplifikasi ini juga sering dikombinasikan dengan teknik pemetaan molekuler

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

seperti *Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (PAGE) untuk mengidentifikasi komunitas bakteri kompleks (Langendijk et al., 1995; Muyzer & Smalla, 1998). Meskipun demikian, ukuran fragmen 16S rRNA yang relatif pendek (sekitar 1.500 bp) seringkali kurang sensitif untuk membedakan isolat secara spesifik hingga ke tingkat *strain*. Oleh karena itu, guna memenuhi kriteria karakterisasi probiotik yang ketat, analisis genom bakteri secara utuh (*Whole Genome Sequencing*) kini diakui sebagai instrumen paling mutakhir dan akurat, meskipun memerlukan proses yang lebih kompleks dan mahal (Fontana et al., 2013).

c. Karakterisasi

Agar bakteri probiotik dapat memberikan efek yang menguntungkan bagi inang, jumlah bakteri yang masih hidup ketika masuk dan bertahan di dalam saluran pencernaan menjadi faktor penentu yang sangat penting untuk diperhatikan. Oleh karena itu, bakteri probiotik harus memiliki karakteristik khusus yang mendukung keberlangsungan hidupnya di dalam saluran pencernaan, meliputi kapasitas resistensi terhadap asam dan garam empedu, aktivitas *Bile Salt Hydrolase* (BSH), serta kemampuan penempelan pada mucus dan sel epitel, dan aktivitas antimikroba. Berbagai uji *in vitro* telah dirancang untuk meniru kondisi saluran pencernaan guna mengevaluasi karakteristik tersebut pada strain probiotik yang berpotensi (Masco et al., 2007).

d. Penempelan pada mucus atau sel epitel

Kemampuan adhesi (penempelan) *strain* probiotik pada mukus dan/atau sel epitel usus merupakan prasyarat utama untuk keberhasilan kolonisasi, yang berkorelasi langsung dengan perubahan positif pada mikrobiota usus (Lee & Salminen, 1995). Karakteristik adhesi ini sangat krusial karena berfungsi untuk memperpanjang waktu tinggal probiotik di saluran pencernaan, memfasilitasi eksklusi kompetitif terhadap bakteri patogen, serta memodulasi interaksi antara probiotik dengan sistem kekebalan inang (*host*). Untuk mengevaluasi parameter adhesi tersebut, terdapat beberapa metode uji *in vitro* yang umum diaplikasikan, antara lain: pengujian kapasitas adhesi menggunakan garis sel (*cell line*) Caco-2 (Dicks & Botes, 2010), penggunaan garis sel kolon HT-29 untuk menampilkan karakteristik khas diferensiasi enterosit (Gopal et al., 2001), serta pemanfaatan permukaan lempeng *microwell* untuk mengukur imobilisasi musin (Izquierdo et al., 2008).

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

e. Aktivitas antimikroba

Aktivitas antimikroba melawan bakteri patogen merupakan aspek penting lain yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan strain probiotik (Laparra & Sanz, 2009). Mekanisme probiotik dalam memberikan efek kesehatan sebagai antimikroba diantaranya adalah produksi zat antimikroba, kompetisi dengan patogen (Collado et al., 2007). Asam organik merupakan salah satu senyawa antimikroba yang paling penting dan memiliki karakteristik yang dihasilkan oleh BAL. BAL mampu membuat perubahan yang menguntungkan dalam lingkungan ekologi usus dengan memproduksi asam organik sehingga dapat mengurangi nilai pH di saluran pencernaan (Aroutcheva et al., 2001).

Aplikasi Probiotik Pada Produk Susu

Matriks makanan merupakan substrat yang menyediakan nutrisi dasar untuk pertumbuhan sekaligus bertindak sebagai medium pembawa bagi organisme probiotik (do Espirito Santo et al., 2011). Matriks ini memberikan peran yang sangat vital dalam mendukung pertumbuhan, mempertahankan viabilitas, serta memastikan pengiriman efek fungsional probiotik ke dalam tubuh inang (do Espirito Santo et al., 2011). Dalam konteks produk susu, tingginya kandungan protein dan lemak berperan penting sebagai matriks pelindung alami bagi probiotik, yang membantu mempertahankan kelangsungan hidup bakteri tersebut selama transit di saluran pencernaan (Saxelin et al., 2003). Secara spesifik, protein susu memiliki kapasitas *buffering* (penyangga pH) yang tinggi sehingga mampu melindungi sel probiotik dari kerusakan fatal akibat paparan asam lambung yang ekstrem serta garam empedu saat melewati saluran gastrointestinal (Ritter et al., 2009).

Susu fermentasi yang diperkaya dengan bakteri probiotik telah berkembang menjadi makanan fungsional yang sukses. Saat ini, minat konsumen semakin terfokus pada makanan yang memengaruhi kesehatan secara positif di luar nilai gizinya, sehingga perhatian besar diberikan pada produk probiotik (Tsend-Ayusha & Yoon, 2013). Berbagai produk olahan susu, seperti yogurt (Palomo et al., 2014) dan keju (Abadía-García et al., 2013), terus dikembangkan tidak hanya sebagai sumber probiotik yang baik, tetapi juga karena potensinya sebagai kultur multifungsi dengan sifat teknologi yang unggul.

Berbagai produk olahan susu, seperti yogurt (Palomo et al., 2014) dan keju (Abadía-García

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

et al., 2013), terus dikembangkan sebagai makanan fungsional pembawa probiotik (Tsend-Ayusha & Yoon, 2013). Namun, efek kesehatan dari produk tersebut sangat bergantung pada spesifisitas *strain* yang digunakan, bukan sekadar spesiesnya. Oleh karena itu, produk wajib mencantumkan identitas *strain* secara spesifik pada label dan menjamin jumlah bakteri hidup minimal sebesar 10^7 CFU/ml hingga akhir masa simpan (Tamime & Thomas, 2018). Keberhasilan fungsionalitas ini pada akhirnya sangat ditentukan oleh ketahanan hidup masing-masing *strain* terhadap kondisi matriks pangan pengbawanya, seperti tingkat keasaman, paparan oksigen, keterbatasan nutrisi, hingga senyawa antimikroba dari kultur *starter* (Fortin et al., 2011). Rangkuman mengenai aplikasi berbagai *strain* probiotik spesifik pada produk olahan susu beserta efek fungsional yang dihasilkannya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Produk susu sebagai substrat probiotik

Produk	Bakteri probiotik yang ditambahkan	Klaim	Pustaka
Susu kambing fermentasi	*Bifidobacteriumlongum*; Lactobacillus acidophilus	Susu kambing fermentasi diharapkan memiliki efek kesehatan yang menguntungkan didasarkan pada konsentrasi bakteri probiotik yang tinggi	(Tsend-Ayusha & Yoon, 2013)
Cottage cheese	*Lactobacillus casei; Lactobacillus rhamnosus*	Keju yang dibuat dengan probiotik tambahan menunjukan peningkatan pada asam laktat dan asam asetat	(Abadía-García et al., 2013)
Keju mozzarella	*Lactobacillus acidophilus* (S2)	Penambahan probiotik pada keju tidak hanya memperpanjang umur simpan akan tetapi juga meningkatkan sifat organolepti keju. Keju menjadi produk yang baik untuk memberikan probiotik pada konsumen.	(Mukhtar & Yaqub, 2020)
Keju cottage	*Lactobacillus plantarum* Lb41	Keju cottage yang mengandung strain ini tidak menunjukan perbedaan yang signifikan dalam fisikokimia, akan tetapi bakteri asam laktat di dalamnya dapat dipertahankan lebih lama dibandingkan dengan keju kontrol	(Jeon et al., 2016)
Keju Cheddar	*Lactobacillus acidophilus; Bifidobacterium bifidum;*	Penambahan bakteri probiotik pada penelitian ini tidak mengakibatkan efek yang signifikan pada semua parameter yaitu; fisikokimia,	(Rehman et al., 2021)

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

	Lactobacillus helveticas	produksi asam asetat; proteolitif dan sensoris	
Keju ricotta susu kerbau	*Lactobacillus acidophilus La-05*	Penambahan *Lactobacillus acidophilus La-05* tidak mengubah komposisi, tekstur, profil warna dan sensoris dari keju ricotta susu kerbau.	(Sameer et al., 2020)
Yogurt	*Lactobacillus plantarum* DKL109*; Lactobacillus plantarum* DKL119*; Lactobacillus paracasei* DKL121*; Lactobacillus casei* DKL128	*Lactobacillus plantarum* DKL119 ditemukan sebagai strain yang paling menjanjikan untuk digunakan kultur starter karena menunjukan hasil yang relative baik. Menunjukan hasil yang menjanjikan dalam persiapan pembuatan yogurt karena cepat dalam produksi asam selama fermentasi dan menunjukan viabilitas yang stabil selama penyimpanan.	(Cho et al., 2013)
Kefir	*Lactobacillus acidophilus* La-5; *Bifidobacterium bifidum* Bb-11	Jenis susu merupakan factor penting pada kelangsungan *Lactobacillus acidophilus* La-5 dan *Bifidobacterium bifidum* Bb-11 hingga akhir masa penyimpanan	(Buran et al., 2021)
Yogurt	*Lactobacillus casei*	*Lactobacillus casei* berpotensi digunakan untuk skala industri	(Bosnea et al., 2017)

Manfaat Kesehatan Probiotik

Dampak kesehatan dari produk olahan susu probiotik, seperti keju dan yogurt, telah banyak dievaluasi melalui uji kultur sel (*in vitro*) dan hewan coba (*in vivo*). Meskipun kedua metode tersebut bermanfaat sebagai tahap evaluasi awal, data yang dihasilkan belum memadai untuk menyimpulkan efikasi fungsionalnya secara pasti pada tubuh manusia. Oleh karena itu, setiap klaim kesehatan yang disematkan pada produk pangan probiotik wajib dibuktikan secara komprehensif melalui uji klinis pada manusia dengan metodologi yang tepat (Turkmen et al., 2019).

Manfaat kesehatan yang terkait dengan konsumsi kultur probiotik meliputi pengendalian infeksi usus, stimulasi motilitas usus untuk mengatasi sembelit, peningkatan penyerapan nutrisi tertentu dan toleransi laktosa, penurunan kadar kolesterol, aktivitas antikarsinogenik, serta stimulasi sistem kekebalan tubuh. Perlu ditekankan bahwa manfaat tersebut bersifat spesifik pada

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

tingkat *strain*, dan tidak ada satu *strain* pun yang mampu memberikan seluruh manfaat fungsional tersebut sekaligus (Cheng et al., 2019). Rangkuman berbagai studi mengenai efikasi kesehatan probiotik pada produk olahan susu, baik yang diuji secara *in vitro* maupun *in vivo*, disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Evaluasi strain probiotik untuk klaim kesehatan yang dimiliki

Produk	Bakteri probiotik	Jenis penelitian	Klaim	Pustaka
Yogurt	*Lactobacillus acidophilus* LA5; *Bifidobacterium lactis* BB12	*In vivo*	Meningkatkan kadar glutathione eritrosit	(Asemi, Jazayeri, et al., 2012)
Yogurt	*Lactobacillus acidophilus* LA5l *Bifidobacterium lactis* BB12	*In vivo*	Mempertahankan kadar serum insulin	(Asemi et al., 2013)
Yogurt	*Lactobacillus acidophilus* LA5; *Bifidobacterium lactis* BB12	*In vivo*	Tidak dapat mempengaruhi serum lipid	(Asemi, Samimi, et al., 2012)
Yogurt	*Lactobacillus acidophilus* LA5; *Bifidobacterium lactis* BB12	*In vivo*	Tidak menunjukan efek yang signifikan pada penurunan berat badan akan tetapi memiliki efek positif pada profil lipid dan sensitivitas insulin	(Madjd et al., 2016)
Susu fermentasi	*Lactobacillus casei* AP: *Lactobacillus casei* AG	*In vivo*	Konsumsi susu fermentasi dengan kandungan bakteri probiotik *Lactobacillus casei* AP atau	(Widodo et al., 2019)

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

			Lactobacillus casei AG mampu menurunkan LDL akan tetapi meningkat HDL	
Susu fermentasi	*Lactobacillus reuteri*- KX881777; *Lactobacillus plantarum*- KX881772: *Lactobacillus plantarum*- Kx881779; *Lactobacillus plantarum* DSM2468	*In vitro*	Susu fermentasi dengan strain *Lactobacillus plantarum*- KX881772 pada susu sapi fermentasi menunjukan aktifitas penghambatan α-glukosidase dan α-amilase yang lebih tinggi	(Ayyash et al., 2018)
Susu fermentasi	*Lactobacillus fermentum M2 e M7*	*In vitro*	Peningkatan penghambatan selama proses susu fermentasi (24 jam) dengan peningkatan α-amilase sebesar 56,47 vs 53.45 (M1 vs M7) dan α-glukosidase sebesar 7.09 vs 8.36 (M1 vs M7)	(Kinariwala et al., 2020)
Susu fermentasi	*Enterococcus faecalis*	*In vitro*	Susu fermentasi dengan *Enterococcus faecalis* DPC5154 menunjukan tingkat aktifitas penghabatan α-glukosidase tertinggi yaitu sebesar 33.41%	(Graham et al., 2019)
Keju cheddar	*Lactobacillus plantarum* JLK0142	*In vitro*	Penggunaan galur probiotik pembentuk EPS dalam perbaikan keju cheddar rendah lemak lebih efisien dalam menghambat enzim peningkatan α-amilase (45.63%) daripada hanya memasukan EPS dalam bentuk yang murni (41.03)	(Wang et al., 2019)

Indonesian Journal of Food Technology
ISSN 2962-6641
Department of Food Technology
Jenderal Soedirman University

Yogurt	*Lactobacillus acidophilus* II A – 2B4	*In vitro*	Yogurt yang diperkaya ekstrak rosella meningkatkan penghambatan α-glukosidase (35 vs 15%). Penghambatan sebanding dengan acarbose pada 0.1-0.5 ppm konsentrasi (24.88-33.45)	(Wihansah et al., 2018)

SIMPULAN

Probiotik tidak sekadar mikroorganisme hidup, melainkan mensyaratkan penggunaan *strain* yang teridentifikasi secara spesifik dan jelas (*well-defined strains*). Oleh karena itu, seleksi dan identifikasi kandidat probiotik baru harus dilakukan melalui tahapan metode yang sistematis, meliputi: (1) seleksi awal *strain* probiotik; (2) identifikasi berdasarkan karakteristik fenotipik dan genotipik; serta (3) karakterisasi fungsional. Adapun kriteria fungsional utama yang wajib dipenuhi oleh bakteri probiotik mencakup tingkat resistensi terhadap asam dan garam empedu, kemampuan penempelan (adhesi) pada sel mukus atau epitel usus, serta adanya aktivitas antimikroba. Pemenuhan seluruh kriteria ini sangat krusial untuk memastikan bahwa *strain* tersebut dapat bertahan hidup, berkolonisasi, dan memberikan manfaat kesehatan yang spesifik bagi inangnya.

DAFTAR PUSTAKA

Abadía-García, L., Cardador, A., del Campo, S. T. M., Arvízu, S. M., Castaño-Tostado, E., Regalado-González, C., García-Almendarez, B., & Amaya-Llano, S. L. (2013). Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganisms in simulated gastrointestinal conditions. *International dairy journal*, *33*(2), 191-197. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.04.005

Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N. P., & Ayyash, M. (2017). Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT-food Science and Technology*, *79*, 316-325. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.041

Albayrak, Ç. B., & Duran, M. (2021). Isolation and characterization of aroma producing lactic acid bacteria from artisanal white cheese for multifunctional properties. *Lwt*, *150*, 112053. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112053

Aroutcheva, A., Gariti, D., Simon, M., Shott, S., Faro, J., Simoes, J. A., Gurguis, A., & Faro, S. (2001). Defense factors of vaginal lactobacilli. *American journal of obstetrics and gynecology*, *185*(2), 375-379. https://doi.org/https://doi.org/10.1067/mob.2001.115867

Asemi, Z., Jazayeri, S., Najafi, M., Samimi, M., Mofid, V., Shidfar, F., Shakeri, H., & Esmaillzadeh, A. (2012). Effect of daily consumption of probiotic yogurt on oxidative stress in pregnant women: a randomized controlled clinical trial. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *60*(1), 62-68. https://doi.org/https://doi.org/10.1159/000335468

Asemi, Z., Samimi, M., Tabasi, Z., Talebian, P., Azarbad, Z., Hydarzadeh, Z., & Esmaillzadeh, A. (2012). Effect of daily consumption of probiotic yoghurt on lipid profiles in pregnant women: a randomized controlled clinical trial. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal*

Medicine, *25*(9), 1552-1556. https://doi.org/https://doi.org/10.3109/14767058.2011.640372

Asemi, Z., Samimi, M., Tabassi, Z., Naghibi Rad, M., Rahimi Foroushani, A., Khorammian, H., & Esmaillzadeh, A. (2013). Effect of daily consumption of probiotic yoghurt on insulin resistance in pregnant women: a randomized controlled trial. *European journal of clinical nutrition*, *67*(1), 71-74. https://doi.org/https://doi.org/10.1038/ejcn.2012.189

Ayeni, F. A., Sánchez, B., Adeniyi, B. A., Clara, G., Margolles, A., & Ruas-Madiedo, P. (2011). Evaluation of the functional potential of Weissella and Lactobacillus isolates obtained from Nigerian traditional fermented foods and cow's intestine. *International journal of food microbiology*, *147*(2), 97-104. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.03.014

Ayyash, M., Al-Nuaimi, A. K., Al-Mahadin, S., & Liu, S.-Q. (2018). In vitro investigation of anticancer and ACE-inhibiting activity, α-amylase and α-glucosidase inhibition, and antioxidant activity of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk. *Food chemistry*, *239*, 588-597. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.149

Bin Masalam, M. S., Bahieldin, A., Alharbi, M. G., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S. K., Harakeh, S. M., & Al-Hindi, R. R. (2018). Isolation, Molecular Characterization and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria in Saudi Raw and Fermented Milk. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2018*, 7970463. https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2018/7970463

Bosnea, L. A., Kopsahelis, N., Kokkali, V., Terpou, A., & Kanellaki, M. (2017). Production of a novel probiotic yogurt by incorporation of L. casei enriched fresh apple pieces, dried raisins and wheat grains. *Food and Bioproducts Processing*, *102*, 62-71. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.11.010

Buran, İ., Akal, C., Ozturkoglu-Budak, S., & Yetisemiyen, A. (2021). Rheological, sensorial and volatile profiles of synbiotic kefirs produced from cow and goat milk containing varied probiotics in combination with fructooligosaccharide. *LWT-Food Science and Technology 148*(111591), 1-8. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111591

Cheng, D., Song, J., Xie, M., & Song, D. (2019). The bidirectional relationship between host physiology and microbiota and health benefits of probiotics: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *91*, 426-435. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.044

Cho, Y.-H., Hong, S.-M., & Kim, C.-H. (2013). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from kimchi, Korean traditional fermented food to apply into fermented dairy products. *Food Science of Animal Resources*, *33*(1), 75-82. https://doi.org/https://doi.org/10.5851/kosfa.2013.33.1.75

Collado, M., Meriluoto, J., & Salminen, S. (2007). Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. *Letters in applied microbiology*, *45*(4), 454-460. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02212.x

da Silva, L. A., Lopes Neto, J. H. P., & Cardarelli, H. R. (2019). Safety and probiotic functionality of isolated goat milk lactic acid bacteria. *Annals of Microbiology*, *69*(13), 1497-1505. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13213-019-01533-z

Damaceno, Q. S., Gallotti, B., Reis, I. M., Totte, Y. C., Assis, G. B., Figueiredo, H. C., Silva, T. F., Azevedo, V., Nicoli, J. R., & Martins, F. S. (2021). Isolation and Identification of Potential Probiotic Bacteria from Human Milk. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 1-11. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12602-021-09866-5

Dehghani Champiri, I., Bamzadeh, Z., Rahimi, E., & Rouhi, L. (2022). Isolation and identification of lactobacillus brevis from cottage cheese of Bazoft City, Iran and evaluation of its antimicrobial activity against some pathogenic microorganisms. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, *16*(1), 17-34. https://doi.org/https://10.30699/ijmm.16.1.17

Dicks, L., & Botes, M. (2010). Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: health benefits, safety and mode of action. *Beneficial microbes*, *1*(1), 11-29. https://doi.org/https://doi.org/10.3920/BM2009.0012

do Espirito Santo, A. P., Perego, P., Converti, A., & Oliveira, M. N. (2011). Influence of food matrices on probiotic viability–A review focusing on the fruity bases. *Trends in Food*

Science & Technology, *22*(7), 377-385. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.04.008

Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food: Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada.

Fontana, L., Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Munoz-Quezada, S., & Gil, A. (2013). Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *British Journal of Nutrition*, *109*(S2), S35-S50. https://doi.org/https://doi.org/10.1017/S0007114512004011

Fortin, M.-H., Champagne, C. P., St-Gelais, D., Britten, M., Fustier, P., & Lacroix, M. (2011). Effect of time of inoculation, starter addition, oxygen level and salting on the viability of probiotic cultures during Cheddar cheese production. *International dairy journal*, *21*(2), 75-82. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.09.007

Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of applied bacteriology*, *66*(5), 365-378.

Gebru, Y. A., & Sbhatu, D. B. (2020). Isolation and Characterization of Probiotic LAB from Kimchi and Spontaneously Fermented Teff (Eragrostis tef (Zucc.) Trotter) Batter: Their Effects on Phenolic Content of Teff during Fermentation. *BioMed Research International*, *2020*. https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2020/4014969

Gopal, P. K., Prasad, J., Smart, J., & Gill, H. S. (2001). In vitro adherence properties of Lactobacillus rhamnosus DR20 and Bifidobacterium lactis DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic Escherichia coli. *International journal of food microbiology*, *67*(3), 207-216. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00440-8

Graham, K., Rea, R., Simpson, P., & Stack, H. (2019). Enterococcus faecalis milk fermentates display antioxidant properties and inhibitory activity towards key enzymes linked to hypertension and hyperglycaemia. *Journal of Functional Foods*, *58*, 292-300. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.052

Guarner, F., & Schaafsma, G. (1998). Probiotics. *International journal of food microbiology*, *39*(3), 237-238.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., & Salminen, S. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, *11*(8), 506-514. https://doi.org/https://doi:10.1038/nrgastro.2014.66 (Nat Rev Gastroenterol Hepatol)

Izquierdo, E., Medina, M., Ennahar, S., Marchioni, E., & Sanz, Y. (2008). Resistance to simulated gastrointestinal conditions and adhesion to mucus as probiotic criteria for Bifidobacterium longum strains. *Current Microbiology*, *56*(6), 613-618. https://doi.org/https://10.1007/s00284-008-9135-7

Jacobsen, C. N., Rosenfeldt Nielsen, V., Hayford, A., Møller, P. L., Michaelsen, K., Paerregaard, A., Sandstrom, B., Tvede, M., & Jakobsen, M. (1999). Screening of probiotic activities of forty-seven strains of Lactobacillus spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Applied and environmental microbiology*, *65*(11), 4949-4956. https://doi.org/https://doi.org/10.1128/AEM.65.11.4949-4956.1999

Jamuna, M., & Jeevaratnam, K. (2004). Isolation and characterization of lactobacilli from some traditional fermented foods and evaluation of the bacteriocins. *The Journal of general and applied microbiology*, *50*(2), 79-90. https://doi.org/https://doi.org/10.2323/jgam.50.79

Jena, P. K., Trivedi, D., Thakore, K., Chaudhary, H., Giri, S. S., & Seshadri, S. (2013). Isolation and characterization of probiotic properties of lactobacilli isolated from rat fecal microbiota. *Microbiology and immunology*, *57*(6), 407-416. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1348-0421.12054

Jeon, E. B., Son, S.-H., Jeewanthi, R. K. C., Lee, N.-K., & Paik, H.-D. (2016). Characterization of Lactobacillus plantarum Lb41, an isolate from kimchi and its application as a probiotic in cottage cheese. *Food science and biotechnology*, *25*(4), 1129-1133. https://doi.org/https://10.1007/s10068-016-0181-9

Joint, F. (2002). WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. *London, Ontario, Canada*, *30*.

Kinariwala, D., Panchal, G., Sakure, A., & Hati, S. (2020). Exploring the potentiality of lactobacillus cultures on the production of milk-derived bioactive peptides with antidiabetic activity. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, *26*(3), 1613-1627. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10989-019-09958-5

Kizerwetter-Swida, M., & Binek, M. (2005). Selection of potentially probiotic Lactobacillus strains towards their inhibitory activity against poultry enteropathogenic bacteria. *Polish journal of microbiology*, *54*(4), 287-294.

Langendijk, P. S., Schut, F., Jansen, G. J., Raangs, G. C., Kamphuis, G. R., Wilkinson, M., & Welling, G. W. (1995). Quantitative fluorescence in situ hybridization of Bifidobacterium spp. with genus-specific 16S rRNA-targeted probes and its application in fecal samples. *Applied and environmental microbiology*, *61*(8), 3069-3075. https://doi.org/https://doi.org/10.1128/aem.61.8.3069-3075.1995

Laparra, J. M., & Sanz, Y. (2009). Comparison of in vitro models to study bacterial adhesion to the intestinal epithelium. *Letters in applied microbiology*, *49*(6), 695-701. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02729.x

Lee, Y.-K., & Salminen, S. (1995). The coming of age of probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, *6*(7), 241-245. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89085-8

Lilly, D. M., & Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, *147*(3659), 747-748. https://doi.org/https://10.1126/science.147.3659.747

Madjd, A., Taylor, M. A., Mousavi, N., Delavari, A., Malekzadeh, R., Macdonald, I. A., & Farshchi, H. R. (2016). Comparison of the effect of daily consumption of probiotic compared with low-fat conventional yogurt on weight loss in healthy obese women following an energy-restricted diet: a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*, *103*(2), 323-329. https://doi.org/https://doi.org/10.3945/ajcn.115.120170

Masco, L., Crockaert, C., Van Hoorde, K., Swings, J., & Huys, G. (2007). In vitro assessment of the gastrointestinal transit tolerance of taxonomic reference strains from human origin and probiotic product isolates of Bifidobacterium. *Journal of dairy science*, *90*(8), 3572-3578. https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2006-548

Metchnikoff, E. (1907). Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. *The prolongation of life: Optimistic studies. W. Heinemann, London*, 161-183.

Morelli, L. (2000). In vitro selection of probiotic lactobacilli: a critical appraisal. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, *1*(2), 59-67.

Morelli, L., & Capurso, L. (2012). FAO/WHO guidelines on probiotics: 10 years later. *Journal of clinical gastroenterology*, *46*, S1-S2. https://doi.org/https://10.1097/MCG.0b013e318269fdd5

Mukhtar, H., & Yaqub, S. (2020). Production of probiotic Mozzarella cheese by incorporating locally isolated Lactobacillus acidophilus. *Annals of Microbiology*, *70*(1), 1-13. https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13213-020-01592-7

Muyzer, G., & Smalla, K. (1998). Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek*, *73*(1), 127-141.

Ochman, H., Lerat, E., & Daubin, V. (2005). Examining bacterial species under the specter of gene transfer and exchange. *Proceedings of the national academy of sciences*, *102*(suppl 1), 6595-6599. https://doi.org/https://doi.org/10.1073/pnas.0502035102

Palomo, M., Gutiérrez, A. M., Pérez-Conde, M. C., Cámara, C., & Madrid, Y. (2014). Se metallomics during lactic fermentation of Se-enriched yogurt. *Food chemistry*, *164*, 371-379. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.007

Parker, R. (1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition Health*, *29*, 4-8.

Petrof, E. O. (2009). Probiotics and gastrointestinal disease: clinical evidence and basic science. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*, *8*(3), 260-269. https://doi.org/https://doi.org/10.2174/187152309789151977

Petti, C., Polage, C. R., & Schreckenberger, P. (2005). The role of 16S rRNA gene sequencing in identification of microorganisms misidentified by conventional methods. *Journal of clinical microbiology*, *43*(12), 6123-6125. https://doi.org/https://doi.org/10.1128/JCM.43.12.6123-6125.2005

Poornachandra Rao, K., Chennappa, G., Suraj, U., Nagaraja, H., Charith Raj, A., & Sreenivasa, M. (2015). Probiotic potential of Lactobacillus strains isolated from sorghum-based traditional fermented food. *Probiotics and antimicrobial proteins*, *7*(2), 146-156. https://doi.org/https://10.1007/s12602-015-9186-6

Rahman, S. (2015). Probiotic properties analysis of isolated lactic acid bacteria from buffalo milk. *Arch Clin Microbiol*, *7*(1), 5-10.

Rehman, M. A. U., Sultan, W., Ajmal, M., Batool, M., Shah, S. A., Gulzar, N., & Arshad, R. (2021). Effect of Probiotic Strains on Sensory Attributes of Buffalo Milk Cheddar Cheese. *Journal of Food and Nutrition Research*, *9*(9), 492-498. https://doi.org/https://10.12691/jfnr-9-9-6

Ritter, P., Kohler, C., & von Ah, U. (2009). Evaluation of the passage of Lactobacillus gasseri K7 and bifidobacteria from the stomach to intestines using a single reactor model. *BMC microbiology*, *9*(1), 1-9. https://doi.org/https://10.1186/1471-2180-9-87

Rivera-Espinoza, Y., & Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, *27*(1), 1-11. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008

Sameer, B., Ganguly, S., Khetra, Y., & Sabikhi, L. (2020). Development and characterization of probiotic buffalo milk ricotta cheese. *Lwt*, *121*, 108944. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108944

Saxelin, M., Korpela, R., & Mäyrä-Mäkinen, A. (2003). Introduction: classifying functional dairy products. *Functional dairy products*, 1-16.

Serrano-Nino, J., Solis-Pacheco, J., Gutierrez-Padilla, J., Cobian-Garcia, A., Cavazos-Garduno, A., González-Reynoso, O., & Aguilar-Uscanga, B. (2016). Isolation and identification of lactic acid bacteria from human milk with potential probiotic role. *J Food Nutr Res*, *4*(3), 170-177. https://doi.org/https://doi.org/10.12691/jfnr-4-3-7

Sharifi Yazdi, M. K., Davoodabadi, A., Khesht Zarin, H. R., Tajabadi Ebrahimi, M., & Soltan Dallal, M. M. (2017). Characterisation and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Iranian traditional yogurts. *Italian Journal of Animal Science*, *16*(2), 185-188. https://doi.org/https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1222888

Shokryazdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., & Ho, Y. W. (2017). Probiotics: from isolation to application. *Journal of the American College of Nutrition*, *36*(8), 666-676. https://doi.org/https://doi.org/10.1080/07315724.2017.1337529

Shokryazdan, P., Sieo, C. C., Kalavathy, R., Liang, J. B., Alitheen, N. B., Faseleh Jahromi, M., & Ho, Y. W. (2014). Probiotic potential of Lactobacillus strains with antimicrobial activity against some human pathogenic strains. *BioMed Research International*, *2014*, 1-16. https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2014/927268

Tamime, A. Y., & Thomas, L. V. (2018). *Probiotic dairy products*. John Wiley & Sons.

Tsend-Ayusha, C., & Yoon, Y.-C. (2013). Developing fermented goat milk containing probiotic bacteria. *Foods and Raw materials*, *1*(2), 30-32.

Turkmen, N., Akal, C., & Özer, B. (2019). Probiotic dairy-based beverages: A review. *Journal of Functional Foods*, *53*, 62-75. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.004

UĞRAŞ, S. (2017). Isolation, identification and characterization of probiotic properties of bacterium from the honey stomachs of Yigilca honeybees in Turkey. *Turkish journal of entomology*, *41*(3), 253-261. https://doi.org/https://doi.org/10.16970/ted.74860

Vasiee, A., Yazdi, T. F., Mortazavi, A., & Edalatian, M. (2014). Isolation, identification and characterization of probiotic Lactobacilli spp. from Tarkhineh. *International Food Research Journal*, *21*(6), 2487.

Wang, J., Wu, T., Fang, X., & Yang, Z. (2019). Manufacture of low-fat Cheddar cheese by exopolysaccharide-producing Lactobacillus plantarum JLK0142 and its functional properties. *Journal of dairy science*, *102*(5), 3825-3838. https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2018-15154

Wang, J., Xing, Z., Tang, W., Zheng, Y., & Wang, Y. (2015). Isolation, identification, and potential probiotic characterization of one Lactococcus from kefir grain. *Food science and biotechnology*, *24*(5), 1775-1780. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10068-015-0231-8

Widodo, W., & Anindita, N. T., TT Wahyuningsih, TD. (2014). Evaluation of two Lactobacillus strains as probiotics with emphasis in utilizing prebiotic inulin as energy source. *international Research Journal of Microbiology*, *5*(3), 33-40. (Int Res J Microbiol)

Widodo, W., Harsita, P. A., Sukarno, A. S., & Nurrochmad, A. (2019). Antidiabetic effect of milk fermented using intestinal probiotics. *Nutrition & Food Science*, *6*, 1043-1047. https://doi.org/https://doi.org/10.1108/NFS-11-2018-0326

Wihansah, R., Arief, I., & Batubara, I. (2018). Anti-diabetic potency and characteristics of probiotic goat-milk yogurt supplemented with roselle extract during cold storage. *Tropical Animal Science Journal*, *41*(3), 191-199. https://doi.org/https://doi.org/10.5398/tasj.2018.41.3.191

Winker, S., & Woese, C. R. (1991). A definition of the domains Archaea, Bacteria and Eucarya in terms of small subunit ribosomal RNA characteristics. *Systematic and Applied Microbiology*, *14*(4), 305-310. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80303-6

Yerlikaya, O. (2019). Probiotic potential and biochemical and technological properties of Lactococcus lactis ssp. lactis strains isolated from raw milk and kefir grains. *Journal of dairy science*, *102*(1), 124-134. https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2018-14983

Zanirati, D. F., Abatemarco Jr, M., de Cicco Sandes, S. H., Nicoli, J. R., Nunes, Á. C., & Neumann, E. (2015). Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. *Anaerobe*, *32*(-), 70-76. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.12.007