

**VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT YANG DIISOLASI DARI  
AMPAS SUSU KEDELAI TERHADAP ASAM KLORIDA DAN GARAM  
EMPEDU**

**VIABILITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM OKARA  
OF SOYBEAN ON CHLORIDE ACID AND BILE SALTS**

**Zulfidin<sup>1</sup>, Evy Rossi<sup>2</sup>, dan Akhyar Ali<sup>2</sup>**

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian  
Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Kode Pos 28293, Indonesia  
dzulfiddin28@gmail.com

**ABSTRACT**

Lactic acid bacteria have characteristics that cause these bacteria as probiotics. Some characteristics of probiotics are not only able to survive in the gastrointestinal tract and also have the ability to reproduce in the digestive tract, but these bacteria can survive and are able to live on acidic conditions of chloride with low pH and bile salts. The purpose of this study was to obtain resistance or viability of lactic acid bacteria isolated from okara at pH 2.5 and 3 for 90 min and 0.5% concentration of bile salt (oxgall). This study used isolates A.23.4, A.23.2, and A.22.4 isolated from okara taken from soybean milk making industrial home. The isolate viability data was tabulated and analyzed descriptively. The results showed that isolates A.23.4, A.23.2 and 22.4 survived and were able to grow well at pH 2.5 and had survival 99.786, 99.773, and 99.899% respectively, while at pH 3 viability were 99.887, 99.824, and 99.836% for 1.5 hours incubation. Isolates A.23.4, 23.2, and 22.4 were able to survive and grow well in MRS Broth medium plus oxgall 0.5% during incubation for 5 hours and viability of 99.759, 99.657, and 99.619% respectively. From this study, it can be concluded that the three isolates of LAB had potential as probiotics candidates, because they have relatively high viability (> 90%) on low pH and bile salt.

**Keywords:** lactic acid bacteria, probiotic, viability, chloride acid, oxgall, isolate

**PENDAHULUAN**

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan salah satu jenis tanaman kacang-kacangan yang dikenal baik oleh masyarakat Indonesia. Kedelai merupakan sumber protein nabati yang harganya relatif murah dibandingkan protein hewani. Secara umum kedelai dapat diolah menjadi beberapa produk olahan seperti tempe, tahu, tauco, kecap, dan susu kedelai. Salah satu produk olahan kedelai yang unik dan

cukup digemari oleh masyarakat adalah susu kedelai.

Pengolahan susu kedelai menghasilkan limbah padat berupa ampas kedelai yang jarang dimanfaatkan atau dikonsumsi masyarakat, sehingga memiliki nilai ekonomis yang rendah. Ampas kedelai semakin meningkat seiring dengan meningkatnya produksi susu kedelai. Ampas kedelai masih memiliki nilai gizi yang tinggi seperti kandungan

1. Mahasiswa Fakultas Pertanian, Universitas Riau

2. Dosen Fakultas Pertanian, Universitas Riau

protein, lemak, serat pangan, mineral, monosakarida, dan oligosakarida.

Menurut Hsieh dan Yang (2003), kandungan gizi ampas kedelai yaitu protein kasar 28,36, serat kasar 7,6, lemak kasar 5,52, dan bahan ekstrak tanpa nitrogen (BETN) 28,36%, serta mengandung asam amino lisin, metionin, dan vitamin B. Adanya nutrisi pada ampas kedelai dapat memicu tumbuhnya mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang dapat tumbuh yaitu bakteri asam laktat (BAL). Aritonang dkk. (2017) telah mengisolasi dan mengidentifikasi BAL dari ampas kedelai dan diperoleh beberapa isolat diantaranya isolat A.23.4, A.23.2, dan A.22.4. Isolat A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 merupakan kode isolat BAL yang diisolasi dari ampas kedelai. Ketiga isolat ini dinyatakan BAL karena menghasilkan zona jernih saat ditumbuhkan pada media *de Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRS-A) yang sudah ditambahkan dengan kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) 0,2%. Hasil identifikasi dari isolat BAL A.23.4, A.23.3, dan A.22.4 diperoleh sel berbentuk batang pendek, Gram positif, memiliki sifat katalase negatif, dan bersifat homofermentatif.

Bakteri asam laktat merupakan golongan mikroorganisme yang bermanfaat dengan sifat tidak toksik bagi inangnya serta mampu membunuh bakteri patogen. Bakteri asam laktat diketahui banyak berperan dalam proses fermentasi pada pengolahan produk pangan dan berpotensi sebagai sumber probiotik. Isolat BAL A.23.4, A.23.3, dan A.22.4 belum diketahui berpotensi sebagai kandidat probiotik. Bakteri asam laktat yang bersifat probiotik memberikan kontribusi terhadap keseimbangan mikroflora usus yang merupakan bagian terpenting pada saluran pencernaan untuk mengoptimalkan kesehatan.

Istilah probiotik didefinisikan sebagai komponen dari sel mikroba yang menguntungkan bagi kesehatan. Penggunaan probiotik dalam produk makanan akan meningkatkan kesehatan dan menjaga keseimbangan mikroflora usus. (Kusumawati dkk., 2003). Penambahan BAL probiotik pada bahan pangan fungsional sudah banyak dilakukan karena adanya peningkatan kesadaran masyarakat terhadap kesehatan, sehingga menimbulkan implikasi dalam memilih makanan untuk kelangsungan hidup.

Probiotik memiliki beberapa karakteristik diantaranya harus tahan terhadap garam empedu (*oxgall*) dan asam lambung. probiotik idealnya tidak hanya mampu bertahan melewati saluran pencernaan, tetapi juga memiliki kemampuan untuk berkembang biak dalam saluran pencernaan. Uji ketahanan BAL terhadap asam lambung dan garam empedu dapat dilakukan secara *in vitro*.

Nuraida dkk. (2011) telah melakukan pengujian viabilitas BAL yang diisolasi dari air susu ibu (ASI) terhadap asam lambung dengan mengatur keasaman media menggunakan asam klorida (HCl) dan garam empedu (*oxgall*) 0,5% yang dilakukan secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas *Lactobacillus A6* terhadap pH 2 sebesar 95,84% dan viabilitas terhadap garam empedu sebesar 96%. Penelitian lainnya yaitu Apridani (2014) telah melakukan pengujian viabilitas *Lactobacillus plantarum* 1 yang diisolasi dari susu kedelai terfermentasi spontan terhadap asam klorida dan garam empedu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* 1 mampu bertahan pada pH asam dan garam empedu. Berdasarkan uraian di atas, maka telah dilakukan penelitian tentang

## **Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari Ampas Kedelai terhadap Asam Klorida dan Garam Empedu.**

### **Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas atau ketahanan BAL yang diisolasi dari ampas kedelai terhadap derajat keasaman yang tinggi dan garam empedu (*oxgall*) secara *in vitro*.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Tempat dan Waktu**

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Riau selama enam bulan yaitu mulai dari bulan Juli 2017 sampai dengan bulan Januari 2018.

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat BAL dengan kode A.23.4, A.23.2, dan 22.4 yang diisolasi dari ampas susu kedelai yang diambil dari *home industry* susu kedelai di Taman Karya. Bahan kimia yang digunakan adalah MRS Broth (Merck), MRS Agar (Merck), HCl pekat 37%, *oxgall* 0,5% (Sigma), larutan garam fisiologis 0,85%, alkohol 70%, dan akuades.

Peralatan yang digunakan pada penelitian adalah tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, labu ukur, pipet tetes kaca, gelas ukur, mikro pipet, serta gelas piala. Peralatan lain yang digunakan adalah batang pengaduk, spatula, jarum ose, *aluminium foil*, pH meter, timbangan analitik, inkubator, ruang inokulasi (*laminar-flow*), *automatic mixer*, *autoclave*, *hot plate*, *hockey stick*, tip, lampu bunsen, rak tabung reaksi, tisu, kertas label, dan alat tulis.

### **Metode Penelitian**

Penelitian dilaksanakan secara eksperimen yang mengacu pada Nuraida dkk. (2011), dengan cara melihat ketahanan BAL yang ditumbuhkan dalam medium MRS Broth yang telah diatur pH nya dengan asam klorida menjadi 2,5 dan 3. Ketahanan BAL juga diuji pada medium MRS Broth tanpa penambahan garam empedu (*oxgall*) dengan konsentrasi 0,5% dan medium MRS Broth dengan penambahan garam empedu (*oxgall*) dengan konsentrasi 0,5%.

### **Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian meliputi sterilisasi peralatan, perbanyakan bakteri, pembuatan medium, pembuatan larutan garam fisiologis, pengujian viabilitas BAL dan analisis data.

### **Pengamatan**

Parameter yang diamati adalah viabilitas BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.2 pada pH 2,5 dan pH 3 dengan waktu inkubasi 0 dan 1,5 jam. Viabilitas BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.2 pada *oxgall* 0,5% dengan waktu inkubasi 0 dan 5 jam.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **1. Total Bakteri Asam Laktat pada Media MRS Broth tanpa Penambahan HCl dan Media MRS Broth tanpa Penambahan Oxgall 0,5% (Kontrol)**

Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui total BAL tanpa penambahan HCl dan *oxgall* 0,5% yang merupakan kontrol. Total BAL dihitung dengan lama inkubasi 0, 1,5, dan 5 jam. Hasil pengamatan jumlah koloni BAL yang ditumbuhkan pada

media MRS Broth tanpa penambahan HCl dan tanpa penambahan *oxgall* 0,5%. Rata-rata jumlah koloni yang ditumbuhkan media MRS Broth tanpa penambahan HCl dan media MRS broth tanpa penambahan *oxgall* 0,5% dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Total bakteri asam laktat dan derajat keasaman media MRS Broth tanpa penambahan HCl dan tanpa penambahan *oxgall* 0,5% (kontrol)

Isolat BAL	pH	Rata-rata jumlah koloni (log cfu/ml)		
		0 jam	1,5 jam	5 jam
A.23.4	5,6	7,989	8,176	8,228
A.23.2	5,6	7,987	8,154	8,219
A.22.4	5,6	7,980	8,151	8,211

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa semua isolat BAL dapat tumbuh baik pada media MRS Broth tanpa penambahan HCl dan *oxgall* 0,5% (kontrol). Jumlah koloni BAL pada semua isolat relatif hampir sama pada waktu inkubasi 0 jam yang berkisar antara 7,980-7,989 log cfu/ml. Jumlah koloni BAL pada semua isolat dengan lama inkubasi 1,5 dan 5 jam relatif hampir sama. Jumlah koloni BAL pada semua isolat dengan lama inkubasi 1,5 dan 5 jam berturut-turut berkisar antara 8,151-8,17 log cfu/ml dan 8,211-8,228 log cfu/ml. Jumlah koloni isolat A.23.4 lebih banyak dibandingkan jumlah koloni isolat BAL A.23.2 dan A.22.4 pada setiap waktu inkubasi 0, 1,5, dan 5 jam. Rata-rata jumlah koloni BAL semua isolat semakin meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Hal ini disebabkan setelah diinkubasi selama 0 sampai dengan 5 jam terjadi pertumbuhan dan perbanyakan sel. Perbanyakan sel ini terjadi akibat adanya pembelahan sel secara *biner*. Pembelahan sel secara *biner* adalah pembelahan yang banyak dilakukan oleh bakteri, dimana satu bagian sel bakteri akan membelah menjadi dua bagian, tiga bagian, empat bagian, dan seterusnya. Hal ini sejalan dengan pernyataan Prayitno (2010), bahwa pada pembelahan *biner*, sel bakteri

dapat menduplikasi DNA-nya sehingga memperbanyak jumlah sel pada bakteri.

Pertumbuhan dan perbanyakan BAL ini juga disebabkan oleh pH pada medium. Bakteri asam laktat dapat tumbuh dengan baik pada media dengan tingkat keasaman mendekati netral. Tingkat keasaman yang digunakan untuk pertumbuhan BAL ini yaitu sekitar 5,6. Menurut Maunatin dan Khanifa (2012), salah satu faktor penting dalam pertumbuhan bakteri adalah pH. Khalid (2011), menyatakan bahwa BAL dapat tumbuh optimal pada pH 5,5-5,8. Derajat keasaman mempengaruhi aktivitas enzim yang berkaitan dengan proses metabolisme dan pertumbuhan bakteri itu sendiri. Apabila pH suatu medium optimum atau mendekati netral, maka enzim akan mengkatalis reaksi-reaksi metabolisme menjadi optimum, hal ini menunjukkan adanya peningkatan pertumbuhan jumlah koloni. Sebaliknya, apabila pH suatu medium tidak optimum maka akan menghambat pertumbuhan bakteri.

Beberapa hasil penelitian menyatakan bahwa pH optimum dapat mempengaruhi pertumbuhan BAL. Pernyataan ini sejalan dengan Utama (2001), menyatakan bahwa stabilitas pH sangat penting untuk menjamin berlangsungnya reaksi yang

berkesinambungan dalam sistem biologis sel. Berdasarkan hasil penelitian Putranto (2006), *Lactobacillus acidophilus* memiliki pH optimum pertumbuhan berkisar antara 5,5-6,0. *Lactobacillus plantarum* memiliki pH optimum pertumbuhan berkisar antara 5,3-5,6 (Ferrer, 2007), dan *Streptococcus thermophilus* memiliki pH optimum pertumbuhan sekitar 6,8 (Astuti dkk., 2009). Menurut Surono (2004), menambahkan bahwa selain pH, faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup BAL adalah

suhu, oksigen, komposisi kimia, dan kandungan nutrisi pada habitatnya.

## 2. Viabilitas BAL pada Media MRS Broth dengan Penambahan HCl (pH 2,5)

Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas BAL pada pH 2,5. Viabilitas BAL pada kondisi pH 2,5 dihitung dengan lama inkubasi 0 dan 1,5 jam. Hasil pengamatan jumlah koloni BAL yang ditumbuhkan pada media MRS Broth dengan penambahan HCl (pH 2,5). Jumlah koloni dan viabilitas masing-masing isolat BAL dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah koloni dan viabilitas bakteri asam laktat pada medium yang memiliki pH 2,5

Isolat BAL	Jumlah koloni (log cfu/ml)		Viabilitas (%)
	0 jam	1,5 jam	
A.23.4	7,967	7,950	99,786
A.23.2	7,944	7,926	99,773
A.22.4	7,955	7,942	99,836

Tabel 2 menunjukkan jumlah koloni A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada kondisi pH 2,5 dengan lama inkubasi 0 dan 1,5 jam. Jumlah koloni BAL pada semua isolat yang tumbuh di medium yang memiliki pH 2,5 dengan lama inkubasi 0 dan 1,5 jam relatif hampir sama. Jumlah koloni BAL pada semua isolat dengan lama inkubasi 0 jam berkisar antara 7,929-7,967 log cfu/ml dan jumlah koloni BAL pada semua isolat dengan lama inkubasi 1,5 jam berkisar antara 7,921-7,950 log cfu/ml. Jumlah koloni semua isolat BAL pada medium yang memiliki pH 2,5 dengan lama inkubasi 0 dan 1,5 jam lebih sedikit dibandingkan jumlah koloni pada medium yang tidak diatur pH-nya. Dimana pada pH yang lebih rendah (2,5) sebagian kecil BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 mengalami kematian, akibat pH tersebut bukan pH optimal untuk pertumbuhan BAL.

Table 2 menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni BAL pada (0 jam) setelah diinkubasi selama 1,5 jam menunjukkan bahwa pH medium yang rendah dapat menghambat dan sekaligus merusak pertumbuhan isolat BAL. Penurunan jumlah koloni relatif kecil. Hal ini disebabkan sebagian kecil isolat BAL memiliki karakteristik tidak tahan asam. Menurut Susanti dkk. (2007), kondisi yang sangat asam dapat mengakibatkan kerusakan membran dan lepasnya komponen intraseluler seperti Mg, K, dan lemak dari sel bakteri yang dapat menyebabkan kematian. Bakteri yang tahan asam memiliki ketahanan lebih besar terhadap kerusakan membran akibat penurunan pH ekstraseluler dibandingkan dengan bakteri yang tidak tahan terhadap asam. Menurut Wijayanto (2009), penghambatan asam terhadap pertumbuhan sel bakteri

terjadi melalui efek denaturasi enzim-enzim yang ada dipermukaan sel, kerusakan lipopolisakarida dan membran luar serta penurunan pH sitoplasma melalui peningkatan permeabilitas membran terhadap proton pada gradien pH yang sangat besar. Hasil penelitian lain yang menyatakan BAL tahan terhadap pH rendah (pH 2) seperti *Streptococcus thermophilus* Kp-2 (Harimurti dkk., 2007) dan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 (Kusumawati dkk., 2003).

Tabel 2 menunjukkan viabilitas dari isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 berkisar antara 99,773-99,836%. Viabilitas tertinggi diperoleh isolat BAL A.22.4 yaitu 99,836% dan viabilitas terendah diperoleh isolat BAL A.23.2 yaitu 99,773%. Viabilitas yang diperoleh oleh semua isolat BAL hampir mendekati 100%. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat BAL dapat bertahan setelah diinkubasi selama 1,5 jam pada pH 2,5 dan berpotensi sebagai kandidat probiotik yang diharapkan mampu bertahan sampai usus besar. Axelsson (2004), menyimpulkan bahwa BAL yang dikatakan sebagai kandidat probiotik adalah BAL yang tidak berbahaya (patogen), dapat hidup selama dilakukan proses pencernaan dan penyimpanan, toleran terhadap asam lambung, pankreas, dan garam empedu.

Wijayanto (2009) menambahkan jumlah koloni BAL yang dapat menjadi kandidat probiotik berkisar antara  $10^7$ - $10^9$  cfu/ml.

Viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada pH 2,5 lebih tinggi dibandingkan viabilitas *Lactobacillus A6* pada pH 2 sebesar 95,84% yang merupakan hasil penelitian Nuraida dkk. (2011). Hasil penelitian Simbolon (2016), menunjukkan bahwa viabilitas isolat *L. plantarum* 1 RN2-53 dan *L. acidophilus* FNCC 0040 yang memiliki viabilitas sebesar 72,87% dan 70,53%. Hasil ini menunjukkan bahwa viabilitas isolat *L. plantarum* 1 RN2-53 dan *L. acidophilus* FNCC 0040 lebih rendah dibandingkan viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4.

### 3. Viabilitas Bakteri Asam Laktat pada Media MRS Broth dengan Penambahan HCl (pH 3)

Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas BAL pada pH 3. Viabilitas BAL pada kondisi pH 3 dihitung dengan lama inkubasi 0 dan 1,5 jam. Hasil pengamatan jumlah koloni BAL yang ditumbuhkan pada media MRS Broth dengan penambahan HCl (pH 3). Jumlah koloni dan viabilitas masing-masing isolat BAL dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah koloni dan viabilitas BAL pada medium yang memiliki pH 3

Isolat BAL	Jumlah koloni (log cfu/ml)		Viabilitas (%)
	0 jam	1,5 jam	
A.23.4	7,975	7,966	99,887
A.23.2	7,962	7,948	99,824
A.22.4	7,929	7,921	99,899

Tabel 3 menunjukkan jumlah koloni BAL pada isolat A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada kondisi pH 3 dengan lama inkubasi 0 dan 1,5 jam. Jumlah koloni BAL pada semua isolat pH 3

dengan lama inkubasi 0 dan 1,5 jam relatif hampir sama. Jumlah koloni BAL pada semua isolat dengan lama inkubasi 0 jam berkisar antara 7,955-7,975 log cfu/ml dan jumlah koloni

BAL pada semua isolat dengan lama inkubasi 1,5 jam berkisar antara 7,942-7,966 log cfu/ml. Isolat BAL A.23.4 memiliki jumlah koloni lebih banyak dibandingkan isolat BAL lainnya, baik pada waktu inkubasi 0 jam maupun 1,5 jam.

Jumlah koloni BAL pada medium yang memiliki pH 3 dengan lama inkubasi 1,5 jam lebih sedikit dibandingkan jumlah koloni pada medium yang tidak diatur pH-nya. Penurunan jumlah koloni BAL ini disebabkan karena perbedaan pH pada medium. Medium kontrol memiliki pH 5,6. Hasil ini menunjukkan bahwa sebagian koloni dari isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 tidak mampu tumbuh dan bertahan pada pH 3.

Jumlah koloni Isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 mengalami penurunan setelah diinkubasi selama 1,5 jam, dibandingkan jumlah koloni BAL dengan waktu inkubasi 0 jam. Meskipun mengalami penurunan jumlah koloni dan isolat BAL ini masih berpotensi menjadi probiotik. Hal ini disebabkan karena jumlah koloni BAL yang bertahan pada pH rendah sekitar  $10^7$ . Wijayanto (2009) menyatakan bahwa viabilitas sel bakteri yang menjadi kandidat probiotik harus berkisar antara  $10^7$ - $10^9$  cfu/ml. Isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 berpotensi menjadi kandidat probiotik karena jumlah koloni yang bertahan memenuhi kisaran viabilitas agensia probiotik.

Isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 sebagian besar dapat bertahan pada kondisi pH 3 disebabkan karena kemampuan isolat tersebut untuk mempertahankan pH dalam selnya yang lebih netral dari pada lingkungan, selain itu BAL merupakan bakteri Gram positif yang memiliki kandungan peptidoglikan lebih banyak

dari pada bakteri Gram negatif. Peptidoglikan yang relatif tebal berperan sebagai pertahanan sel terhadap paparan lingkungan yang ekstrim. Hal ini didukung oleh pendapat Wood dan Holzapfel (1995), bahwa salah satu kriteria BAL adalah memiliki sifat Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri dari dua lapisan yaitu peptidoglikan yang tebal dan membran dalam. Peptidoglikan adalah komponen utama dinding sel bakteri yang bersifat kaku dan bertanggung jawab untuk menjaga integritas sel serta menentukan bentuknya.

Tabel 3 menunjukkan isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 dapat bertahan setelah diinkubasi selama 1,5 jam pada pH 3, yang mana viabilitasnya mendekati 100%. Viabilitas tertinggi diperoleh pada isolat BAL A.22.4 sebesar 99,899% dan viabilitas terendah diperoleh pada isolat BAL A.23.2. sebesar 99,824%. Viabilitas dari masing-masing isolat BAL relatif hampir sama. Viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada pH 3 mendekati hasil penelitian Simbolon (2016) yaitu isolat *L. plantarum* 1 RN2-53 dan *L. plantarum* 1 RN2-12112 memiliki viabilitas berturut-turut sebesar 98,56% dan 93,93%. Viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada pH 3 lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Mourad dan Eddine (2006), yang menyatakan bahwa isolat *L. plantarum* OL9, *L. plantarum* OL12, *L. plantarum* OL15 dan *L. plantarum* OL22 yang diisolasi dari fermentasi minyak zaitun memiliki viabilitas pada pH 3 berkisar antara 76-84% dengan waktu inkubasi selama 2 jam.

Viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada medium yang memiliki pH 2,5 lebih rendah dibandingkan dengan viabilitas isolat

BAL pada medium yang memiliki pH 3. Viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada medium yang memiliki pH 2,5 masing-masing yaitu 99,786, 99,773, dan 99,836% sedangkan viabilitas pada medium yang memiliki pH 3 masing-masing yaitu 99,887, 99,824, dan 99,899%. Hal ini menunjukkan isolat BAL A.22.4 viabilitas tertinggi pada medium pH 2,5 dan 3 dibandingkan dengan kedua isolat lainnya (A.23.4 dan A.23.2). Susanti dkk. (2007), menyatakan bahwa kondisi medium yang sangat asam dapat mengakibatkan kerusakan dan menghambat pertumbuhan dari sel BAL.

Isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 dapat tumbuh dan bertahan dengan baik pada medium yang memiliki pH 5,6. Meskipun terdapat perbedaan viabilitas antara pH 2,5 dan 3, viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada medium yang memiliki pH 2,5 dan 3 dikategorikan baik. Hal ini dikarenakan viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4

pada medium yang memiliki pH 2,5 dan 3 mendekati angka 100% dan berpotensi sebagai agensia probiotik. Belum ada referensi yang ditemukan mengenai batasan viabilitas BAL sebagai probiotik.

#### 4. Viabilitas Bakteri Asam Laktat terhadap Garam Empedu (*Oxgall*) 0,5%

Salah satu syarat bagi BAL untuk dapat digunakan sebagai probiotik yaitu ketahanan terhadap garam empedu (*oxgall*). Viabilitas terhadap *oxgall* merupakan karakteristik yang penting bagi BAL karena berpengaruh terhadap aktivitasnya dalam saluran pencernaan. Viabilitas BAL dihitung dengan lama inkubasi 0 dan 5 jam. Hasil pengamatan jumlah koloni BAL yang ditumbuhkan pada media MRS Broth dengan penambahan *oxgall* 0,5%. Jumlah koloni dan viabilitas masing-masing isolat BAL dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Jumlah koloni dan viabilitas bakteri asam laktat pada *oxgall* 0,5%

Isolat BAL	Jumlah koloni (log cfu/ml)		Viabilitas (%)
	0 jam	5 jam	
A.23.4	7,908	7,889	99,759
A.23.2	7,892	7,865	99,657
A.22.4	7,885	7,855	99,619

Tabel 4 menunjukkan jumlah koloni A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada medium yang mengandung *oxgall* 0,5% dengan lama inkubasi 0 dan 5 jam relatif sama. Jumlah koloni BAL pada semua isolat dengan lama inkubasi 0 jam berkisar antara 7,908-7,885 log cfu/ml dan jumlah koloni BAL pada semua isolat dengan lama inkubasi 5 jam berkisar antara 7,855-7,889 log cfu/ml. Isolat BAL A.23.4 memiliki jumlah koloni BAL lebih banyak dibandingkan isolat lainnya,

baik pada waktu inkubasi 0 jam maupun 5 jam.

Jumlah koloni BAL pada semua isolat A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada medium yang mengandung *oxgall* 0,5% dengan lama inkubasi 5 jam lebih sedikit dibandingkan jumlah koloni pada medium yang tidak ditambah *oxgall* 5% . Hal ini disebabkan karena adanya penambahan *oxgall* 0,5% pada medium, dimana *Oxgall* memiliki sifat mampu menghambat pertumbuhan mikroorganismenya.



Penurunan jumlah koloni BAL pada isolat ditentukan oleh karakteristik isolat BAL, konsentrasi garam empedu, dan waktu inkubasi. Astuti dan Rahmawati (2010) menyatakan bahwa pengaruh garam empedu terhadap pertumbuhan bakteri dapat ditentukan oleh konsentrasi dan waktu inkubasi bakteri tersebut dalam medium yang mengandung garam empedu. Penurunan jumlah koloni yang berbeda pada semua isolat yang diuji menunjukkan bahwa kemampuan untuk bertahan terhadap *oxgall* berbeda untuk setiap isolat BAL.

Tabel 4 menunjukkan viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4. Viabilitas isolat BAL berkisar antara 99,619-99,759%. Viabilitas tertinggi diperoleh pada isolat BAL A.23.4 dan viabilitas terendah terdapat pada isolat BAL A.22.4. Perbedaan viabilitas masing-masing isolat BAL terhadap *oxgall* 0,5% tidak berbeda jauh. Viabilitas yang diperoleh oleh semua isolat BAL hampir mendekati 100%. Hasil ini menunjukkan bahwa isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 dapat bertahan pada media yang ditambah *oxgall* 0,5% setelah diinkubasi selama 5 jam, meskipun mengalami penurunan jumlah koloni. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 berpotensi sebagai probiotik.

Relatif tingginya viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 ini disebabkan BAL merupakan bakteri Gram positif memiliki membran yang mengandung polisakarida berupa peptidoglikan yang relatif tebal dibanding dengan membran bakteri Gram negatif. Hal ini sesuai dengan pendapat Waluyo (2007), sel bakteri tersusun atas senyawa protein yang berikatan dengan polisakarida atau bisa disebut dengan peptidoglikan. Bakteri dapat dibedakan menjadi bakteri Gram positif dan juga bakteri Gram negatif.

Bakteri gram positif memiliki membran sel yang berfungsi sebagai lalu lintas atau keluar masuknya zat ke dalam sel.

Hanya sebagian kecil BAL yang mati dengan kondisi *oxgall* 0,5%, hal ini disebabkan bakteri ini tidak tahan terhadap garam empedu. Cairan garam empedu bersifat senyawa aktif permukaan sehingga dapat menembus dan bereaksi dengan sisi membran sitoplasma yang bersifat lipofilik sehingga menyebabkan perubahan dan kerusakan struktur membran. Sifat aktif permukaan dari cairan empedu juga mengakibatkan aktifnya enzim lipolitik yang bereaksi dengan asam lemak pada membran sitoplasma bakteri yang menyebabkan perbedaan perbedaan permeabilitas dan karakteristiknya sehingga dapat mempengaruhi ketahanannya terhadap *oxgall* (Astuti dan Rahmawati 2010).

Menurut Maunatin dan Khanifa (2012), ketahanan bakteri asam laktat terhadap garam empedu berkaitan dengan enzim *bile salt hidrolase* (BSH) yang membantu menghidrolisa garam empedu terdekonjugasi, mengurangi efek racun bagi sel bakteri, dan mampu menurunkan kolesterol. Enzim *bile salt hidrolase* (BSH) merupakan kelompok enzim yang secara umum berfungsi dalam hidrolisis monogliserida, digliserida dan trigliserida untuk menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol. Asam lemak bebas akan dihidrolisis menjadi kolesterol dengan lima tahap yaitu (1) Merubah Asetil CoA menjadi HMG-CoA, (2) Merubah HMG-CoA menjadi Mevalonate, (3) Mevalonat diubah menjadi molekul dasar isoprene, *isopentenyl pyrophosphate* (IPP) bersamaan dengan hilangnya CO<sub>2</sub>, (4) IPP diubah menjadi Squalen, (5) Squalen diubah menjadi kolesterol. Enzim *bile salt hidrolase* (BSH) dimiliki oleh beberapa strain bakteri

saluran pencernaan seperti *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, dan *Bacteroides*.

Bakteri asam laktat mampu memproduksi enzim *bile salt hydrolase* (BSH) yang berfungsi memutus ikatan senyawa yang mensintesis kolesterol yaitu ikatan C-24 NaCl amida yang ada diantara asam ampedu dan asam amino pada garam ampedu terkonjugasi. Garam empedu terdekonjugasi bisa ditransformasi oleh aktivitas enzimatik beberapa bakteri usus selama sirkulasi enterohepatik. Garam ampedu yang terdekonjugasi akan dikembalikan ke hati dan dibuang melalui feses (Noh dkk., 1997).

Dekonjugasi garam empedu membantu menurunkan kadar kolesterol karena garam empedu yang tidak terikat (dekonjugasi) akan lebih mudah terbuang dari saluran pencernaan dibanding garam empedu yang terkonjugasi. Penelitian lain juga membuktikan bahwa garam empedu yang terdekonjugasi tidak diserap oleh kolesterol yang dibutuhkan untuk mensintesis garam empedu lagi sehingga menurunkan kadar kolesterol (Surono, 2004). Hal ini mengakibatkan semakin banyak kolesterol yang dibutuhkan untuk mensintesis garam empedu lagi sehingga akan menurunkan kadar kolesterol dan kemampuan BAL untuk mengikat kolesterol sehingga mencegah penyerapan kolesterol kembali ke hati. Hal tersebut menunjukkan semakin banyaknya kolesterol yang terhidrolisis oleh enzim BSH akan meningkatkan ketahanan BAL terhadap garam empedu (Lee dkk., 2009).

Beberapa hasil penelitian yang menunjukkan viabilitas BAL terhadap *oxgall* setelah diinkubasi selama 5 jam diantaranya penelitian Simbolon (2016) yaitu isolat *L. plantarum* 1 RN2-53 dan

*L. plantarum* 1 RN2-12112 mampu bertahan pada media yang mengandung *oxgall* 0,5% dan memiliki viabilitas berturut-turut 99,71% dan 97,10% selama 5 jam inkubasi. Astuti dan Rahmawati (2010) menyatakan bahwa *Streptococcus sp.* yang diisolasi dari *chyme* usus halus ayam Broiler strain Lohmann tahan terhadap *oxgall* 0,5%, penelitian Apridani (2014) menunjukkan bahwa *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dapat bertahan hingga 5 jam inkubasi tanpa penurunan jumlah koloni yang signifikan pada media yang mengandung *oxgall* 0,5%.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah Isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 dapat bertahan dan mampu tumbuh dengan baik pada pH 2,5 dan pH 3 dengan lama inkubasi selama 1,5 jam. Viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada pH 2,5 berturut-turut yaitu 99,786, 99,773, dan 99,899%. Viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada pH 3 berturut-turut yaitu 99,887, 99,824, dan 99,836%.

Isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 dapat bertahan dan mampu tumbuh dengan baik pada media yang mengandung *oxgall* 0,5% dengan lama inkubasi 5 jam. Viabilitas isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 pada media yang mengandung *oxgall* 0,5% berturut-turut yaitu 99,759, 99,657, dan 99,619%.

### Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka perlu dilakukan pengujian isolat BAL A.23.4, A.23.2, dan A.22.4 ini terhadap karakteristik probiotik lainnya

seperti kemampuan melekat pada mukosa usus.

## DAFTAR PUSTAKA

- Apridani, E. 2014. **Viabilitas *Lactobacillus plantarum* 1 yang diisolasi dari susu kedelai terfermentasi spontan terhadap asam klorida dan garam empedu.** Jurnal Online Mahasiswa Universitas Riau. Pekanbaru.
- Astuti dan A. Rahmawati. 2010. **Asimilasi kolesterol dan dekonjugasi garam empede oleh bakteri asam laktat (BAL) dari limbah kotoran ayam secara in vitro.** Prosiding Seminar Nasional Pendidikan. Fakultas MIPA Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Astuti, Z. Bachruddin., Supasmo, dan E. Harmayani. 2009. **Pengaruh pemberian bakteri asam laktat *Streptococcus thermophilus* terhadap kadar kolesterol darah ayam broiler strain lohman.** Prosiding Seminar Nasional Pendidikan. Fakultas MIPA. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Axelsson, L. 2004. **Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology.** In Salminen, S., Wright, A.V., Ouwehand, A., editors. Lactic Acid Bacteria: Microbiological dan Functional Aspects, 3rd edition, revised and expanded. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Ferrer, C. P. 2007. ***Lactobacillus plantarum* from application to protein expression.** Dissertatation of Faculty of Natural and Environmental Sciences University of Kuopio. Kuopio.
- Hsieh, C. dan F. C. Yang. 2003. **Reusing soy residue for the solid state fermentation of ganoderma lucidum.** Bioresource Tech. Vol. 80: 21-25.
- Harimurti, S., S. R. Endang, Nasroedin dan Kurniasih. 2007. **Bakteri asam laktat dari intensin ayam sebagai agensia probiotik.** Animal Production, Vol. 9(2):82-91.
- Khalid, K. 2011. **An overview of lactic acid bacteria.** International Journal of Biosciences (IJB).Vol. 1(3): 1-13.
- Lee, J., Y. Kim, H. S. Yun, J. G. Kim, S. Oh dan S. H. Kim. 2009. **Genetic and proteomic analysis of factors affecting serum cholesterol reduction by *Lactobacillus acidophilus* A4.** Applied and Environmental Microbiology. Vol. 76(14): 4829-4835.
- Noh, D. O., S. H. Kim dan S. E. Gilliland. 1997. **Incorporation cholesterol into the celluler membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121.** Journal Dairy Science. Vol. 80: 3107-3113.
- Kusumawati, N., B. S. L. Jenie., Siswasetyhadi, dan R. D. Haryadi. 2003. **Seleksi bakteri asam laktat indigenus sebagai galur probiotik dengan kemampuan menurunkan kolesterol.** Jurnal Mikrobiologi Indonesia. Vol. 8(2): 39-43.

- Maunatin, A. dan Khanifa. 2012. **Uji potensi probiotik *Lactobacillus plantarum* secara *in-vitro***. *Alchemy*. Vol. 2(1).
- Mourad, K. dan K. N. Eddine. 2006. ***In vitro* preselection criteria for probiotic *Lactobacillus plantarum* stains of fermented olives origin**. *Journa Probiotics and Prebiotics*. Vol. 1: 27-32.
- Nuraida, L., Winarti, S. Hana, dan E. Prangdimurti. 2011. **Evaluasi *in vitro* terhadap kemampuan bakteri asam laktat asal air susu ibu untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongjasi garam empedu**. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 2(1).
- Prayitno, A. 2010. **Protozoa Umum**. Institut Teknologi Bandung Press. Bandung.
- Putranto, W. S. 2006. **Purifikasi dan karakterisasi protease yang dihasilkan *Lactobacillus acidophilus* dalam fermentasi susu sapi perah**. Seminar Nasional Bioteknologi. LIPI.
- Salam, N. A., E. Roza, E. Rossi, E. Purwanto and Husmaini. 2017. **Isolation and Identification of lactic acid bacteria from okara and evaluation of their potential as candidate probiotics**. *Pakistan journal of Nutrition* Vol. 16 (8): 618-628.
- Simbolon, L. S. 2016. **Viabilitas *Lactobacillus plantarum* 1 yang diisolasi dari industri pengolahan pati sagu terhadap asam klorida dan garam empedu**. Skripsi Fakultas Pertanian. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Surono, I. S. 2004. **Probiotik susu fermentasi dan kesehatan**. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). Jakarta.
- Susanti, I., R. W. Kusumaningtyas, dan F. Illaningtyas. 2007. **Uji sifat bakteri asam laktat sebagai kandidat bahan pangan fungsional**. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 18(2): 89-95.
- Waluyo, L. 2007. **Mikrobiologi Umum**. Edisi Revisi. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.
- Wijayanto, U. 2009. **Analisis *in vitro* toleransi isolat bakteri asam laktat asal daging sapi terhadap pH lambung, pH usus dan garam empedu sebagai kandidat probiotik**. Skripsi Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wood, B. J. B. and W. H. Holzapfel. 1995. **The Genera of Lactic Acid Bacteria**. Vol. 2. Blackie Academics and Profesional. Tokyo.