

VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) YANG DIISOLASI DARI KULIT ARI KACANG KEDELAI TERHADAP GARAM EMPEDU (*Oxgall*) DAN ASAM KLOORIDA (HCl)

VIABILITY OF LACTIC ACID BACTERIA (LAB) ISOLATED FROM ARI SKIN OF SOYBEAN ON BILE SALT (*Oxgall*) AND CHLORIDE ACID (HCl)

Febria Martina Sari¹, Evy Rossi², Raswen Efendi²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau

²Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau

Email korespondensi: Febriamartinasari@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui viabilitas isolat Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari kulit ari kacang kedelai terhadap asam klorida (HCl) dan garam empedu (*oxgall*). Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dan data yang diperoleh ditabulasi serta dianalisis secara deskriptif. Perlakuan pada penelitian ini yaitu MRS Broth yang telah diatur pH nya tanpa dan dengan penambahan asam klorida menjadi 2,5 dan 3 yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 0 dan 1,5 jam, MRS Broth tanpa penambahan garam empedu (*oxgall*) dengan konsentrasi 0,5%, dan medium MRS Broth dengan penambahan garam empedu (*oxgall*) dengan konsentrasi 0,5% diinkubasi pada suhu 37°C selama 0 dan 5 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat *Lactobacillus* K.11.3, *Lactobacillus* K.12.1, *Lactobacillus* K.22.2 dapat bertahan hidup dengan viabilitas sekitar 96,40, 96,74, dan 96,17%, pada pH 2,5 sedangkan pada pH 3 masing-masing isolat memiliki viabilitas sebesar 99,44, 99,10, dan 98,65% yang diinkubasi selama 1,5 jam. Isolat *Lactobacillus* K.11.3, *Lactobacillus* K.12.1, *Lactobacillus* K.22.2 dapat bertahan hidup pada media yang mengandung *oxgall* 0,5% dan memiliki viabilitas berturut-turut 98,31, 98,20, dan 97,97% yang diinkubasi selama 5 jam.

Kata kunci : viabilitas, bakteri asam laktat, asam klorida, *oxgall*.

ABSTRACK

The purpose of this study was to determine the viability of isolates of Lactic Acid Bacteria (LAB) isolated from ari skin soybean extract against hydrochloric acid (HCl) and bile salts (*oxgall*). This research was conducted experimentally and the data obtained was tabulated and analyzed descriptively. The treatments in this study were MRS Broth having pH adjusted by addition of chloride acid to 2.5 and 3 incubated at 37°C for 0 and 1.5 hours, MRS Broth without addition of bile salt (*oxgall*) with 0.5% concentration, and MRS Broth medium with the addition of bile salts (*oxgall*) with a concentration of 0.5% incubated at 37°C for 0 and 5 hours. The results of this study showed that isolate *Lactobacillus* K.11.3, *Lactobacillus* K.12.1, *Lactobacillus* K.22.2 could to survive with viability around 96.40, 96,74 and

1) Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau

2) Dosen Fakultas Pertanian Univesitas Riau

96.17% on pH 2,5, while at pH 3 each isolate had 99.44, 99.10, 98.65% viability which was incubated for 1.5 hours. Isolates *Lactobacillus* K.11.3, *Lactobacillus* K.12.1, *Lactobacillus* K.22.2 could survive on media containing 0.5 g of *oxgall* and had viability of 98.31, 98,20, 97.97% incubated for 5 hours.

Keywords: viability, lactic acid bacteria, Chloride acid, *oxgall*.

PENDAHULUAN

Meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan telah membawa perubahan pola untuk mengkonsumsi pangan fungsional. Pangan fungsional adalah pangan yang mengandung suatu komponen tertentu dan memberikan efek positif bagi kesehatan manusia. Astawan (2004) menyatakan bahwa pangan fungsional adalah produk pangan yang di dalamnya mengandung serat, lemak, vitamin, mineral, asam amino dan bahan-bahan yang dapat meningkatkan angka kecukupan gizi (AKG). Kandungan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai upaya untuk meningkatkan status gizi bagi yang mengkonsumsinya. Manfaat pangan fungsional yaitu dapat mencegah timbulnya penyakit, meningkatkan daya tahan tubuh, melancarkan pencernaan, dan memperlambat proses penuaan.

Bakteri asam laktat (BAL) mempunyai kontribusi besar dalam memberikan manfaat fungsional bagi tubuh manusia terhadap keseimbangan mikroflora usus, tetapi tidak semua BAL adalah probiotik. Probiotik merupakan kultur tunggal atau campuran dari bakteri hidup yang dapat diaplikasikan kepada manusia maupun hewan dan memberikan keuntungan bagi inangnya untuk meningkatkan kinerja mikroflora alami

tubuh (Irianto, 2007). Saarela *et al.* (2000) menyatakan bahwa probiotik adalah mikroba hidup yang bermanfaat bagi kesehatan konsumen dengan mempertahankan keseimbangan mikroba usus. Wijayanto (2009) menambahkan bahwa viabilitas sel bakteri yang menjadi kandidat probiotik harus berkisar antara 10^6 - 10^9 cfu/ml agar mampu bertahan di dalam saluran pencernaan. Bakteri asam laktat yang bersifat probiotik harus memiliki beberapa karakteristik, salah satunya adalah tahan terhadap garam empedu dan asam lambung. Bakteri asam laktat untuk dapat bertahan dan tumbuh pada saluran pencernaan harus mampu melewati bagian atas saluran usus yang berisi garam empedu yang disekresikan ke dalam usus (Wijayanto, 2009).

Garam empedu merupakan senyawa yang salah satu sisinya bersifat polar dan sisi lainnya bersifat non polar. Struktur inilah yang menyebabkan garam empedu secara langsung mampu mempengaruhi kehidupan mikroorganisme dalam saluran pencernaan khususnya ketika berada di usus halus (Saunders *et al.*, 2005). Keberadaan garam empedu di dalam usus halus bersifat menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Ketahanan terhadap asam lambung juga merupakan syarat penting suatu isolat yang dapat

menjadi probiotik, hal ini disebabkan bila isolat tersebut masuk ke dalam saluran pencernaan manusia harus mampu bertahan di pH asam lambung yaitu sekitar 2,5 (Rizqati, 2006). Simbolon (2016) telah melakukan pengujian viabilitas *Lactobacillus plantarum* 1 yang diisolasi dari industri pengolahan pati sagu terhadap asam klorida dan garam empedu 0,5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas *L. plantarum* 1 mampu hidup dengan baik pada pH 3 serta memiliki viabilitas sebesar 98,56 % sedangkan pada pH 2,5 memiliki viabilitas sebesar 72,87% selama 1,5 jam inkubasi, dan mampu bertahan pada media yang mengandung oxgall 0,5% dan memiliki viabilitas 99,71% 5 jam inkubasi.

Isolasi BAL dari limbah pengolahan telah dilakukan, seperti pada kulit ari kacang kedelai oleh Rossi dan Efendi (2016) didapatkan beberapa isolat BAL. Penelitian mengenai viabilitas BAL yang diisolasi dari kulit ari kacang kedelai belum dilakukan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui viabilitas isolat BAL yang diisolasi dari kulit ari kacang kedelai terhadap asam klorida (HCl) dan garam empedu (*oxgall*).

METODOLOGI

Tempat dan Waktu

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Analisis Hasil Pertanian dan Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Pekanbaru pada bulan Februari hingga Agustus 2017.

Bahan dan Alat

Isolat yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat BAL *Lactobacillus* dengan kode : K.11.3, K.12.1, dan K.22.2. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis adalah HCl pekat 37%, *oxgall* 0,5% (Sigma), larutan garam fisiologis 0,85%, alkohol 70%, MRS Broth (Merck), MRS Agar (Merck), dan akuades.

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

Metodologi Penelitian

Penelitian dilaksanakan secara eksperimen yang mengacu pada Nuraida *et al.* (2011) dengan melihat ketahanan BAL yang ditumbuhkan dalam media MRS Broth yang telah diatur pH nya tanpa dan dengan penambahan asam klorida menjadi 2,5 dan 3 yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 0 jam dan 1,5 jam.

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% diinkubasi pada suhu 37°C selama 0 jam dan 5 jam.

Pelaksanaan Penelitian

Inokulasi Bakteri Asam Laktat pada Media MRS Broth tanpa dan dengan Penambahan Garam Empedu (*oxgall*) 0,5%

Pengujian viabilitas BAL terhadap garam empedu (*oxgall*) mengacu pada Nuraida *et al.* (2011) masing-masing medium MRS Broth tanpa dan dengan penambahan garam empedu diinokulasikan dengan 1% isolate BAL, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 jam pengamatan dilakukan pada awal inkubasi (0 jam) dan setelah inkubasi selama 5 jam. Jumlah BAL yang tumbuh pada medium MRS Broth dengan penambahan *oxgall* dibandingkan dengan jumlah BAL yang tumbuh tanpa penambahan *oxgall*. Diagram alir inokulasi BAL pada media dengan penambahan *oxgall* 0,5%

Inokulasi Bakteri Asam Laktat pada Media MRS Broth dengan pH Kontrol, pH 2,5 dan pH 3

Pengujian viabilitas BAL terhadap garam empedu (*oxgall*) mengacu pada Nuraida *et al.* (2011) masing-masing medium MRS Broth

tanpa dan dengan penambahan garam empedu diinokulasikan dengan 1% isolate BAL, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 jam pengamatan dilakukan pada awal inkubasi (0 jam) dan setelah inkubasi selama 5 jam. Jumlah BAL yang tumbuh pada medium MRS Broth dengan penambahan *oxgall* dibandingkan dengan jumlah BAL yang tumbuh tanpa penambahan *oxgall*. Diagram alir inokulasi BAL pada media dengan penambahan *oxgall* 0,5%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Bakteri Asam Laktat pada Media MRS Broth tanpa Penambahan Asam Klorida (HCl) dan *Oxgall* (kontrol)

Tujuan pengamatan ini adalah untuk mengetahui viabilitas BAL pada media MRS Broth tanpa penambahan asam klorida (HCl) dan tanpa penambahan *oxgall* 0,5% (kontrol) Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media MRS Broth tanpa penambahan asam klorida (HCl) dan *oxgall* 0,5% (kontrol) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Total BAL pada media MRS Broth tanpa penambahan asam klorida (HCl) dan *oxgall* 0,5% (kontrol)

Kode Isolat BAL	Jumlah Koloni (log cfu/ml)		
	0 jam	1,5 jam	5 jam
<i>Lactobacillus</i> K.11.3	8,88	9,10	9,42
<i>Lactobacillus</i> K.12.1	8,90	9,14	9,44
<i>Lactobacillus</i> K.22.2	8,89	9,11	9,41

Berdasarkan data pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa semua isolat

BAL tumbuh pada media MRS Broth tanpa penambahan HCl dan *oxgall*

0,5% (kontrol). Isolat *Lactobacillus* K.12.1 memiliki jumlah koloni yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat *Lactobacillus* K.11.3 dan *Lactobacillus* K.22.2 baik pada waktu inkubasi 0 jam, 1,5 jam, dan 5 jam. Total BAL menunjukkan jumlah koloni yang berbeda pada setiap perlakuan waktu inkubasi yang berbeda. Perbedaan lama inkubasi pada setiap isolat mengakibatkan perolehan jumlah isolat yang berbeda, semakin lama inkubasi maka semakin meningkat jumlah koloni yang dihasilkan. Meningkatnya jumlah koloni bukan hanya disebabkan oleh lama nya waktu inkubasi, melainkan juga kondisi pH media tempat bertumbuhnya mikrob.

Penelitian ini menggunakan media MRS Broth yang memiliki nilai pH yang mendekati netral yaitu sekitar 5,9. Menurut Jay *et al.* (2005) pertumbuhan BAL dipengaruhi oleh waktu inkubasi, suhu, kelembaban, pH dan nutrisi. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan

aktivitas enzim, yang mana enzim dibutuhkan oleh bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal, maka akan mengganggu kerja enzim dan mikrob tersebut tidak dapat melakukan metabolisme dengan baik. Terganggunya metabolisme mengakibatkan mikrob tidak dapat tumbuh dengan optimal. Menurut Alakomi *et al.* (2000) BAL merupakan bakteri yang bersifat mesofilik dan termofilik yaitu bakteri yang dapat bertahan pada pH 3,2 dan pH yang lebih tinggi 9,6. Maunatin dan Khanifa (2012) menambahkan bahwa pH optimum untuk pertumbuhan bakteri yaitu 6,5-7,5. Ferrer (2007) menyatakan *L. plantarum* memiliki pH optimum pertumbuhan berkisar antara 5,3-5,6. Hasil pengamatan isolat BAL dengan media MRS Agar tanpa penambahan HCl dan oxgall 0,5% (kontrol) pengenceran 10^{-8} dapat dilihat pada gambar 1, 2, dan 3.



Gambar 1. Isolat *Lactobacillus* K.11.3



Gambar 2. Isolat *Lactobacillus* K.12.1



Gambar 3. Isolat *Lactobacillus* K.22.2

Viabilitas Bakteri Asam Laktat pada Media MRS Broth dengan Penambahan HCl (pH 2,5)

Tujuan pengamatan ini adalah untuk mengetahui viabilitas BAL pada media MRS Broth yang telah diatur pH nya menjad pH 2,5. Salah satu

syarat suatu mikroorganisme sebagai probiotik adalah mampu bertahan terhadap pH rendah. Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media yang memiliki pH 2,5 selama 0 jam dan 1,5 jam dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Viabilitas BAL pada media MRS Broth yang memiliki pH 2,5 dengan penambahan Asam Klorida (HCl)

Isolat BAL	Jumlah Koloni (log cfu/ml)		Penurunan Jumlah Koloni (%)	Viabilitas (%)
	0 jam	1,5 jam		
<i>Lactobacillus</i> K.11.3	8,88	8,56	3,60	96,40
<i>Lactobacillus</i> K.12.1	8,90	8,61	3,26	96,74
<i>Lactobacillus</i> K.22.2	8,89	8,54	3,82	96,17

Berdasarkan data Tabel 2 yang menunjukkan bahwa masing-masing isolat memiliki viabilitas yang berbeda-beda. Viabilitas tertinggi pada isolat *Lactobacillus* K.12.1 sebesar 96,74%, sedangkan isolat *Lactobacillus* K.11.3 hanya sebesar 96,40%, dan isolat yang memiliki viabilitas terendah yaitu *Lactobacillus* K.22.2 sebesar 96,17%. Viabilitas yang diperoleh semua isolat BAL hampir mendekati 100%. Penelitian ini menggunakan media MRS Broth yang memiliki pH 2,5 dengan penambahan HCl. Waktu inkubasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu selama 1,5 jam. Hal ini disebabkan waktu yang diperlukan saat bakteri masuk ke dalam pencernaan dan bertahan di dalam lambung selama 1,5 jam dengan pH asam lambung sekitar 2,5 (Salen dan Batta, 2004). Wijayanto (2009) menambahkan bahwa kandidat probiotik harus tahan terhadap pH lambung yaitu sekitar 2,5.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa viabilitas masing-masing isolat mengalami penurunan setelah dilakukan perlakuan pada media MRS Broth yang diatur pH nya menjadi 2,5 dan diinkubasi selama 1,5 jam. Penurunan jumlah koloni pada setiap isolat berbeda dengan kisaran 3,82-3,60 %. Isolat yang memiliki

penurunan jumlah koloni terendah yaitu *Lactobacillus* K.12.1, sedangkan isolat yang memiliki penurunan jumlah koloni tertinggi yaitu *Lactobacillus* K.22.2. Penurunan jumlah koloni yang berbeda pada semua isolat yang diuji menunjukkan bahwa kemampuan isolat untuk bertahan pada kondisi media yang memiliki pH rendah berbeda-beda. Hal ini disebabkan setiap isolat memiliki tingkat ketebalan membran yang berbeda. Isolat yang ditumbuhkan pada media yang memiliki tingkat keasaman yang tinggi dan tidak sesuai dengan media tempat tumbuh optimal isolat tersebut maka akan merusak membran pada setiap isolat. Sivram dan Vishwanath (2012) menyatakan bahwa beberapa BAL dapat menginduksi respon toleransi asam (*acid tolerance response*) terhadap perlakuan asam yang ringan. Perbedaan pH optimum enzim pada bakteri akan menentukan viabilitas masing-masing bakteri tersebut. Semakin rendah pH optimum enzim tersebut maka toleransi bakteri terhadap asam akan semakin baik. Susanti *et al.* (2007) menyatakan kondisi yang sangat asam dapat mengakibatkan kerusakan membran dan lepasnya komponen intraseluler seperti Mg, K, dan lemak dari sel

bakteri yang dapat menyebabkan kematian.

Berdasarkan hasil pengujian ketahanan pH 2,5 menunjukkan bahwa masing-masing isolat yang diisolasi dari kulit ari kacang kedelai berpotensi sebagai agen probiotik. Kimoto *et al.* (2002) bakteri probiotik akan mempunyai efek pada lingkungan usus apabila jumlah populasi dari bakteri tersebut mencapai minimal $10^6 - 10^8$ Log cfu/ml. Pertumbuhan sel bakteri yang dihambat oleh pH terjadi karena kerusakan enzim-enzim yang ada dipermukaan sel, kerusakan lipoposakarida dan membran luar serta penurunan pH sitoplasma melalui peningkatan permeabilitas membran. Hasil penelitian yang menyatakan

BAL tahan terhadap pH rendah (pH 2,5) yaitu Simbolon (2016) *L. plantarum* 1 RN2-53 yang memiliki viabilitas sebesar 72,87%.

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

Tujuan pengamatan adalah untuk mengetahui viabilitas BAL pada media yang telah diatur pH nya menjadi pH 3. Salah satu syarat suatu mikroorganisme sebagai probiotik adalah mampu bertahan terhadap pH rendah. Hasil pengamatan jumlah koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media MRS Broth penambahan HCl dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Viabilitas BAL pada media MRS Broth dengan penambahan Asam Klorida (pH 3)

Isolat BAL	Jumlah Koloni (log cfu/ml)		Penurunan Jumlah Koloni (%)	Viabilitas (%)
	0 jam	1,5 jam		
<i>Lactobacillus</i> K.11.3	8,88	8,83	0,56	99,44
<i>Lactobacillus</i> K.12.1	8,90	8,82	0,90	99,10
<i>Lactobacillus</i> K.22.2	8,89	8,77	1,35	98,65

Berdasarkan data Tabel 3 yang menunjukkan bahwa viabilitas isolate BAL *Lactobacillus* K.11.3, *Lactobacillus* K.12.1, *Lactobacillus* K.22.2 dapat bertahan hidup berkisar 98,65-99,44% setelah diinkubasi selama 1,5 jam pada pH 3. Penelitian ini menggunakan media MRS Broth yang memiliki pH 3 dengan waktu inkubasi 1,5 jam. Waktu yang diperlukan saat bakteri masuk kedalam pencernaan dan bertahan di dalam lambung selama 1,5 jam. Isolat BAL *Lactobacillus* K.11.3 memiliki

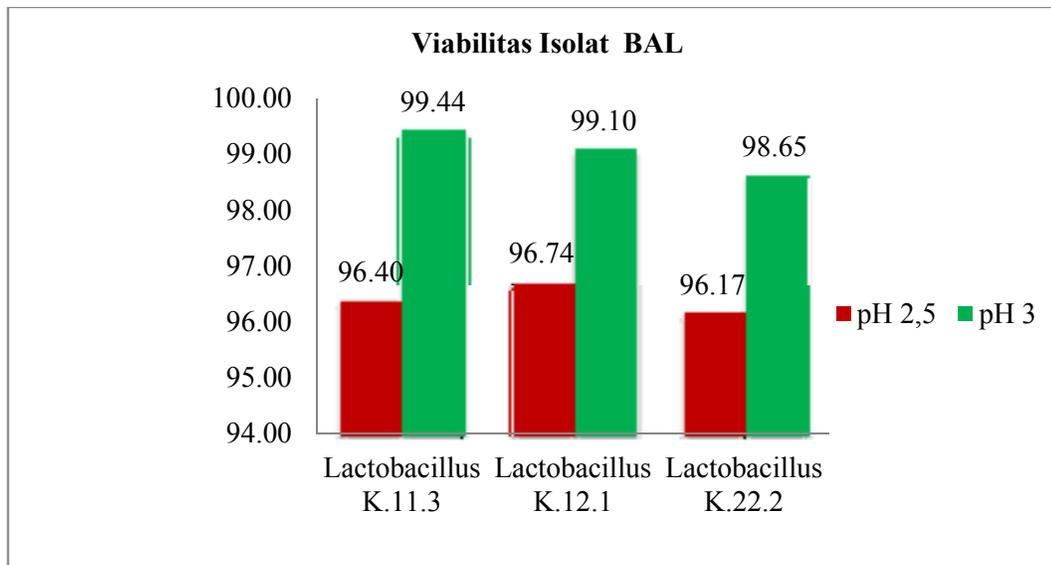
viabilitas sebesar 99,44%, sedangkan isolat *Lactobacillus* K.12.1 memiliki viabilitas sebesar 99,10%, dan isolat BAL K.22.2 memiliki viabilitas sebesar 98,65%. Berdasarkan data yang diperoleh, jumlah koloni BAL *Lactobacillus* K.11.3, *Lactobacillus* K.12.1, *Lactobacillus* K.22.2 mengalami penurunan sebesar 0,56-1,35% setelah diinkubasi selama 1,5 jam pada pH 3.

Isolat BAL yang tetap hidup pada kondisi media yang memiliki pH 3 dikarenakan kemampuan isolat

tersebut yang mampu bertahan terhadap paparan asam dari lingkungannya. Valentine (2006) menyatakan bahwa perbedaan ketahanan membran sel bakteri terhadap kerusakan akibat terjadinya penurunan pH ekstraseluler menyebabkan keragaman ketahanan sel pada pH rendah. Tingkat keasaman berkaitan dengan aktivitas enzim. Enzim dibutuhkan oleh bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Medium dan lingkungan yang tidak optimal akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Wijayanto,2009).

Jumlah koloni BAL pada setiap isolat mengalami penurunan, tetapi isolat tersebut masih berpotensi sebagai probiotik, karena jumlah koloni bakteri masih bertahan di atas

10^7 Log cfu/ml. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Wijayanto (2009) bahwa viabilitas sel bakteri yang menjadi kandidat probiotik harus berkisar antara 10^7 - 10^9 Log cfu/ml. Kimoto *et al.* (2002) menyatakan bahwa bakteri probiotik akan mempunyai efek pada lingkungan usus apabila jumlah populasi dari bakteri tersebut mencapai minimal 10^6 - 10^8 cfu/ml. Beberapa hasil penelitian menyatakan bahwa isolat BAL dapat bertahan terhadap pH 3 seperti pada isolat *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.1.3.2 (Apridani, 2014), dan isolate *L. plantarum* 1 RN2-53 dan *L. plantarum* 1 RN2-12112 (Simbolon, 2016). Viabilitas isolat BAL setelah diinkubasi selama 1,5 pada media MRS Broth yang ditambahkan HCl pada pH 2,5 dan pH 3 disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Viabilitas Isolat BAL

Gambar 4 menunjukkan bahwa isolat *Lactobacillus* K.11.3, *Lactobacillus* K.12.1, *Lactobacillus* K.22.2 masih hidup pada pH 2,5 dan

pH 3 dengan viabilitas yang berbeda yaitu pH 2,5 berkisar 96,17-96,74% sedangkan pada pH 3 berkisar 98,65-99,44%. Isolat yang diisolasi pada pH

2,5 menghasilkan viabilitas yang lebih rendah dibandingkan dengan isolat yang diisolasi pada pH 3. Hal ini terjadi karena media yang digunakan sangat asam sehingga dapat mengakibatkan kerusakan membran sel dan dapat melepaskan komponen intraselulernya. Menurut Alakomi *et al.* (2000) menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* merupakan BAL yang bersifat mesofilik yang dapat bertahan pada pH 3,2 dengan suhu pertumbuhan optimum 37°C. Elida (2002) menambahkan bahwa *L. plantarum* tergolong bakteri asam laktat homofermentatif yang tumbuh pada suhu 15-37°C dan masih dapat tumbuh pada pH 3-4,6 dengan ciri-ciri sel berbentuk batang pendek, warna koloni putih susu hingga abu-abu dan mempunyai viabilitas tinggi untuk digunakan sebagai starter.

Viabilitas Bakteri Asam Laktat pada Media MRS Broth dengan Garam Empedu (*Oxgall* 0,5 %)

Viabilitas terhadap garam empedu (*oxgall*) merupakan salah satu syarat bagi mikroba untuk dapat digunakan sebagai probiotik. Uji ketahanan isolat terhadap garam empedu merupakan pengujian tahap lanjutan terhadap isolat yang telah terlebih dahulu diseleksi pada media yang telah diatur pH nya, yaitu pH 2,5 dan 3. Pengujian dilakukan dengan cara penumbuhan isolat dalam media MRS Broth yang telah ditambahkan garam empedu sebesar 0,5% dan diinkubasi pada 0 jam (kontrol) dan 5 jam. Hasil pengamatan viabilitas bakteri terhadap *oxgall* yang ditumbuhkan pada MRS Broth dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Viabilitas BAL pada media MRS Broth dengan penambahan *oxgall* 0,5%

Isolat BAL	Jumlah Koloni (log cfu/ml)		Penurunan Jumlah Koloni (%)	Viabilitas (%)
	0 jam	1,5 jam		
<i>Lactobacillus</i> K.11.3	8,88	8,73	1,69	98,31
<i>Lactobacillus</i> K.12.1	8,90	8,74	1,80	98,20
<i>Lactobacillus</i> K.22.2	8,89	8,71	2,02	97,97

Berdasarkan data Tabel 4 menunjukkan bahwa viabilitas Isolat *Lactobacillus* K.11.3 memiliki viabilitas yang lebih tinggi yaitu sebesar 98,31%, dibandingkan dengan *Lactobacillus* K.12.1 dan *Lactobacillus* K.22.2 yang hanya 98,20% dan 97,97%. Penelitian ini menggunakan media MRS Broth yang ditambah dengan garam empedu (*oxgall* 0,5%) sedangkan waktu inkubasi yang digunakan pada

penelitian ini yaitu selama 5 jam., hal ini disebabkan waktu yang diperlukan saat bakteri masuk kedalam pencernaan dan bertahan di dalam lambung selama 4-6 jam (Surono,2004).

Viabilitas masing-masing isolat BAL terhadap *oxgall* 0,5% tidak berbeda jauh, semua isolat BAL yang diperoleh hampir mendekati 100%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat *Lactobacillus* K.11.3, *Lactobacillus*

K.12.1, dan *Lactobacillus* K.22.2 dapat hidup dan tahan berkisar 97,97-98,20% pada media yang ditambah *oxgall* 0,5% setelah diinkubasi selama 5 jam. Hal ini dapat dinyatakan bahwa isolate *Lactobacillus* K.11.3, *Lactobacillus* K.12.1, dan *Lactobacillus* K.22.2 berpotensi sebagai probiotik. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa setelah dilakukan inkubasi selama 5 jam dengan media MRS Broth yang telah diatur dengan penambahan *oxgall* 0,5%, masing-masing isolat mengalami penurunan sekitar 1,80-2,02 %. Penurunan jumlah koloni yang berbeda pada semua isolat yang diuji, menunjukkan bahwa kemampuan isolat untuk bertahan terhadap *oxgall* berbeda. Penghambatan garam empedu terhadap pertumbuhan bakteri disebabkan karena garam empedu memiliki struktur *amphipatic* sehingga mampu melarutkan atau memecah semua substansi sel yang mengandung lipid. Dinding sel bakteri dan membran sel bakteri mengandung lipid sehingga masuknya garam empedu ke dalam dinding sel dan membran sel akan menyebabkan dinding sel dan membran sel menjadi rusak dan kehilangan fungsinya sebagai pelindung bakteri dan filter. Apabila bakteri mengalami kerusakan atau kehilangan fungsi pada dinding selnya, maka akan mengakibatkan bakteri cenderung tidak mampu bertahan terhadap tekanan osmotik sehingga menyebabkan terjadinya lisis atau pengeluaran isi sel yang berakibat kematian sel. Bakteri asam laktat mempunyai ketahanan hidup pada kondisi garam empedu disebabkan oleh beberapa spesies BAL mampu

mendekonjugasi garam empedu dengan menggunakan asam amino sebagai akseptor elektron atau selain itu juga sebagian besar BAL mempunyai enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) (Vinderola dan Reinheimer 2003).

Salah satu penyebab penurunan jumlah koloni pada isolat BAL ditentukan oleh karakteristik BAL. Penurunan jumlah bakteri disebabkan karena terjadinya kerusakan pada sel yang diinduksi oleh garam empedu, namun tidak sampai menyebabkan sel mengalami lisis. Toleransi terhadap garam empedu disebabkan oleh peranan polisakarida sebagai salah satu komponen penyusun dinding sel bakteri gram positif (Surono dan Nuraini, 2000). Kimoto *et al.* (2002) menyatakan bahwa komponen lipid yang lebih dominan ditemukan pada membran bakteri gram positif yang merupakan bagian terpenting untuk menjaga struktur membrane. Menurut Astuti dan Rahmawati (2010) pengaruh garam empedu terhadap pertumbuhan bakteri dapat ditentukan oleh konsentrasi dan waktu inkubasi dalam medium yang mengandung garam empedu.

Cairan empedu merupakan campuran dari asam empedu, kolesterol, asam lemak, fosfolipid, pigmen empedu. Kombinasi tersebut bersifat bakterisidal bagi mikroorganisme. Astuti dan Rahmawati (2010) menyatakan bahwa cairan 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 permeabilitas dan karakteristik sehingga dapat mempengaruhi ketahanannya terhadap *oxgall*.

Berdasarkan hasil dari beberapa penelitian menunjukkan viabilitas BAL terhadap *oxgall* 0,5% setelah diinkubasi 5 jam diantaranya penelitian Apridani (2014) menunjukkan bahwa *L. plantarum* 1.R.11.1.2 dan *L. plantarum* 1 R.13.2 mampu bertahan pada media yang mengandung *oxgall* 0,5% selama 5 jam, Simbolon (2016) isolat *L. plantarum* 1 RN2-53 dan *L. plantarum* 1 RN2-12112 mampu bertahan pada media yang mengandung *oxgall* 0,5% dan memiliki viabilitas 99,71% dan 97,10% selama 5 jam inkubasi. Syafiqoh (2014) isolat mampu bertahan pada media yang mengandung *oxgall* 0,5% selama 5 jam dengan viabilitas *L. plantarum* 1 SK5 99,9% dan *L. plantarum* 1 NS9 99,5%.

KESIMPULAN

Kesimpulan

Isolat BAL *Lactobacillus* K.11.3, isolat BAL *Lactobacillus* K.12.1, dan isolat BAL *Lactobacillus* K.22.2 dapat bertahan serta mampu hidup pada pH 2,5, memiliki viabilitas sebesar 96,40%, 96,74%, dan 96,17%, sedangkan pada pH 3 masing-masing isolat BAL *Lactobacillus* K.11.3, isolat BAL *Lactobacillus* K.12.1, dan isolat BAL *Lactobacillus* K.22.2 memiliki viabilitas sebesar 99,44%,

99,10%, 98,65% yang diinkubasi selama 1,5 jam.

Isolat BAL *Lactobacillus* K.11.3, isolat BAL *Lactobacillus* K.12.1, dan isolat BAL *Lactobacillus* K.22.2 dapat bertahan serta mampu hidup pada media yang mengandung *oxgall* 0,5% dan memiliki viabilitas berturut-turut 98,31%, 98,20%, 97,97% yang diinkubasi selama 5 jam.

Saran

Perlu dilakukan pengujian isolat BAL *Lactobacillus* K.11.3, isolat BAL *Lactobacillus* K.12.1, isolat BAL *Lactobacillus* K.22.2 untuk diaplikasikan pada produk pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alakomi, H. L., E. Skytta, M. Sarrela, dan S. Maffila. 2000. **Lactic acid permeabilizes Gram negatif bacteria by disrupting the outer membrane.** *Journal App Environt Microbial*, 66: 2001-2005.
- Irianto, K. 2007. **Mikrobiologi (menguak dunia mikroorganisme).** Yrama Widya. Bandung.
- Astawan, M. dan Wresdiyati. 2004. **Diet dengan Makanan Berserat.** Tiga Serangkai. Solo.
- Astuti dan Rahmawati. 2010. **Asimilasi kolesterol dan dekonjugasi garam empedu oleh bakteri asam laktat**

- dari limbah kotoran ayam secara *in vitro*. Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- 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.
- Elida, M. 2002. **Profil Bakteri Asam Laktat dari Dadih yang Difermentasi dalam Berbagai Jenis Bambu dan Potensinya sebagai Probiotik.** Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ferrer, C. P. 2007. ***Lactobacillus plantarum* from Application to Protein Expression.** Dissertation of Faculty of Natural and Environmental Sciences University of Kuopio. Kuopio.
- Jay, J. M., M. J. Loessner, dan D. A. Golden. 2005. **Modern food microbiology.** Springer Sciences : 751 hlm. California.
- Kimoto, H., S. Ohmomo and T. Okamoto. 2002. **Enhancement of bile tolerance in *Lactococci* by Tween 80.** *Jurnal of Applied Microbiologi*, 92: 41-46.
- Maunatin, A. dan Khanifa. 2012. **Uji potensi probiotik *Lactobacillus plantarum* secara *in-vitro*.** *Alchemy*, volume 2 No. 1.
- Nuraida, L., S. Winarti., Hana, dan E. Prangdimurti. 2011. **Evaluasi *in vitro* terhadap kemampuan isolat bakteri asam laktat asal air susu ibu untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongugasi garam empedu.** *Jurnal Tekno dan Industri Pangan*, 22: 46-52.
- Rizqiati, H. 2006. **Ketahanan dan Viabilitas *Lactobacillus plantarum* yang Dienkapsulasi dengan Susu Skim dan Gum Arab setelah Pengeringan dan Penyimpanan.** Thesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rossi, E. dan R. Efendi. 2016. **Aktivitas antimikroba bakteri asam laktat yang diisolasi dari limbah pengolahan susu kedelai terhadap bakteri patogen.** Laporan Penelitian Fundamental. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Saarela, M., Mogensen. G., Fonde. R, dan J. Matto (2000). **Probiotic Bacteria: Safety, Functional, and Technological Properties.**

- Salen, G. dan A. K. Batta. 2004. **Bile Formation**. Encyclopedia of Gastro Enrerology. Pages: 192-200. Elsevier Inc. USA.
- Saunders, D. R., C. E. Rubin, dan J. D. Ostrow. 2005. **Small Bowel: The Gut Course (HUBIO551)**. Online Syllabus.
- 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.
- Sivram, P. L. dan P. P. Vishwanath. 2012. **Assessment of probiotic potential of *Lactobacillus* sp. isolated from cheese and preparation of probiotic ice cream**. *IJRAP*, 3: 20-25.
- Surono, dan D. Nuraini. 2000. **Exploration of indigenus Lactic Acid Bacteria from dadih of west Sumatra for good starter cultures and probiotic bacteria**. Laporan Akhir DCRG.
- Surono, I. S. 2004. **Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan**. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh
- Susanti, I., R.W. Kusumaningtyas dan F.Ilaningtyas. 2007. **Uji sifat Probiotik bakteri asam laktat sebagai kandidat bahan pangan fungsional**. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 18: 89-95.
- Syafiqoh, N. 2014. **Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam sebagai Kandidat Probiotik**. Skripsi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan ITB Bandung. Bandung.
- Valentine, V. 2006. **Uji Potensi Bakteri Asam Laktat Indigenus Asal Bekatul Secara *In Vitro***. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Vinderola. C. G., J. A. Reinheimer. 2003. **Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance**. *Food Research International*, 36: 895–9.
- 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.