

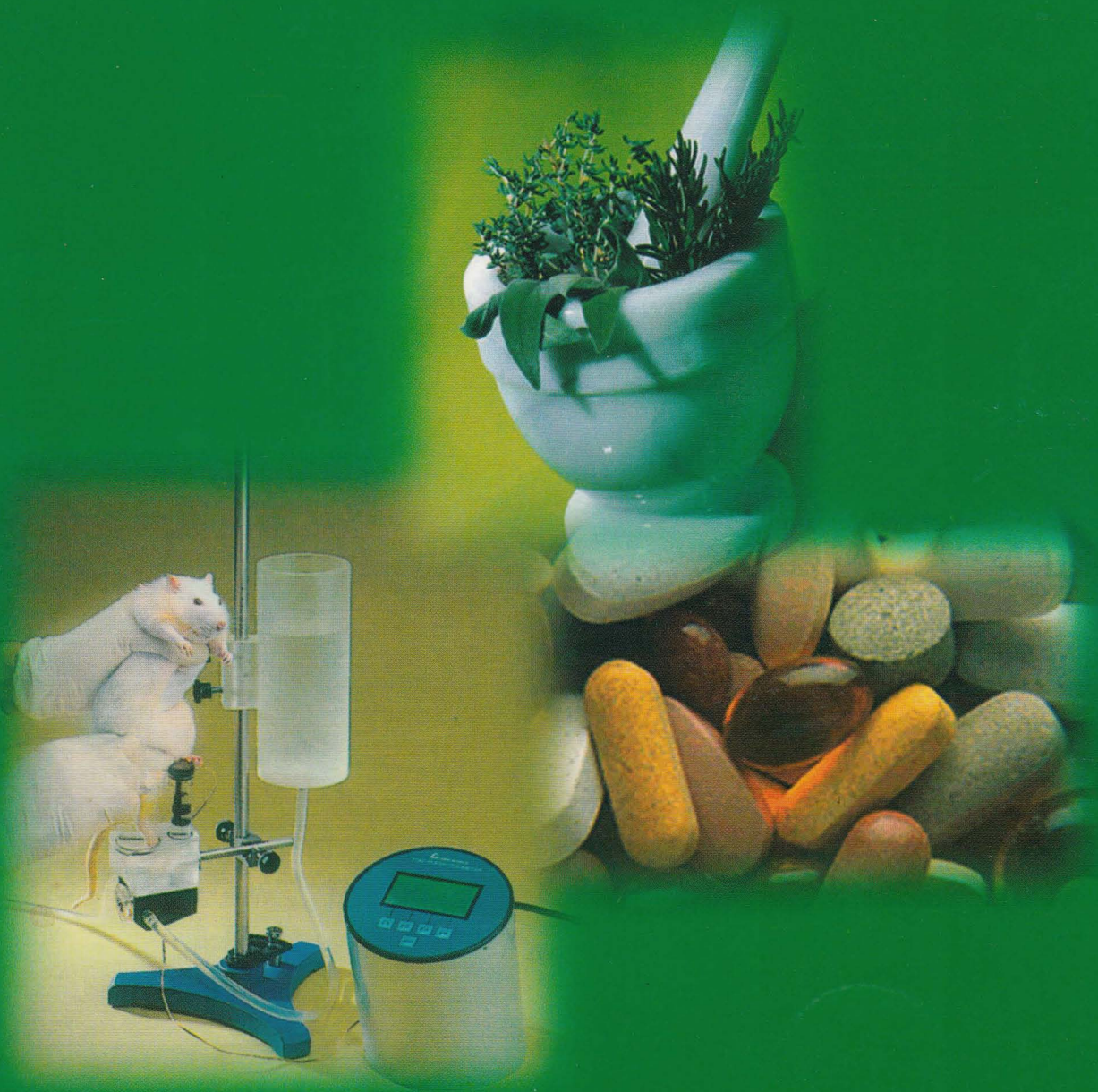


Vol. 7 No. 1 Mei 2008

Terakreditasi SK. No. 55/DIKTI/Kep/2005

# JURNAL OBAT BAHAN ALAM

*Journal of Natural Medicine*



JURNAL OBAT  
BAHAN ALAM

Volume 7

No. 1

Halaman  
1 - 115

Surabaya  
Mei 2008

ISSN  
1412-5986



# **JURNAL OBAT BAHAN ALAM**

## *JOURNAL OF NATURAL MEDICINES*

JURNAL OBAT BAHAN ALAM adalah jurnal ilmiah yang memuat naskah berkaitan dengan eksplorasi, penelitian, pengembangan dan aplikasi bahan alam berkhasiat obat. Naskah dapat berupa hasil penelitian, tulisan konseptual yang berisi gagasan dan pemikiran, atau resensi pustaka.

Jurnal ini ditujukan sebagai sarana pertukaran informasi, pemanfaatan dan pengembangan sumber daya alam Indonesia yang berkhasiat obat ditinjau dari segi ilmiah. Melalui hal tersebut diharapkan akan mendorong diskusi dan komunikasi ilmiah diantara peneliti, praktisi serta pemerhati bahan alam berkhasiat obat dan diharapkan memberikan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan dan kemajuan bangsa.

---

### **PENANGGUNG JAWAB**

Martha Ervina

### **MITRA BESTARI**

Sjamsul Arifin Achmad

Nelly C. Sugiarso

Sukrasno

Adrianta Surjadhana

Kuncoro Foe

Irwan Setiabudi

### **DEWAN REDAKSI**

Elisabeth C. Widjajakusuma

Farida Lanawati

Angelica Kresnamurti

Yelly Setyowati

Lanny Hartanti

### **PENERBIT**

Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

### **ALAMAT REDAKSI**

Sekretariat Jurnal Obat Bahan Alam

Fakultas Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya

Jl. Dinoyo 42 - 44 Surabaya 60265

Telp. 031-5678478, 5682211 ext. 246 Fax. 031-5630169

e-mail : [joba@mail.wima.ac.id](mailto:joba@mail.wima.ac.id)

Jurnal Obat Bahan Alam diterbitkan setahun dua kali (Mei dan November).

Terbit untuk pertama kalinya Mei 2002

# JURNAL OBAT BAHAN ALAM

## JOURNAL OF NATURAL MEDICINES

### DAFTAR ISI

Daftar Isi .....	i
Editorial .....	iii
<b>Pemisahan dan Karakterisasi Senyawa-senyawa Tetramer Resveratrol dari Fraksi Polar Ekstrak Aseton Kulit Batang <i>Dipterocarpus intricatus</i> (Dipterocarpaceae)</b> Muhtadi, Euis H. Hakim, Yana M. Syah, Lia D. Juliawati, Sjamsul A. Achmad, dan Jalifah Latip, .....	1-11
<b>Pengaruh Konsentrasi Gelatin Terhadap Mutu Tablet Bangle (<i>Zingiber purpureum</i>)</b> Teguh Widodo, Liliek S. Hermanu, Lisa Gunawan.....	12-18
<b>Pengaruh Berbagai Konsentrasi <i>Guar Gum</i> sebagai Pengikat pada Sediaan Tablet Hisap Ekstrak Akar Ginseng</b> Kuncoro Foe, Teguh Widodo, Eny Setiawati, Yelly Setyowati.....	19-27
<b>Efek Kombinasi Jus Daging Buah Pare (<i>Momordica charantia</i> L.) Dan Jus umbi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah</b> Marcel Hen Chostant Lola, Paulus Liben, Joseph Soemartojo.....	28-33
<b>Stabilitas dan Toksisitas Pewarna dari Ekstrak Air Kulit Buah Naga (<i>Hylocereus spp</i>)</b> Wardah dan Sopandi T .....	34-41
<b>Daya Hambat Ekstrak Daun Dewandaru (<i>Eugenia Uniflora</i> L.) Terhadap Aktivitas GST Kelas Ginjal Tikus Secara <i>In Vitro</i></b> Wahyu Utami, Khusnul Khotimah, Supardi W. Supantio.....	42-46
<b>Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kelopak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) terhadap <i>Stahylococcus aureus</i> dan <i>Streptococcus pyogenes</i></b> Dien A. Limyati dan Lisa Soegianto .....	47-53
<b>Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Meniran (<i>Phyllanthus Niruri</i> L.)</b> Wibowo Mangunwardoyo, Eni Cahyaningsih dan Tepy Usia.....	54-61
<b>Aktivitas Penstabilan Senyawa Oksigen Reaktif dari Beberapa Herbal</b> Edi Suryanto, Frenly Wehantouw, Sri Raharjo.....	62-68
<b>Aktivitas Antibakteri Laktobasili Asal Makanan Fermentasi Indonesia terhadap Patogen dan Pengaruhnya terhadap Mikroflora Usus Tikus</b> Netty Kusumawati, Betty Sri L. Jenie, Siswa Setyahadi, Ratih D. Hariyadi.....	69-75



<b>Tepung Pepaya (<i>Carica papaya</i>) sebagai Pencegah Konstipasi : Kajian <i>In Vivo</i> pada <i>Caecum</i> dan Feses Tikus Sprague Dawley</b> Theresia Endang Widoeri Widyastuti, Ignatius Srianta, dan Lily Arsanti Lestari.....	76-83
<b>Perbandingan Uji Sitotoksik CNSL, Asam Anakardan dan Kardol dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i></b> Angelica Kresnamurti dan Tutuk Budiati.....	84-97
<b>Perbandingan Uji Sitotoksik Asam Anakardan dan Asam Anakardat Jenuh dengan Metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i></b> Angelica Kresnamurti, Tutuk Budiati, Gracesania Vita Candra .....	98-107
<b>Hubungan Antara Struktur Asam Anakardat dan Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i></b> Tutuk Budiati dan Martha Ervina .....	108-114
<b>Ucapan Terima Kasih .....</b>	<b>115</b>
<b>Panduan Penulisan Artikel</b>	

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI LAKTOBASILI ASAL MAKANAN FERMENTASI INDONESIA TERHADAP PATOGEN DAN PENGARUHNYA TERHADAP MIKROFLORA USUS TIKUS

\* Netty Kusumawati, \*\* Betty Sri Laksmi Jenie, \*\*\* Siswa Setyahadi,  
\*\* Ratih Dewanti-Hariyadi

**ABSTRAK :** Delapan belas galur bakteri asam laktat dari genus laktobasili yang diisolasi dari makanan fermentasi tradisional Indonesia diteliti aktivitas antagonistiknya melawan bakteri patogen meliputi *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil menunjukkan bahwa semua galur yang diuji mampu menghambat ketiga bakteri patogen dengan derajat penghambatan yang bervariasi. Kisaran diameter penghambatan untuk *B. cereus*, *S. aureus* dan *E. coli* berturut-turut adalah 5,33-12,55 ; 3,28-15,78 dan 3,43-9,23 mm. Tiga galur yang memiliki kemampuan besar dalam menghambat bakteri patogen yaitu *Lactobacillus plantarum* sa28k, *L. acidophilus* FNCC 116 dan *L. casei* FNCC 343, selanjutnya digunakan untuk memfermentasi susu dan susu fermentasi yang dihasilkan diberikan kepada tikus sebagai minuman untuk dilihat pengaruhnya terhadap komposisi mikroflora feces tikus tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi susu fermentasi (mengandung bakteri asam laktat sekitar  $10^9$  CFU/ml) mampu meningkatkan jumlah laktobasili dan menekan jumlah bakteri coliform dan *Staphylococcus* dalam feces tikus. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa galur bakteri asam laktat yang diisolasi dari makanan fermentasi tradisional Indonesia dapat dikembangkan sebagai galur probiotik yang mampu mempertahankan keseimbangan mikroflora normal usus.

**Kata kunci :** probiotik, bakteri asam laktat, antimikroba, mikroflora usus

**ABSTRACT :** Eighteen strains of indigenous lactobacilli isolated from Indonesian traditional fermented foods were tested for their antagonistic activity against pathogenic bacteria i.e. *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The results showed that all of the 18 lactic acid bacteria strains were able to inhibit the growth of the three pathogenic bacteria in varying degree. The range of inhibition diameter for *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were 5,33-12,55 ; 3,28-15,78 and 3,43-9,23 mm, respectively. Three strains namely *Lactobacillus plantarum* sa28k, *L. acidophilus* FNCC 116 and *L. casei* FNCC 343, which showed a strong ability to inhibit pathogenic bacteria, were further investigated to study the effect of milk fermented by these strains on the fecal microflora composition of rats. The results show that ingestion of fermented milk (containing lactic acid bacteria approximately  $10^9$  CFU /ml) significantly ( $p > 0,05$ ) increases the counts of lactobacilli and suppresses the coliforms and *staphylococcus* counts in the feces of rats. The present study indicates that indigenous strains of lactic acid bacteria isolated from Indonesian fermented foods can be considered as probiotic strains that have beneficial effect for maintaining the balance of intestinal microflora.

**Keywords :** probiotic, lactic acid bacteria, antagonistic activity, intestinal microflora

### PENDAHULUAN

Pangan yang tidak sekedar menyediakan nutrisi tetapi juga mempunyai efek untuk meningkatkan kesehatan semakin diminati. Salah satu makanan kesehatan yang banyak dikembangkan ialah produk pangan yang mengandung spesies bakteri usus yang dikenal sebagai probiotik. Istilah probiotik didefinisikan sebagai sediaan sel mikroba atau komponen sel mikroba yang mempunyai efek menguntungkan bagi kesehatan dan kehidupan inangnya (Salminen *et al.*, 1999). Salah satu mekanisme bagaimana probiotik memberikan efek positif bagi kesehatan inangnya

adalah karena kemampuannya untuk mempertahankan keseimbangan mikroflora normal usus. Mikroflora usus adalah ekosistem yang kompleks yang terdiri dari sedikitnya 400 spesies bakteri yang berbeda, dengan jumlah total mencapai  $10^{12}$  (Fuller, 1989). Kapasitas metabolik dari mikroflora usus tersebut sangat beragam dan dapat menimbulkan efek negatif maupun positif pada fisiologi usus (Djouzi *et al.*, 1997). Oleh karena itu penelitian yang menggali kemungkinan untuk mengubah mikroflora usus kearah yang menguntungkan dengan tujuan akhir untuk meningkatkan kesehatan dan kehidupan yang lebih baik bagi inangnya mendapatkan minat yang besar. Salah

\* Fakultas Teknologi Pertanian, Unika Widya Mandala Surabaya

\*\* Fateta, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga Bogor 16680

\*\*\* Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Bioindustri, BPPT, Jl. MH Thamrin 8 Jakarta 10340



satu cara yang dilakukan untuk mengendalikan komposisi mikroflora usus adalah pemberian konsumsi sel bakteri hidup yang memiliki pengaruh positif dalam usus, yang telah banyak diteliti adalah bakteri asam laktat.

Beberapa spesies bakteri asam laktat merupakan mikroflora normal pada usus manusia yang memiliki fungsi perlindungan yang penting. Beberapa penelitian membuktikan bahwa pemberian bakteri asam laktat meningkatkan populasi bakteri menguntungkan seperti laktobasili dan bifidobakteria diiringi dengan penurunan jumlah bakteri patogen pada saluran pencernaan atau feses manusia maupun hewan percobaan (Hosoda *et al.*, 1996; Alkalin *et al.*, 1997; Liong dan Shah, 2006). Akan tetapi dari penelitian-penelitian tersebut juga terungkap bahwa galur yang diteliti mempunyai derajat penghambatan terhadap bakteri patogen yang beragam dan tidak semua galur yang diteliti berpengaruh nyata terhadap mikroflora feses pada hewan percobaan. Untuk itu perlu dilakukan seleksi untuk mendapatkan galur yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap patogen.

Penelitian untuk mendapatkan galur-galur yang mempunyai pengaruh positif terhadap keseimbangan mikroflora usus masih terus dilakukan karena enzim yang dihasilkan oleh bakteri patogen dalam usus seperti  $\beta$ -glucuronidase, azoreduktase dan nitroreduktase menghasilkan senyawa karsinogenik yang berisiko menyebabkan kanker kolon (Goldin dan Gorbach 1984; Moore dan Moore 1995, de-Kok dan Van-Maanen 2000). Konsumsi probiotik yang mengandung bakteri asam laktat terbukti mencegah terjadinya kanker pada hewan percobaan (Wollowski *et al.*, 1999; Brady *et al.*, 2000). Selain itu konsumsi probiotik juga telah diteliti mampu melindungi usus dari infeksi oleh bakteri (Resta-Lenert dan Barrett, 2003, Coconnier-Polter *et al.*, 2005, Sherman *et al.*, 2005) serta mampu mencegah atau menyembuhkan berbagai kelainan usus seperti penyakit diare yang diinduksi oleh antibiotik, diare karena infeksi virus dan bakteri, mencegah iritasi usus atau kolik, *lactose intolerance* dan *inflammatory bowel diseases* (Rolfe, 2000, Saavedra *et al.*, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk meneliti potensi galur lokal laktobasili dari genus laktobasili yang berasal dari makanan fermentasi tradisional Indonesia sebagai galur probiotik yang memiliki pengaruh positif dalam mempertahankan

kan keseimbangan mikroflora feses melalui pengujian-pengujian aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen secara in-vitro dan pengaruh susu yang difermentasi oleh galur tersebut terhadap komposisi mikroflora yang meliputi jumlah laktobasili, koliform dan stafilokokus pada feses tikus.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat-alat yang digunakan adalah *vortex* (Griffin dan George Ltd. Britain), inkubator anaerobic-system-jar dengan Gas Generating Kits OX, sentrifus, alat-alat gelas.

### Bahan

Bakteri asam laktat yang digunakan berasal dari makanan fermentasi tradisional Indonesia (Tabel 1). Tikus percobaan yang digunakan *Sprague Dawley* jantan berumur 5 minggu yang diperoleh dari Pusat Pemeriksaan Obat dan Makanan, Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan, Jakarta.

### Tahapan Penelitian

**Kultur Bakteri Asam Laktat.** Kultur bakteri asam laktat yang digunakan dalam bentuk sel kering beku. Suspensi bakteri dipersiapkan dengan melakukan rehidrasi sel kering beku dalam media deMan Rogosa Sharpe Broth (MRSB) (Oxoid) yang selanjutnya diinkubasi secara aerobik pada suhu 37C selama 24 jam. Bakteri disubkultur dalam MRSB 2 kali sebelum digunakan dalam pengujian.

### Uji Antagonistik terhadap Patogen.

Pengujian antagonistik BAL terhadap bakteri patogen dilakukan dengan metode difusi sumur. pada prinsipnya sesuai dengan yang dilakukan dalam penelitian Schillinger dan Lücke (1989). Bakteri patogen yang digunakan adalah *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam bentuk kultur cair dengan konsentrasi  $10^7$ CFU/ml dalam media Nutrient Broth (NB) (Oxoid). Pengujian dilakukan pada media Nutrient Agar (NA) (Difco) dan suspensi bakteri asam laktat bebas sel dimasukkan sebanyak 40 l ke dalam setiap lubang sumur. Suspensi bakteri bebas sel diperoleh dengan melakukan sentrifugasi pada kultur bakteri asam laktat yang telah ditumbuhkan selama 24 jam di dalam MRSB dan selanjutnya memisahkan sel yang mengendap. Aktivitas antimikroba diamati dengan mengukur diameter area bening yang



Tabel 1. Galur Bakteri Asam Laktat Asal Makanan Fermentasi yang Diuji

Spesies atau galur	Jenis makanan fermentasi	Asal isolat
<i>L. plantarum</i> pi28a	Acar ketimun	Lab. Mikrobiologi Pangan, TPG, IPB Bogor
<i>L. plantarum</i> sa28k	Asinan kubis	Lab. Mikrobiologi Pangan, TPG, IPB Bogor
<i>L. plantarum</i> kik	Kecap ikan	Lab. Mikrobiologi Pangan, TPG, IPB Bogor
<i>L. plantarum pentosus</i> FNCC213	Tempoyak	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. plantarum</i> FNCC332	Growol	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. plantarum pentosus</i> FNCC235	Gatot	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. plantarum pentosus</i> FNCC211	Moromi kecap	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. plantarum pentosus</i> FNCC334	Bekasam	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. plantarum</i> FNCC107	Acar rebung	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. plantarum</i> To22	Tempoyak	Lab. Mikrobiologi Pangan, TPG, IPB Bogor
<i>L. casei</i> To25	Tempoyak	Lab. Mikrobiologi Pangan, TPG, IPB Bogor
<i>L. casei</i> ssp. <i>casei</i> FNCC262	Tape ketan	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. casei</i> ssp. <i>casei</i> FNCC343	Bekasam	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. casei</i> ssp. <i>rhamnosus</i> FNCC099	Growol	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. delbrueckii</i> FNCC259	Gatot	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. acidophilus</i> FNCC116	Moromi kecap	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. sake</i> FNCC335	Pakasam	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta
<i>L. coryneformis</i> FNCC281	Asinan sawi	FNCC, PAU, UGM Yogyakarta

terdapat disekeliling sumur serta dinyatakan sebagai diameter penghambatan. Galur yang menunjukkan aktivitas antimikroba terbesar pada ketiga bakteri patogen hasil dari pengujian ini digunakan dalam pengujian untuk mengetahui pengaruh konsumsi bakteri asam laktat terhadap mikroflora feses tikus.

#### Pembuatan Susu fermentasi.

Galur terpilih yaitu *L. acidophilus* FNCC116, *L. plantarum* sa28k dan *L. casei* FNCC343 digunakan untuk membuat susu fermentasi. Susu fermentasi dibuat dari larutan susu skim (Difco) dengan konsentrasi 10% (b/v) yang disterilisasi pada suhu 100°C selama 30 menit. Larutan susu skim steril tersebut diinokulasi menggunakan kultur cair galur bakteri asam laktat yang terpilih (dalam bentuk kultur cair dalam media MRSB-Oxoid) sebanyak 1% (v/v) selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C sehingga menghasilkan susu fermentasi.

#### Pemberian Minum dan Pakan Tikus.

Susu fermentasi diberikan sebagai minuman tikus dengan penggantian setiap 12 jam, selama

30 hari. Untuk kontrol, tikus diberi minum berupa larutan susu skim (10%) steril. Masing-masing perlakuan digunakan enam ekor tikus. Selama perlakuan, tikus diberi pakan dengan komposisi: kasein (sumber protein) 20%, mentega (sumber lemak) 10%, selulosa (sumber serat) 1%, campuran mineral 3%, tablet Bekamin 1%, air 5% dan pati jagung (sumber karbohidrat) 60%.

#### Pengujian Mikroflora pada Feses Tikus.

Sampel feses tikus dikumpulkan pada tabung uji steril pada hari ke-0, 15, 30 selama diberi perlakuan (diberi susu yang difermentasi bakteri asam laktat *L. acidophilus* FNCC116, *L. plantarum* sa28a, *L. casei* FNCC343). Pada pengujian hari ke-0 (sebelum diberi minum susu fermentasi), sampel feses diambil secara acak dari enam ekor tikus untuk mewakili semua tikus yang digunakan untuk pengujian dan hasil pengujian dirata-rata sehingga menghasilkan satu data. Sedangkan untuk pengujian hari ke-15 dan ke-30 feses dari dua ekor tikus dalam perlakuan yang sama ditampung dalam satu wadah steril dan dianggap sebagai satu sampel, sehingga dalam



Tabel 2. Penghambatan Bakteri Asam Laktat terhadap Bakteri Patogen

Galur Bakteri Asam Laktat yang diuji	Diameter penghambatan (mm) terhadap patogen:		
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>L. plantarum</i> pi 28a	9,7 <sup>d</sup>	10,8 <sup>d</sup>	8,3 <sup>defg</sup>
<i>L. plantarum</i> sa 28k	11,1 <sup>f</sup>	13,1 <sup>ef</sup>	9,0 <sup>g</sup>
<i>L. plantarum</i> kik	9,6 <sup>d</sup>	11,9 <sup>de</sup>	8,3 <sup>efg</sup>
<i>L. plantarum</i> FNCC213	9,2 <sup>d</sup>	3,7 <sup>ab</sup>	5,6 <sup>abcde</sup>
<i>L. plantarum</i> FNCC332	6,0 <sup>a</sup>	3,3 <sup>a</sup>	5,2 <sup>abc</sup>
<i>L. plantarum</i> FNCC235	7,1 <sup>b</sup>	5,1 <sup>abc</sup>	5,4 <sup>abcd</sup>
<i>L. plantarum</i> FNCC211	7,1 <sup>b</sup>	5,7 <sup>c</sup>	5,5 <sup>abcde</sup>
<i>L. plantarum</i> FNCC334	5,3 <sup>a</sup>	3,8 <sup>abc</sup>	4,9 <sup>ab</sup>
<i>L. plantarum</i> FNCC107	8,5 <sup>c</sup>	4,6 <sup>abc</sup>	5,9 <sup>abcdef</sup>
<i>L. plantarum</i> To22	10,7 <sup>ef</sup>	12,1 <sup>def</sup>	8,7 <sup>fg</sup>
<i>L. casei</i> To25	11,3 <sup>f</sup>	13,7 <sup>ef</sup>	7,4 <sup>bcdefg</sup>
<i>L. casei</i> FNCC262	10,1 <sup>e</sup>	11,8 <sup>de</sup>	7,9 <sup>cdefg</sup>
<i>L. casei</i> FNCC343	10,7 <sup>ef</sup>	14,0 <sup>fg</sup>	9,2 <sup>g</sup>
<i>L. rhamnosus</i> FNCC099	6,0 <sup>a</sup>	5,3 <sup>bc</sup>	5,3 <sup>abc</sup>
<i>L. delbrueckii</i> FNCC259	11,3 <sup>f</sup>	13,3 <sup>ef</sup>	7,7 <sup>cdefg</sup>
<i>L. acidophilus</i> FNCC116	12,6 <sup>g</sup>	15,8 <sup>g</sup>	9,0 <sup>g</sup>
<i>L. sake</i> FNCC335	5,9 <sup>a</sup>	3,9 <sup>abc</sup>	3,4 <sup>a</sup>
<i>L. coryneformis</i> FNCC281	10,4 <sup>e</sup>	12,2 <sup>def</sup>	8,1 <sup>cdefg</sup>

Keterangan : - Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan.

- Data yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT ( $P > 0,05$ ).

satu perlakuan (enam ekor tikus) diperoleh tiga sampel (tiga ulangan). Pengujian mikroflora sampel feses pada prinsipnya sesuai dengan prosedur yang dilakukan dalam penelitian Alkalin *et al*, 1997. Sampel setelah ditampung dalam wadah steril segera dihomogenisasi dalam bufer fosfat steril dengan Vortex (Griffin dan George Ltd. Britain) selama 4 menit. Untuk penghitungan jumlah bakteri asam laktat digunakan media selektif Lactobacilli MRS agar (Difco) dan inkubasi dilakukan secara anaerobik (*anaerobic-system-jar* dengan *Gas Generating Kits OXOID*) pada suhu 37°C selama 48 jam. Penghitungan total bakteri koliform dilakukan pada media Violet Red Bile Agar (VRBA) (Oxoid) inkubasi dilakukan secara aerobik pada suhu 37°C selama 24 jam. Penghitungan stafilocoki dilakukan pada media Vogell Johnson Agar (VJA) (Oxoid), dengan inkubasi secara aerobik pada suhu 37°C selama 48 jam.

#### Analisis data

Penelitian menggunakan percobaan faktorial dengan rancangan dasar Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari satu faktor. Faktor yang diteliti pada uji antagonistik terhadap patogen adalah jenis bakteri asam laktat yang terdiri dari 18 galur, masing-masing diulang sebanyak 3 kali. Sedangkan untuk pengujian mikroflora feses tikus perlakuan yang diteliti adalah

jenis susu yang difermentasi oleh 3 (tiga) galur bakteri asam laktat yang berbeda ditambah dengan susu yang tidak difermentasi sebagai kontrol sehingga terdapat 4 perlakuan, masing-masing diulang sebanyak 3 (tiga) kali. Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji ANOVA (*Analysis of Varians*) pada  $\alpha = 5\%$  untuk melihat adanya perbedaan yang nyata dari perlakuan yang diuji. Jika terdapat perbedaan yang nyata selanjutnya dilakukan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan  $\alpha = 5\%$  untuk melihat perbedaan tersebut pada masing-masing perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas Antagonistik Bakteri Asam Laktat terhadap Bakteri Patogen

Pada penelitian ini digunakan tiga spesies bakteri patogen yang diuji untuk mengetahui aktivitas antimikroba dari BAL, yaitu *B. cereus*, *S. aureus* dan *E. coli* yang berturut-turut mewakili bakteri Gram positif pembentuk spora, Gram positif tidak membentuk spora dan bakteri Gram negatif. Hasil aktivitas antagonistik dinyatakan dalam diameter penghambatan (Tabel 2). Semua galur yang diuji memperlihatkan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen dengan derajat penghambatan yang berbeda secara nyata



**Tabel 3.** Pengaruh Pemberian Susu Yang Difermentasi Bakteri Asam Laktat terhadap Mikroflora Feses Tikus

Perlakuan Pemberian Minuman :	Bakteri yang diuji	Log jumlah koloni/g feses basah Pada pengamatan hari ke-		
		0	15	30
Kontrol (Diberi minuman susu skim steril)	Laktobasili		9,8 <sup>a</sup>	9,7 <sup>a</sup>
<u>Susu yang difermentasi oleh:</u>				
<i>L. acidophilus</i> FNCC116		9,6	10,7 <sup>b</sup>	11,0 <sup>c</sup>
<i>L. plantarum</i> sa28a			10,5 <sup>b</sup>	10,9 <sup>c</sup>
<i>L. casei</i> FNCC343			10,4 <sup>b</sup>	10,4 <sup>b</sup>
Kontrol (Diberi minuman susu skim steril)	Koliform		8,5 <sup>b</sup>	8,0 <sup>c</sup>
<u>Susu yang difermentasi oleh:</u>				
<i>L. acidophilus</i> FNCC116		8,6	8,2 <sup>b</sup>	6,9 <sup>a</sup>
<i>L. plantarum</i> sa28a			8,2 <sup>b</sup>	7,2 <sup>b</sup>
<i>L. casei</i> FNCC343			7,7 <sup>a</sup>	7,0 <sup>ab</sup>
Kontrol (Diberi minuman susu skim steril)	Stafilokoki		5,7 <sup>a</sup>	5,8 <sup>b</sup>
<u>Susu yang difermentasi oleh:</u>				
<i>L. acidophilus</i> FNCC116		5,8	5,2 <sup>a</sup>	4,1 <sup>a</sup>
<i>L. plantarum</i> sa28a			5,1 <sup>a</sup>	4,6 <sup>a</sup>
<i>L. casei</i> FNCC343			5,0 <sup>a</sup>	4,6 <sup>a</sup>

Keterangan : - Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan.

- Data yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT ( $P > 0,05$ ).

( $p > 0,05$ ). Secara umum penghambatan terhadap bakteri Gram positif lebih besar dibandingkan Gram negatif. Kisaran diameter penghambatan terhadap *B. cereus*, *S. aureus* dan *E. coli* berturut-turut adalah 5,3-12,5 ; 3,2-15,7 dan 3,4-9,2 mm.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa perbedaan derajat penghambatan terhadap bakteri patogen yang diuji tidak tergantung dari spesies bakteri asam laktat melainkan tergantung dari masing-masing galur atau bersifat *strain dependent*. Ada beberapa senyawa yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang bersifat antimikroba di antaranya adalah asam organik, hidrogen peroksida dan senyawa protein atau kompleks protein spesifik yang disebut bakteriosin (Salminen dan von-Wright, 1993). Dalam penelitian ini tidak diidentifikasi jenis senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh BAL, akan tetapi beberapa penelitian telah membuktikan bahwa laktobasili menghasilkan beberapa senyawa yang menghambat pertumbuhan mikroba.

Asam laktat dan asetat adalah asam organik yang memiliki aktivitas antimikroba yang dihasilkan bakteri asam laktat. Spesies laktobasili juga menghasilkan hidrogen peroksida yang cukup besar yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroba. Akumulasi senyawa tersebut di dalam sel terjadi karena laktobasili

tidak menghasilkan enzim katalase. Beberapa spesies laktobasili juga diketahui menghasilkan bakteriosin misalnya, *L. acidophilus* menghasilkan lactacin (Muriana dan Klaenhammer 1991), *L. plantarum* menghasilkan plantaricin (Franz *et al.*, 1998). Aktivitas antibakteri dari bakteriosin memiliki spektrum penghambatan yang beragam, mulai dari yang sempit sampai yang luas, yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri baik dari Gram positif, Gram negatif maupun bakteri yang berspora.

#### Pengaruh Susu Fermentasi Terhadap Mikroflora Feses Tikus

Galur bakteri asam laktat yang menunjukkan aktivitas penghambatan yang besar terhadap bakteri patogen yaitu *L. plantarum* sa 28k, *L. casei* FNCC343 dan *L. acidophilus* FNCC116, digunakan untuk memfermentasi susu dan susu fermentasi yang dihasilkan diuji pengaruhnya terhadap komposisi mikroflora feses tikus.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan peningkatan jumlah laktobasili yang diiringi dengan penurunan bakteri koliform dan stafilokoki ( $P > 0,05$ ) pada feses tikus akibat pemberian susu yang difermentasi oleh ketiga galur BAL (Tabel 3) dalam feses tikus. Peningkatan laktobasili sudah terjadi setelah pemberian susu



fermentasi hari ke-15 dan semakin nyata pada hari ke-30, sedangkan penurunan koliform dan stafilkoki terlihat terutama pada pengamatan hari ke-30. Hasil ini menunjukkan bahwa galur bakteri asam laktat yang diuji mampu bertahan dan tumbuh pada saluran pencernaan serta menekan bakteri patogen. Kemampuan bakteri asam laktat menekan pertumbuhan patogen disebabkan karena senyawa antimikroba yang diproduksi (seperti asam laktat, peroksida, dan bakteriosin), kompetisi sisi penempelan, peningkatan produksi lendir/mukus usus dan kompetisi untuk mendapatkan nutrisi (Salminen dan von-Wright 1993).

Hasil penelitian ini seiring dengan beberapa hasil penelitian lain yang juga menunjukkan bahwa pemberian bakteri asam laktat dari genus laktobasili meningkatkan populasi bakteri menguntungkan seperti laktobasili dan bifidobakteria serta menyebabkan penurunan jumlah bakteri patogen pada saluran pencernaan atau feses manusia maupun hewan percobaan (Johansson *et al.*, 1993, Hosoda *et al.*, 1996; Alkalin *et al.*, 1997, de-Champs *et al.*, 2003). Beberapa dari penelitian tersebut juga membuktikan bahwa galur bakteri asam laktat yang diteliti juga terbukti mampu menempel serta bertahan pada mukosa kolon dan bahkan berkembang biak dengan laju yang cukup tinggi, sehingga masih ditemukan dalam feses beberapa hari setelah pemberian bakteri probiotik dihentikan (Johansson *et al.*, 1993, Alander *et al.*, 1999, de-Champs *et al.*, 2003). Kemampuan untuk menempel pada usus tersebut menyebabkan sel bakteri asam laktat tidak mudah terusir keluar (mengalami *flush out*) dari usus sehingga memberikan kompetisi sisi penempelan bagi bakteri patogen. Beberapa bakteri probiotik dari spesies *L. plantarum* dan *L. rhamnosus* juga diketahui mencegah penempelan bakteri patogen enteropatogenik *E. coli* dengan cara menginduksi ekspresi gen penyandi musin pada usus (Mack *et al.*, 1999; Madsen *et al.* 2001).

## KESIMPULAN

Delapan belas galur bakteri asam laktat genus laktobasili asal makanan fermentasi tradisional Indonesia memiliki aktivitas menghambat bakteri patogen yaitu *B. cereus*, *S. aureus* dan *E. coli* dengan derajat penghambatan yang bervariasi tergantung dari galur (*strain dependent*). Kisaran diameter penghambatan untuk *B. cereus*, *S. aureus* dan *E. coli* berturut-turut adalah 5,33-12,55; 3,28-

15,78 dan 3,43-9,23 mm. Pemberian susu yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* sa28k, *L. acidophilus* FNCC116 dan *L. casei* FNCC343 mampu meningkatkan jumlah laktobasili dan menekan jumlah bakteri koliform dan *Staphylococcus* dalam feses tikus. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa galur bakteri asam laktat dari genus laktobasili yang diisolasi dari makanan fermentasi tradisional Indonesia dapat dikembangkan sebagai galur probiotik yang mampu mempertahankan keseimbangan mikroflora normal usus.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alander M, Satokari R, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T, von-Wright A, 1999, Persistence of Colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption, **Applied and Environmental Microbiology**, **65**(1),351-354
- Alkalin AS, Gonc S, Duzel S, 1997, Influence of yogurt and *Acidophilus* yogurt on serum cholesterol level in mice, **Journal of Dairy Science**, **80**, 2721-2725
- Brady LJ, Gallaher DD, Busta FF, 2000, The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer, **Journal of Nutrition**, **130**, 410S-414S
- Coconnier-Polter M-H, Liévin-Le Moal V, Servin AL, 2005, A *Lactobacillus acidophilus* strain of human gastrointestinal microbiota origin elicits killing of enterovirulent *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* by triggering lethal bacterial membrane damage, **Applied and Environmental Microbiology**, **71**(10),6115-6120
- de-Champs C, Maroncle N, Balestrino D, Rich C, Forestier C, 2003, Persistence of colonization of intestinal mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus* Lcr35, after oral consumption, **Journal Clinical Microbiology**, **41**(3),1270-1273
- de-Kok TCM dan van-Maanen JMS, 2000, Evaluation of fecal mutagenicity and colorectal cancer risk (Review), **Mutation Research**, **463**:53-101
- Djouzi Z, Andrieux C, Degivry MC, Bouley C, Szylyt O, 1997, The association of yogurt



- starters with *L. casei* DN114.001 in fermented milk alters the composition and metabolism of intestinal microflora in germ-free rats and in human flora-associated rats, **Journal of Nutrition**, **127**, 2260-2266
- Fuller R, 1989, Probiotics in man and animals, **Journal of Applied Bacteriology**, **66**, 365-378.
- Franz CMAP, Toit MD, Olasupo NA, Schillinger, Hozapfel WH, 1998, Plantaricin D a bacteriocin produced by *L. plantarum* BFE 905 from ready-to-eat salad, **Letter of Applied Microbiology**, **26**, 231-235
- Goldin BR dan Gorbach SL, 1984, The effect of milk and lactobacillus feeding on human intestinal bacterial enzyme activity, **American Journal of Clinical Nutrition**, **39**, 756-761
- Hosoda M, Hashimoto H, He F, Morita H, Hosono A, 1996, Effect of administration of milk fermented with *L. acidophilus* LA-2 on fecal mutagenicity and microflora in the human intestine, **Journal of Dairy Science**, **79**, 745-749
- Johansson M-L, Molin G, Jeppsson B, Nobaek S, Ahme S, Bengmark S, 1993, Administration of *Lactobacillus* strains in fermented oatmeal soup: in vivo colonization of human intestinal mucosa and effect on the indigenous flora, **Applied and Environmental Microbiology**, **59**, 15-20
- Liong MT dan Shah NP, 2006, Effects of *Lactobacillus casei* symbiotic on serum lipoprotein, intestinal microflora and organic acids in rats, **Journal of Dairy Science**, **89**, 1390-1399
- Mack DR, Michail S, Wei S, 1999, Probiotic inhibit enteropathogenic *Escherichia coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression, **American Journal of Physiological Gastrointestinal and Liver Physiology**, **276**, G941-950
- Madsen K, Cornish A, Soper P, 2001, Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function, **Gastroenterology**, **121**, 580-591
- Moore WEC and Moore LH, 1995, Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer, **Applied and Environmental Microbiology**, **61**, 3202-3207
- Muriana PM, Klaenhammer TR, 1991, Purification and partial characterization of lactacin F, a bacteriocin produced by *L. acidophilus* 11088, **Applied and Environmental Microbiology**, **57**, 114-121
- Resta-Lennert S dan KE Barrett, 2003, Live Probiotics protect intestinal epithelial cells from the effects of infection with enteroinvasive *Escherichia coli*, **Gut**, **52**:988-997
- Rolfé, RD, 2000, The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health, **Journal of Nutrition**, **130**, 396S-402S
- Saavedra JM, Abi-Hanna A, Moore N, Yolken RH, 2004, Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety, **American Journal of Clinical Nutrition**, **79**, 261-267
- Salminen S dan von-Wright A, 1993, *Lactic Acid Bacteria*. New York: Marcel Dekker
- Salminen S, Ouwehand A, Benno Y, Lee YK, 1999, Probiotics: how should they be defined?, **Trends in Food Science and Technology**, **10**, 107-110
- Schillinger U dan Lücke FK, 1989, Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. **Applied and Environmental Microbiology**, **55**, 1901-1906
- Sherman PM, Johnson-Henry KC, Yeung HP, Ngo PSC, Goulet J, Tompkins TA, 2005, probiotics reduce enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7- and enteropathogenic *Escherichia coli* O127:H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements, **Infection and Immunity**, **73**(8), 5183-5188
- Wollowski I, Ji ST, Bakalinsky AT, Neudecker C, Pool-Zobel BL, 1999, Bacteria used for the production of yogurt inactivate carcinogens and prevent DNA damage in the colon of rats, **Journal of Nutrition**, **129**, 77-82