

## ABSTRAK

### KOMPOSISI DAN IMBANGAN BAKTERI PADA PEMBUATAN YOGHURT TERHADAP NILAI HEMATOLOGIK MENCIT

Oleh : Lovita Adriani

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruhimbangan jumlah bakteri campuran antara spesies *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* terhadap keadaan hematologi mencit.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 12 perlakuan, ulangan 4 kali, sehingga terdapat 48 unit percobaan, masing-masing 5 ekor, total 240 ekor. Uji lanjut dengan uji Tukey's program minitab.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah eritrosit darah mencit kontrol (Eritrosit =  $3,55 \times 10^6$  butir/mm<sup>3</sup>, hemoglobin = 10,50 g/100 mL, nilai hematokrit = 45,50%), lebih rendah dibandingkan dengan semua perlakuan eritrosit = ( 3,63 – 5,83 ) x 10<sup>6</sup>, hemoglobin (10,10-16,10) g/100 mL, nilai hematokrit = ( 45,63-50,25) % .

Kesimpulan pemberian yoghurt yang mengandung tambahan probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* memperbaiki keadaan hematologi, terutama terjadi peningkatan jumlah eritrosit dan hemoglobin tetapi masih dalam kisaran normal. *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus acidophilus* merupakan dua mikroba yang dapat bertahan di dalam saluran pencernaan yang paling bawah (kolon) dibandingkan dengan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* sehingga kedua mikroba tersebut layak disebut probiotik. Mengonsumsi yoghurt denganimbangan yang tepat dapat menyeimbangkan keadaan hematologi pada mencit yang dapat diplikasikan pada manusia

Keyword : yoghurt, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*, probiotic

## PENDAHULUAN

Hematologi adalah ilmu yang mempelajari tentang darah, meliputi pembentukan dan penghancuran darah. Darah adalah suspensi dari partikel dalam larutan koloid cairan yang mengandung elektrolit. Perannya sebagai medium pertukaran antara sel-sel yang terfiksasi dalam tubuh dan lingkungan luar serta memiliki sifat-sifat protektif terhadap organisme, pula merupakan jaringan yang bersirkulasi di dalam tubuh dan berperan dalam mempertahankan homeostase dan menjaga keseimbangan fungsi-fungsi organ tubuh agar berjalan dengan sempurna (Baldy, 1995). Darah berfungsi sebagai media transportasi yang membawa zat-zat makanan dari saluran pencernaan ke jaringan tubuh, membawa oksigen dari paru-paru dan membawa sekresi kelenjar endokrin ke seluruh tubuh serta sebagai pertahanan melawan mikroba. Untuk mengetahui nilai hematologi dari seseorang dapat dilakukan dengan mengetahui jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan nilai hematokritnya (Swenson, 1987).

**Eritrosit** pada mammalia mempunyai inti dan berukuran lebih besar dibandingkan dengan unggas. Komponen-komponen penyusun eritrosit terdiri dari 60 persen air dan 40 persen konjugasi protein yang membentuk protein dan heme. Jumlah eritrosit pada satu individu sangat dipengaruhi oleh bangsa atau jenis, kondisi nutrisi, aktivitas fisik, kondisi tubuh, jenis kelamin, umur, musim, dan temperatur lingkungan. Jumlah eritrosit akan konstan pada lingkungan yang relatif normal, karena *eritropoesis* yang terjadi akan seimbang dengan destruksi eritrosit (Brown, 1989). Eritrosit dibentuk dalam sumsum tulang belakang dan dialirkan di dalam sirkulasi darah. Umur eritrosit kurang lebih 28 hari, setelah itu akan mengalami perombakan di limpa, sumsum tulang belakang, dan hati. Selain merombak eritrosit, limpa juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan eritrosit. Eritrosit mengandung hemoglobin yang mempunyai fungsi penting dalam mengangkut dan melakukan pertukaran  $O_2$  dan  $CO_2$  dari paru-paru ke berbagai

jaringan tubuh, dan pembentukannya dirangsang oleh hormon glikoprotein, eritroprotein yang berasal dari ginjal (Baldy, 195). Mikroba probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* yang sifatnya bakteriostatik bahkan bakteriosid targetnya adalah melindungi membran plasma yang berperan masuknya nutrisi dan keluarnya sisa metabolisme. Kerusakan membran sel akibat adanya bakteri patogen, akan mengganggu sifat permeabilitas dinding sel sehingga sel akan mengalami kebocoran dan kehilangan beberapa metabolit penting yang pada akhirnya akan berakhir dengan berkurangnya jumlah sel eritrosit (Swenson, 1987).

**Hemoglobin** merupakan pigmen eritrosit yang terdiri dari protein kompleks terkonjugasi yang mengandung besi. Proteinnya adalah globin yang merupakan suatu histon. Warna merah hemoglobin disebabkan suatu heme, suatu senyawa metalik yang mengandung satu atom besi. Hemoglobin terdapat dalam eritrosit dan merupakan 90 persen dari berat kering eritrosit. Hemoglobin berfungsi sebagai pigmen respirasi darah dan sebagai sistem bufer dalam darah, yang erat kaitannya dengan kemampuan darah membawa oksigen (Swenson, 1984). Kadar hemoglobin per milliliter darah ternyata bervariasi sesuai dengan fungsi respirasi sel dalam darah. Kadar hemoglobin dalam darah biasanya dinyatakan dalam gram per 100 ml darah. Mikroba non patogen antara lain *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, dan mikroba yang tergolong probiotik yaitu *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* mampu memproduksi asam asetat dan beberapa asam amino serta vitamin-vitamin yang diproduksi oleh mikroba, dan merupakan prekursor pembentukan hemoglobin. Asam asetat dan beberapa asam amino serta vitamin-vitamin yang diproduksi oleh mikroba, adalah merupakan prekursor pembentukan hemoglobin. Disamping hal tersebut mikroba yang tergolong bakteri asam laktat (BAL) mempunyai aktivitas mikrobial yang tinggi karena produk yang dihasilkannya seperti *acidophilin* yang dihasilkan oleh *Lactobacillus acidophilus* dan *bulgarican* oleh *Lactobacillus*

*bulgaricus*, juga *Bifidobacterium* akan menghambat pertumbuhan bakteri patogen baik yang tergolong gram positif atau negatif, diantaranya *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Shigella* dan *Pseudomonas*, yang dapat merusak permeabilitas membran sel dan akan berakhir dengan bocornya /rusaknya dinding sel sehingga berakibat keluarnya hemoglobin dari sel (Shahani et al, 1976, 1977; Reddy et al. , 1983).

**Nilai Hematokrit** adalah perbandingan antara sel-sel darah dengan volume darah keseluruhan setelah dilakukan pemusingan dan dinyatakan dalam persen. Pada keadaan normal, nilai hematokrit mempunyai hubungan yang positif dengan jumlah eritrosit dan hemoglobin. Nilai hematokrit akan meningkat pada individu jantan dewasa sejalan dengan meningkatnya sekresi androgen yang juga akan meningkatkan jumlah dan volume eritrosit. Meningkatnya jumlah hemoglobin akibat terselamatkannya sel eritrosit dari kerusakan mikroba patogen akan berakhir pada meningkatnya nilai hematokrit (Swenson, dalam Fuller, 1992).

Berbagai jenis mikroba yang dapat digunakan sebagai starter dalam pembuatan yoghurt, yaitu *Lactobacillus bulgaricus* , *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium*. Di Indonesia yang lazim digunakan adalah *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* sedangkan di luar negeri umumnya digunakan starter campuran dua atau tiga macam mikroba yaitu *L. bulgaricus* , *L. acidophilus*, atau *Bifidobacterium* (Mitsuoka, 1984; Fuller, 1992; Goldin dan Gorbach, 1992; Koesnandar, 2002).

*Bifidobacterium* adalah mikroba yang termasuk kelompok non patogen heterofermentatif, artinya disamping menghasilkan asam laktat, juga asam asetat yang sangat bermanfaat untuk kesehatan tubuh . Menurut beberapa ahli, bakteri ini selain termasuk bakteri asam laktat juga dikelompokkan ke dalam probiotik , mempunyai efek meningkatkan daya

tahan tubuh dengan cara mengurangi populasi dan aktifitas bakteri patogen, namun sayangnya mikroba ini menghasilkan bau yang menyengat dan sangat tajam pada proses fermentasi air susu. Upaya untuk mengurangi atau menetralkan bau yang kurang enak dalam proses fermentasi air susu dapat diupayakan dengan cara mencampurnya dengan mikroba lain. Para peneliti kebanyakan lebih senang menggunakan campuran antara *Bifidobacterium* dengan *L. acidophilus*. ((Buchanan & Gibsson, 1975).

*Lactobacillus. acidophilus* dalam proses kerjanya memecah *azobond* dari *sulfasaline* yang dapat menghasilkan *azulfidine* yaitu senyawaan yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan *colitis*. Keistimewaan lain dari bakteri ini adalah mempunyai efek kerja dalam menurunkan kolesterol darah. (Mizota T, dkk. 1983; Goldin and Gorbach, 1992; Anandito, 2001).

Penelitian pendahuluan yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pada dosis yoghurt 1,25% dari berat badan, nyata dapat menurunkan jumlah mikroba patogen, dan pada dosis 2% nyata menurunkan kolesterol dan trigliserida darah pada mencit hingga 25%, selama 4 minggu (Lovita, 2003).

## **Bahan dan Metoda**

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jenis Witstars, berumur 8 minggu, dengan berat badan 25 – 30 gram sebanyak 120 ekor, diperoleh dari Laboratorium Biologi ITB. Percobaan dilakukan selama 7 minggu yaitu dimulai pada hari pertama dilakukan pencekokan dengan menggunakan spuit gavage tanpa menggunakan jarum sampai pada minggu ke 5 dengan 2 macam dosis yaitu 1,25% dari berat badan dan 2% dari berat badan

Penelitian terdiri dari dua tahap yaitu penelitian yang dilakukan di laboratorium dan secara biologis di kandang percobaan.. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Percobaan dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor pertama 6 level perlakuan yaitu Yoghurt 0 (ransum basal tanpa yoghurt), Yoghurt 1(Lb : St = 1:1), Yoghurt 2 (Lb:St:La = 1:1:1), Yoghurt 3 (Lb : St : B = 1:1:1), Yoghurt 4 ( Lb: St : La : B = 1 : 1 : 1 : 1 ), Yoghurt 5 ( La : B = 1 : 1 ), dan masing-masing perlakuan diulang 4 kali, sehingga terdapat 24 unit percobaan dan setiap satu unit percobaan terdiri dari 5 ekor mencit sehingga jumlah mencit yang digunakan 120 ekor. Ransum perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut :

- Rb0 : ransum basal + Y0 (kontrol)
- Rb1 : ransum basal + Y1
- Rb2 : ransum basal + Y2
- Rb3 : ransum basal + Y3
- Rb4 : ransum basal + Y4
- Rb5 : ransum basal + Y5

Keterangan :

Y0 = tanpa yoghurt

Y1 = Lb + St ( *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*)

Y2 = Lb + St + Lb (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus acidophilus*)

Y3 = Lb + St + B (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Bifidobacterium*)

Y4 = Lb + St + La + B (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium*)

Y5 = La + B ( *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium*)

## **Lokasi Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi ITB, dan di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia Fakultas Peternakan UNPAD. Analisis yoghurt dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi ITB, dan Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan UNPAD, Laboratorium Kimia Dasar MIPA UNPAD dan ITB. Penelitian dilaksanakan dari bulan Juli 2002 sampai September 2003.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Efek Perlakuan terhadap Jumlah Eritrosit**

Efek perlakuan yaitu dengan penambahan bakteri non patogen (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium*) terhadap jumlah eritrosit, dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1., jumlah eritrosit berkisar antara  $3.55 \times 10^6$  butir/mm<sup>3</sup>- $4.25 \times 10^6$  butir/mm<sup>3</sup> pada penambahan yoghurt dosis 1,25%, dan  $3.54 \times 10^6$ - $5.52 \times 10^6$  butir/mm<sup>3</sup> pada dosis 2%. Rata-rata jumlah eritrosit mencit pada penelitian ini, lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa penambahan yoghurt. Rata-rata jumlah eritrosit mencit normal adalah berkisar  $4,00 \times 10^6$  -  $6.00 \times 10^6$  butir/mm<sup>3</sup> (Farmakologi, ITB, 1979) Pada

**Tabel 1. Efek Perlakuan terhadap Jumlah Eritrosit, Hemoglobin, Nilai Hematokrit**

Dosis (%)		1.25			2		
Jenis Pemeriksaan		Eritrosit	Hemoglobin	N. hematokrit	Eritrosit	Hemoglobin	N. hematokrit
		(x 10 <sup>6</sup> ) butir/mm <sup>3</sup>	gr/ml	%	(x 10 <sup>6</sup> ) butir/mm <sup>3</sup>	gr/ml	%
Perlakuan	R0	3.55	10.5	45.5	3.54	8.85	45.38
	R1	3.43	13.25	43.75	4.54	12.1	47.63
	R2	4.06	10.6	50.25	4.51	14	48.5
	R3	4.11	12.95	45.63	4.76	12.3	47.88
	R4	4.21	12.22	47.38	5.83	10.1	47
	R5	4.25	16.1	48	5.52	13.75	50.25

penambahan yoghurt 2, 3, 4, 5 menunjukkan bahwa jumlah eritrosit lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan yoghurt 1. Hal ini diduga yoghurt 2, 3, 4, dan 5 mengandung campuran 3 bakteri yang interaksinya lebih baik dibandingkan dengan campuran 2 bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium* yang dapat meningkatkan elastisitas atau kelenturan membran sel sehingga akan mengakibatkan membran sel lebih baik yang pada akhirnya akan meningkatkan kemampuan membran eritrosit dalam menjaga keutuhannya (Ganong,1985). Faktor lain yang mempengaruhi di antaranya kemampuan dari kedua bakteri, yaitu *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* dapat

bertahan pada lingkungan dari asam hingga ke basa (Fuller, 1992). Tetapi, secara keseluruhan, penambahan keempat macam yoghurt masih di dalam kriteria eritrosit normal.

### **Efek Perlakuan terhadap Kadar Hemoglobin**

Efek perlakuan yaitu dengan penambahan bakteri non patogen (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium*) terhadap kadar hemoglobin, dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan data di atas, kadar hemoglobin berkisar antara 10,5-16,1 gr/ml pada penambahan yoghurt dosis 1,25%, dan 8,85-13,75 g/ml pada dosis 2%. Kadar hemoglobin normal pada mencit berkisar antara 10-14 gr/ml. Kadar hemoglobin dengan penambahan Y1, Y2, Y3, Y4, dan Y5 berada di atas R0, tetapi masih dalam kisaran normal. Mekanisme terjadinya peningkatan kadar hemoglobin disebabkan karena *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* dapat meningkatkan produksi asam empedu di dalam hati sekaligus mampu meningkatkan sekresi asam empedu ke dalam usus halus. Peningkatan sekresi asam empedu ini memberikan pengaruh terhadap peningkatan pencernaan lemak, juga akan merangsang peningkatan sekresi enzim-enzim pencernaan dari kelenjar pankreas sehingga proses pencernaan semakin meningkat yang pada gilirannya dapat meningkatkan metabolisme lemak, protein, dan karbohidrat di dalam tubuh (Arifin dan Kardiyono, 1985). Keadaan tersebut mendorong peningkatan kebutuhan oksigen (oksigen dalam darah tidak seimbang dengan kebutuhan metabolisme). Akibatnya, hemoglobin bertambah untuk mengimbangi kebutuhan oksigen di dalam darah (Ganong, 1985). Asam asetat dan beberapa asam amino serta vitamin-vitamin yang diproduksi oleh mikroba, adalah merupakan prekursor pembentukan hemoglobin. Diduga bahwa asam asetat diubah dalam siklus kreb menjadi asam-alfa ketoglutarat, kemudian dua asam-alfa ketoglutarat berikatan dengan satu molekul glisin membentuk senyawa pirol. Selanjutnya empat senyawa pirol membentuk senyawa protoporfirin.

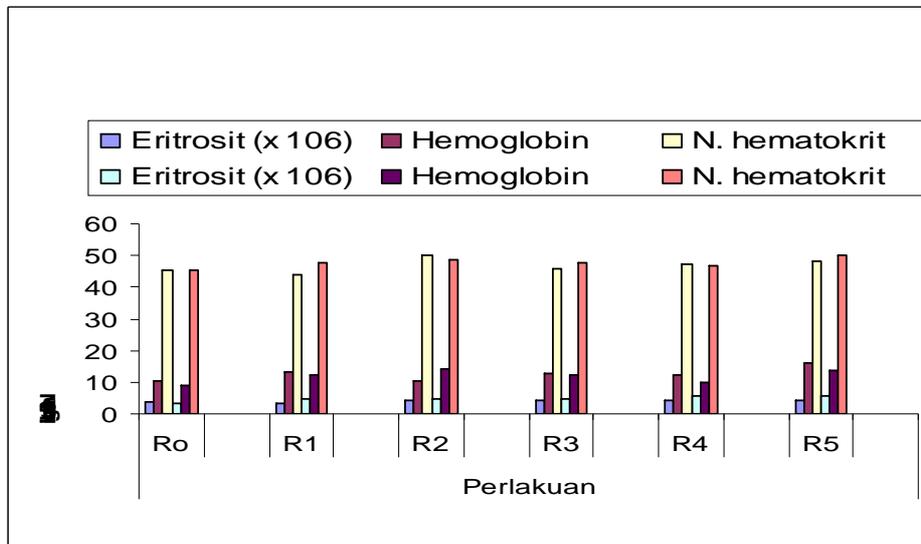
Salah satu senyawa protoporfirin dikenal sebagai protoporfirin III, kemudian berikatan dengan besi membentuk molekul hem. Akhirnya empat molekul hem berikatan dengan satu molekul globin, membentuk hemoglobin, sehingga pada akhirnya hemoglobin akan meningkat jumlahnya (Guyton, 1985).

### **Efek Perlakuan terhadap Nilai Hematokrit**

Efek perlakuan yaitu dengan penambahan bakteri non patogen (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium*) terhadap nilai hematokrit, dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan data di atas, nilai hematokrit berkisar antara 43,75-48% pada penambahan yoghurt dosis 1,25%, dan 45,38-50,25% pada dosis 2%. Nilai hematokrit normal berkisar antara 40-45%. Pada penambahan Y1, belum tampak peningkatan nilai hematokrit, akan tetapi penambahan Y2, Y3, Y4, dan Y5 menunjukkan adanya peningkatan nilai hematokrit. Hal ini disebabkan nilai hematokrit adalah perbandingan antara sel darah merah dan volum darah keseluruhan sehingga dengan meningkatnya sel darah merah dan hemoglobin, meningkat pula nilai hematokritnya (Guyton, 1985; Ganong, 1985, Soeharsono, 1996;).

Untuk memperjelas bahasan eritrosit, hemoglobin, dan nilai hematokrit, dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Efek Perlakuan terhadap Keadaan Darah**

Kesimpulan yang dapat diambil dari bahasan tentang darah adalah *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* dapat meningkatkan metabolisme sel dibandingkan dengan penambahan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*.

## KESIMPULAN

1. Kadar hemoglobin pada mencit mengalami peningkatan hingga 16,1 yang mendapat yoghurt kombinasi *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* dengan dosis 1,25%, pemberian selama 3 minggu, dan 13,75 pada dosis 2%, pemberian selama 3 minggu
2. Kadar hemoglobin pada mencit mengalami peningkatan hingga 5,95% yang mendapat yoghurt kombinasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan dosis 1,25%, pemberian selama 3 minggu, serta tidak berbeda nyata dengan lama dan dosis pemberian 2%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Buchanan dan Gibbons. 1974, 1986. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eight Ed/ninth. Ed.. The William and Wilkins Company. Jac. California.
- Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 1987. *Microbiology : A Laboratory Manual*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California.
- Fernandes, C. F. and K. M. Shahani. 1990. *Anticarsinogenic and Immunological Properties of Dietary Lactobacilli*, J. Food Protect. 53: 704.
- Fuller, R. 1992. *History and Development of Probiotics*. In *Probiotics the Scientific basis*. Edited by Fuller. Chapman and Hall.
- Ganong, W.F. 1979. *Review of Medical Physiology*. 9 Ed Meruzen Asean Edition.
- Goldin, B.R. and S. L. Gorbach. 1992. *Probiotic for Human*. In: *Probiotic. The Scientific Basis* (Fuller, R., ed.), Ch 13. Chapman & Hall. London. pp. 361-362, 369.
- Goldin, B.R. and S. L. Gorbach. 1992. *Probiotic for Human*. In: *Probiotic. The Scientific Basis* (Fuller, R., ed.), Ch. 13. Chapman & Hall. London. p. 366
- Honma, N. 1986. *On Effects of Lactic Acid Bacteria. Part I. Biological Significance New Medicines and Clinics*. 35 (12): 2687-2695.
- Honma, N. 1974. *Intestinal Bacteria Flora of Infants and Infection Protection. Pediatric Clinics*. 27(11) : 20.
- <http://www.probiotics.com/probioti.htm>. Clinical Test Result of New Biofermin S. In-house Report.
- Lichtenstein, A. H. and B. R. Golden. 1993. *Lactic Acid Bacteria and Intestinal Drug and Cholesterol Metabolism*, in : *Lactic Acid Bacteria* (Salminen, S. and A. V. Wright ed.) Ch. 8. Marcel Dekker Inc. New York. pp. 232-233.
- Lichtenstein, A. H. and B. R. Goldin. 1998. *Lactic Acid Bacteria and Intestinal Drug and Cholesterol Metabolism*. In Salminen, S. and A. Wright (eds). *Lactic Acid Bacteria : Microbiology and Functional Aspects*. Edisi kedua. Marcel Dekker, Inc. New York – Basel
- Lovita, A., 2003. Yoghurt yang mengandung *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* terhadap kandungan bakteri patogen pada saluran pencernaan mencit
- Meyer, J. S. 1975. *Dynamic of Mixed Populations having Complementary Metabolisms*. Thesis University of Minnesota.

- Mitsuoka, T. 1984. *Effect of Lactic Acid Bacteria and New Application Areas*. Journal of Japan Food Industry. 31(4) : 285.
- Salminen, S., M. Deighton, and S. Gorbach. 1993. *Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. In : *Lactic Acid Bacteria*. (Salminen, S. and A. V. Wright ed.) Ch.7. Marcel Dekker Inc. New York. pp.200-201.
- Shah, U. and W. A. Walker. 2000. *Adverse Host Responses to Bacterial Toxins in Human Infants*. J. Nutr. 130 : 420S-425S.
- Soeharsono. 1996. Probiotik sebagai Pengganti Antibiotik dalam Bidang Peternakan. Seminar Fakultas Peternakan. Seminar Fakultas, Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Goldin, B.R. and S. L. Gorbach. 1992. *Probiotic for Human*. In: *Probiotic*. The Scientific Basis (Fuller, R., ed.), Ch 13. Chapman & Hall. London. pp. 361-362, 366,369.