



USULAN PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

KARAKTERISTIK KETAHANAN BAKTERI ASAM LAKTAT *INDIGENOUS* KEFIR SEBAGAI KANDIDAT BAKTERI PROBIOTIK PADA KONDISI SALURAN PENCERNAAN *in vitro*

**Bidang Kegiatan:
PKM AI**

Diusulkan Oleh:

M. Sarwar Khan	D14070281	Angkatan 2007
Aip Wiyana	D14062017	Angkatan 2006

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2011**

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

**LEMBAR PENGESAHAN**

1. Judul Kegiatan : Karakteristik Ketahanan Bakteri Asam Laktat Indigenous Kefir sebagai Kandidat Bakteri Probiotik pada Kondisi Saluran Pencernaan in vitro
2. Bidang Kegiatan : () PKM-AI () PKM-GT
3. Ketua Pelaksana Kegiatan

4. Anggota Pelaksana Kegiatan/Penulis : 2 orang
5. Dosen Pendamping

Bogor, 4 Maret 2011

Menyetujui
Ketua Departemen
Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan

Ketua Pelaksana Kegiatan

(Prof.Dr.Ir.Cece Sumantri, M.Agr.Sc.)
NIP. 19591212198603 1 004

(M. Sarwar Khan)
NIM. D14070281

Wakil Rektor Bidang Akademik dan
Kemahasiswaan

Dosen Pendamping

(Prof. Dr. Ir. H. Yonny Koesmaryono,MS) (Dr. Ir. Rarah R.A.Maheswari, DEA)
NIP. 19581228 198503 1 003 NIP. 19620504 198703 2

KARAKTERISTIK KETAHANAN BAKTERI ASAM LAKTAT INDIGENOUS KEFIR SEBAGAI KANDIDAT BAKTERI PROBIOTIK PADA KONDISI SALURAN PENCERNAAN SECARA *in vitro*

Khan. M. S¹⁾, A. Wiyana²⁾

1) Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, FAPET IPB, D14070281

2) Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, FAPET IPB, D14062017

ABSTRACT

Functional food is defined as food that contain Probiotic bacteria. It because the potential on it to intestin physiological by microflora intestine modifying. The objectives of this these research was were to assess the resistance characteristics of kefir indigenoum Lactic Acid Bacteria (LAB) (LABs from kefir, Bifidobacterium longum RRM-01 and Lactobacillus acidophilus RRM-01) as probiotic bacteria through its ability to grow in gastrointestinal conditions such as pH conditions (pH 2, 2.5, 3.2 and 7.2) then the presence of bile salts in the small intestine, its resistance to antibiotics (amoxicillin and kloramphenikol) and its antimicrobial agen to inhibit the pathogenic bacteria growth (Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922 and Salmonella typhimurium ATCC 14028). The results of Gram staining and catalase assay showed that the three kefir indigenoum LABs were still pure. They had good resistance in gastrointestinal conditions observed. This research showed that the population of all kefir indigenoum LABs observed were not decrease. They were more resistant to kloramphenikol antibiotics than amoxicillin antibiotics. The antagonistic test of kefir indigenoum LABs to pathogen bacteria showed that the three kefir indigenoum LABs had a variety inhibition. The statistical analisis showed that different types of LABs did not affect the inhibition zone against E. coli but they really influenced the inhibition zone of S. aureus and S. typhimurium. Therefore, it can be concluded that the all three kefir indigenoum LABs had potential characteristics as probiotic bacteria.

Keywords: kefir, Lactic Acid Bacteria, probiotic bacteria, gastrointestinal condition

ABSTRAK

Makanan yang mengandung probiotik tergolong kedalam pangan fungsional karena berpotensi meningkatkan fungsi fisiologis usus dengan memodifikasi mikroflora usus. Probiotik dapat diseleksi dari Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terkandung dalam biji kefir. Bifidobacterium longum dan Lactobacillus acidophilus sering ditambahkan ke produk kefir sebagai mixes culture, sehingga khasiat kefir menjadi jauh lebih bermanfaat.

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan karakteristik ketahanan BAL indigenoum kefir dan asal produk olahan susu sapi Bifidobacterium longum Y-01 dan Lactobacillus acidophilus Y-01 pada kondisi saluran pencernaan, meliputi resistensi atau ketahanan terhadap kondisi pH yang berbeda, garam empedu dan

antibiotik yang berbeda serta mengetahui kemampuan antagonistik BAL terhadap bakteri patogen.

Penelitian dilakukan melalui beberapa pengujian yakni pada kondisi pH yang berbeda, garam empedu, antibiotik yang berbeda, serta aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen. Data dianalisis dengan uji *t* untuk menentukan ketahanan bakteri terhadap kondisi pH yang berbeda, garam empedu, dan antibiotik berbeda serta Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk menentukan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa bakteri asam laktat indigenous kefir dapat bertahan hidup dalam kondisi saluran pencernaan secara *in vitro* yaitu media dengan (a) pH yang berbeda, (b) garam empedu dan (c) antibiotik yang berbeda. Hasil uji antagonistik terhadap bakteri patogen menunjukkan bahwa BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 Hasil pengujian *in vitro* pada kondisi saluran pencernaan manusia dan uji antagonistik mendapatkan bahwa BAL indigenous kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 yang diisolasi dari olahan susu sapi, ketiganya berpotensi dikembangkan sebagai bakteri probiotik. Kata-kata kunci: kefir, bakteri asam laktat, probiotik, saluran pencernaan

PENDAHULUAN

Kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan saat ini semakin meningkat, sehingga menimbulkan implikasi yang luas dalam memilih bahan makanan untuk kelangsungan hidup. Hal tersebut mendorong berkembangnya riset-riset mengenai makanan dan minuman yang mempunyai efek menyehatkan, termasuk kefir yang diduga mengandung bakteri probiotik. Bioproduk atau makanan yang mengandung probiotik tergolong kedalam pangan fungsional karena selain mengenyangkan, berpotensi pula meningkatkan fungsi fisiologis usus dengan memodifikasi mikroflora usus.

Jenis BAL yang terkandung pada biji kefir cukup beragam, namun semuanya hidup bersama dan saling mempengaruhi. *Bifidobacterium longum* Y-01 dan *Lactobacillus acidophilus* Y-01 merupakan kultur yang telah diisolasi dari produk olahan susu sapi dan telah dikembangkan untuk pembuatan biokefir secara terkontrol dengan penambahan biji kefir. Pembuktian terhadap potensi kultur tersebut sebagai probiotik perlu dilakukan untuk mendukung ketersediaan produk pangan fungsional yang menguntungkan bagi kesehatan manusia.

TUJUAN

Tujuan dari penelitian ini yakni mempelajari karakterisasi potensi BAL pada kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 terseleksi sebagai kandidat bakteri probiotik melalui resistensi/ketahanan terhadap kondisi saluran pencernaan manusia, khususnya pada kondisi pH yang berbeda (pH 2; 2,5; 3,2 dan 7,2), garam empedu dan antibiotik serta mengetahui kemampuan BAL dalam memproduksi antimikroba dan kemampuan daya hambatnya terhadap bakteri patogen (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028).

METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Bagian Teknologi Hasil Ternak, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Penelitian berlangsung pada bulan Maret - September 2010.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa kultur starter Bakteri Asam Laktat (BAL) yang berasal dari Kefir dan bakteri hasil isolasi dari produk olahan susu sapi yaitu *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01. Bakteri patogen yang digunakan adalah *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, dan *S. Typhimurium* ATCC 14028. Bahan-bahan lain yang dipergunakan adalah media tumbuh bakteri dan bahan kimia diantaranya meliputi susu skim, *deMan's Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), *deMan's Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), *Buffer Pepton Water* (BPW), *Phosphate Buffered Saline* (PBS), *Eosin Methilen Blue Agar* (EMBA), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), HCl, NaOH, NaCl, *bile salt*, antibiotik (amoksisilin dan kloramfenikol), alkohol 70%, kristal violet, iodine, safranin, minyak imersi, aquadestilata, *aluminium foil* dan kapas.

Peralatan yang digunakan meliputi ruang steril, tabung reaksi, cawan petri, pipet, botol *Scott*, labu *Erlenmeyer*, inkubator, *autoclave*, *spektrofotometer*, penangas air, mikroskop, pH meter, timbangan digital, pemanas Bunsen, jangka sorong, lemari es, jarum *Öse*, *sentrifuse*, oven, gelas ukur, vortex, panci, *cork borer*, jangka sorong, kompor, sendok pengaduk dan *flux laminaire* (ruang steril).

Uji Ketahanan terhadap pH yang Berbeda (1)

Presipitat sel-sel kultur BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 yang sudah distandarisasi dengan populasi awal $\pm 10^7$ cfu/ml dimasukkan ke dalam larutan PBS yang telah dikondisikan pada pH 2,0 dengan bantuan HCl dan NaOH. Kultur bakteri dalam PBS diinkubasi pada suhu 37 °C selama 180 menit. Penghitungan populasi awal sebelum (t_0) dan sesudah diinkubasi selama 180 menit (t_{180}) dihitung dengan metode hitungan cawan. Uji ketahanan kultur BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 terhadap pH yang berbeda ditentukan berdasarkan jumlah kematian bakteri, yaitu bila kultur starter BAL mampu mempertahankan populasinya hingga 50% dinyatakan sebagai probiotik.

Uji Ketahanan terhadap Garam Empedu (2)

Uji ketahanan terhadap garam empedu dilakukan terhadap isolat bakteri BAL kefir, *B. longum* Y-01 atau *L. acidophilus* Y-01 yang dapat tumbuh pada pH 2,0. Pengujian disesuaikan dengan kadar garam empedu pada saluran pencernaan yaitu dengan menggunakan *bile salt* sebanyak 0,3% *oxgall* b/v dalam media PBS dengan pH 7,2. PBS yang telah ditambahkan garam empedu dengan konsentrasi 0,3% pada pH 7,2, kemudian disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Presipitat sel-sel kultur BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 yang sudah distandarisasi dengan populasi awal $\pm 10^7$ cfu/ml diinokulasikan pada media PBS yang telah ditambahkan garam empedu 0,3% steril. Kultur diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Penghitungan populasi awal sebelum (t_0) dan sesudah diinkubasi selama 24 jam (t_{24j}) dihitung dengan metode hitungan cawan.

Bila kultur starter BAL mampu mempertahankan populasinya hingga 50% dinyatakan sebagai probiotik.

Uji Ketahanan terhadap Antibiotik (3)

Uji ketahanan terhadap antibiotik dilakukan terhadap isolat BAL dapat bertahan tumbuh pada pH 2,0 dan adanya garam empedu 0,3%. Bakteri selanjutnya diuji berdasarkan sensitifitasnya terhadap antibiotik. Presipitat distandarisasi dengan populasi awal $\pm 10^7$ cfu/ml, lalu diinokulasikan ke dalam media MRSB yang telah ditambahkan antibiotik (amoksisilin atau kloramphenikol) sebanyak 30 $\mu\text{g/ml}$. Pengukuran populasi awal dihitung dengan metode pemupukan sebelum diinkubasi (t_0). Kultur diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Uji ketahanan kultur BAL kefir, *B. longum* Y-01 atau *L. acidophilus* Y-01 terhadap pH yang berbeda ditentukan berdasarkan jumlah kematian bakteri, yaitu bila kultur starter BAL mampu mempertahankan populasinya hingga 50% dinyatakan sebagai probiotik.

Uji Sifat Antimikroba terhadap Bakteri Patogen (4)

Kultur bakteri segar diambil filtrat bebas sel (FBS) melalui penyaringan steril menggunakan filter 0,22 μm (Millipore). Pengujian aktivitas antimikroba kultur BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 terhadap bakteri patogen dilakukan dengan metode difusi agar sumur. Sebanyak masing-masing 1 ml kultur bakteri patogen yang telah diencerkan dengan populasi 10^5 cfu/ml dipipet ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan media *Muller Hinton Agar* dengan suhu 50°C sebanyak 20 ml/cawan, lalu dihomogenkan dengan cara digerakkan membentuk angka delapan. Media MHA berisi bakteri indikator dibiarkan memadat, kemudian dibuat sumur difusi berdiameter 7 mm dengan alat pelubang atau *cork borer*, lalu bagian bawah sumur dilapisi dengan media *Bacteriological Agar* untuk menghindari filtrat merembes di dasar sumur. Sebanyak 50 μl FBS terkonsentrasi dipipet ke dalam sumur, lalu cawan beserta isi diletakkan dalam refrigerator untuk memberi kesempatan FBS berdifusi ke dalam agar. Cawan selanjutnya diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Diameter penghambatan berupa zona bening di sekeliling sumur diukur dengan jangka sorong pada empat tempat yang berbeda, lalu hasil pengukuran dirata-ratakan. Percobaan dilakukan dengan 2 kali ulangan.

Analisis Data

Data ketahanan BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 terhadap perlakuan pH yang berbeda (2; 2,5; 3,2 dan 7,2), keberadaan garam empedu 0,3% dan antibiotik yang berbeda (amoksisilin dan kloramfenikol) dianalisis dengan uji t. Data populasi BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 dianalisis dengan membandingkan populasi masing-masing BAL sebelum diberi perlakuan (t_0) dan setelah diberi perlakuan (t_x). Rumus yang digunakan dalam Uji t adalah sebagai berikut :

$$t = \frac{\mu_i - \mu_j - d_0}{s\sqrt{\frac{1}{n}} + s\sqrt{\frac{1}{n}}}$$



Keterangan : μ_i = rata-rata perlakuan ke-I; μ_j = rata-rata perlakuan ke-j;
 s = simpangan baku; n = jumlah data

Rancangan Acak Lengkap digunakan untuk menganalisis aktivitas antimikroba BAL terhadap bakteri patogen yang berbeda (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 dan *S. typhimurium* ATCC 14028) dan untuk menganalisis persentase bakteri yang hidup pada kondisi pH yang berbeda, garam empedu dan antibiotik berbeda.

$$Y_{ij} = \mu + \delta_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan : Y_{ij} = Pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j; μ = Rataan Umum; δ_i = Pengaruh perlakuan ke-I; ε_{ij} = Pengaruh galat percobaan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j; i = BAL uji yang berbeda; j = Ulangan 1, 2, dan 3

Data hasil kedua rancangan selanjutnya dianalisis dengan *Analysis of variance* (ANOVA). Apabila pada analisis ragam didapatkan hasil yang berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan uji Tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Pertumbuhan Kultur Starter BAL *Indigenous* Kefir pada pH Berbeda

Kondisi saluran pencernaan erat kaitannya dengan pH yang berbeda. Salah satu faktor yang paling menonjol dalam penentuan pH saluran pencernaan adalah keasaman lambung. Kondisi keasaman lambung berfungsi sebagai pintu gerbang pertama untuk melakukan seleksi mikroba sebelum masuk ke usus. Hasil pengujian ketahanan BAL *Indigenous* Kefir terhadap pH yang berbeda pada saluran pencernaan dapat dilihat pada Tabel 1.

Kondisi pH 2,0 merupakan kondisi keadaan lambung dalam keadaan kosong tanpa adanya makan lain; pH 2,5 merupakan kondisi pH ketika enzim pepsin disekresikan dalam lambung untuk menghidrolisis protein dan pH 3,2 merupakan kondisi ketika asam lambung akan disekresikan ke dalam lambung manusia yang didalamnya terdapat makanan. Hasil pengujian menunjukkan jumlah populasi BAL yang diperoleh pada kondisi pH 2; 2,5 dan 3,2 sebelum inkubasi (P_0) serta setelah inkubasi selama 180 menit (P_{180}) menunjukkan bahwa BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 mampu bertahan pada kondisi lingkungan lambung walaupun pada waktu yang cukup lama dibandingkan normalnya yakni waktu 90 menit. Kondisi pH 7,2 merupakan pH usus halus dan hasil pengujian menunjukkan peningkatan secara nyata setelah inkubasi selama 180 menit sebesar 0,2-0,4 log cfu/ml.

Bakteri asam laktat *indigenous* kefir memiliki ketahanan tumbuh pada kondisi pH yang berbeda disebabkan karena bakteri tersebut mampu mempertahankan pH intraseluler yang lebih tinggi dibandingkan pH ekstraseluler. Toleransi terhadap pH yang berbeda khususnya pada pH rendah pada BAL tergantung pada pH H^+ dan komposisi membran sitoplasma yang dipengaruhi oleh jenis bakteri, media pertumbuhan dan kondisi inkubasi (5).

Tabel 1. Jumlah Populasi BAL pada pH yang Berbeda

No. Lama inkubasi	Populasi BAL (Log cfu/ml)		
	BAL Kefir	<i>B. longum</i> Y-01	<i>L. acidophilus</i> Y-01
-----pH 2,0-----			
1. P ₀ menit	7,21 ± 0,07	7,15 ± 0,29	7,06 ± 0,12
P ₁₈₀ menit	7,30 ± 0,13	7,31 ± 0,33	7,15 ± 0,13
Δ(P ₁₈₀ - P ₀)	0,09 ± 0,10	0,17 ± 0,04	0,09 ± 0,07
-----pH 2,5-----			
2. P ₀ menit	7,32 ± 0,08	7,36 _a ± 0,08	7,25 ± 0,02
P ₁₈₀ menit	7,37 ± 0,02	7,62 _b ± 0,06	7,54 ± 0,12
Δ(P ₁₈₀ - P ₀)	0,04 ± 0,08	0,26 ± 0,10	0,29 ± 0,14
-----pH 3,2-----			
3. P ₀ menit	7,35 ± 0,02	7,50 ± 0,33	7,12 _a ± 0,03
P ₁₈₀ menit	7,47 ± 0,12	7,92 ± 0,29	7,43 _b ± 0,08
Δ(P ₁₈₀ - P ₀)	0,12 ± 0,10	0,42 ± 0,29	0,31 ± 0,10
-----pH 7,2-----			
4. P ₀ menit	7,45 _a ± 0,01	7,01 _a ± 0,17	7,45 _a ± 0,08
P ₁₈₀ menit	7,68 _b ± 0,05	7,45 _b ± 0,15	7,81 _b ± 0,14
Δ(P ₁₈₀ - P ₀)	0,23 ± 0,05	0,44 ± 0,24	0,36 ± 0,13

Keterangan : Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom dan kondisi pH yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Karakteristik Pertumbuhan Kultur Starter BAL *Indigenous* Kefir terhadap Garam Empedu

Untuk dapat bertahan dan tumbuh pada saluran pencernaan, BAL selanjutnya akan memasuki bagian atas saluran usus dimana empedu disekresikan ke dalam usus. Garam empedu mengandung senyawa racun lainnya serta mengandung sejumlah lipid seperti fosfolipid dan kolesterol (6). Hasil pengujian ketahanan BAL *Indigenous* Kefir terhadap garam empedu pada saluran pencernaan dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil pengujian menunjukkan BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 mampu tumbuh pada kondisi lingkungan tanpa adanya garam empedu (kontrol). Pengujian dengan konsentrasi garam empedu 0,3% *oxgal* menunjukkan hanya BAL kefir yang mampu bertahan sedangkan *L. acidophilus* Y-01 dan *B. longum* Y-01 mampu bertahan dengan diikuti pertumbuhan sebanyak 0,24 log cfu/ml dan 0,10 log cfu/ml. *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* secara umum lebih resisten terhadap asam empedu dibandingkan dengan genus *Streptococcus* dan genus lainnya (7). Hal tersebut yang mengindikasikan BAL kefir tidak mampu tumbuh pada konsentrasi garam empedu 3% karena terkandung genus *Streptococcus. sp.* Toleransi terhadap garam empedu tersebut diduga disebabkan oleh peranan polisakarida sebagai salah satu komponen penyusun dinding sel bakteri Gram positif. Selain itu, keragaman struktur asam lemak membran sitoplasma pada tiap bakteri menyebabkan perbedaan permeabilitas dan karakteristiknya, sehingga hal tersebut mungkin yang dapat mempengaruhi perbedaan ketahanan BAL kefir dengan *L. acidophilus* Y-01 dan *B. longum* Y-01 terhadap garam empedu.

Tabel 2. Jumlah Populasi BAL pada Garam Empedu

No	Lama inkubasi	Populasi BAL (Log cfu/ml)		
		BAL Kefir	<i>B. longum</i> Y-01	<i>L. acidophilus</i> Y-01
-----tanpa Garam Empedu (Kontrol)-----				
1.	P ₀ jam	7,45 _a ± 0,01	7,01 _a ± 0,17	7,45 _a ± 0,08
	P ₂₄ jam	7,68 _b ± 0,05	7,45 _b ± 0,15	7,81 _b ± 0,14
	Δ(P ₂₄ - P ₀)	0,23 ± 0,05	0,44 ± 0,24	0,36 ± 0,13
-----dengan Garam empedu-----				
2.	P ₀ jam	6,99 ± 0,18	8,41 _a ± 0,03	7,54 _a ± 0,10
	P ₂₄ jam	7,12 ± 0,18	8,51 _b ± 0,01	7,78 _b ± 0,07
	Δ(P ₂₄ - P ₀)	0,13 ± 0,33	0,10 ± 0,03	0,24 ± 0,14

Keterangan : Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Karakteristik Pertumbuhan Kultur Starter BAL *Indigenous* Kefir terhadap Antibiotik

Ketahanan terhadap antibiotik merupakan kriteria yang sangat penting untuk memilih BAL sebagai probiotik (8). Antibiotik merupakan suatu zat yang mampu membunuh atau melemahkan suatu makhluk hidup, yaitu mikroorganisme (jasad renik) seperti bakteri, parasit, atau jamur. Oleh karena itu, untuk dapat bertahan dan tumbuh pada saluran pencernaan, BAL *indigenous* kefir sebagai kandidat probiotik harus mampu melawan efek senyawa kimia dari antibiotik.

Hasil pada Tabel 3 menunjukkan Keberadaan antibiotik amoksisilin mampu menekan laju pertumbuhan BAL dari galur yang berbeda dengan menghasilkan populasi BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 hanya mampu bertahan tanpa mengalami penurunan ataupun peningkatan populasi secara nyata. Keberadaan kloramfenikol dalam media tumbuh BAL menghasilkan pengaruh daya tahan bakteri yang berbeda, dan didapatkan *B. longum* Y-01 mempunyai karakteristik yang paling resisten. Kultur BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 yang ditumbuhkan dalam media dengan penambahan antibiotik amoksisilin maupun kloramfenikol menunjukkan kemampuannya untuk mampu mempertahankan hidupnya dengan derajat resistensi yang berbeda. Hal tersebut dikarenakan mekanisme antibiotik amoksisilin secara efektif meracuni sel bakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel. Dinding sel bakteri yang terhambat adalah komponen peptidoglikan, yang merupakan komponen dinding sel yang penting dalam menstabilkan sel bakteri (9). Selain itu, antibiotik amoksisilin bersifat bakterisidal, sehingga menyebabkan kultur BAL dari ketiga galur yang berbeda tersebut tidak mengalami peningkatan populasi secara nyata.

Tabel 3. Jumlah Populasi BAL pada Antibiotik

No. Lama inkubasi	Populasi BAL (Log cfu/ml)		
	BAL Kefir	<i>B. longum</i> Y-01	<i>L. acidophilus</i> Y-01
-----Tanpa Perlakuan (Kontrol)-----			
1. P ₀ jam	7,61 _A ± 0,01	7,79 _A ± 0,04	7,83 _A ± 0,03
P ₂₄ jam	8,32 _B ± 0,01	9,89 _B ± 0,02	9,31 _B ± 0,04
Δ(P ₂₄ - P ₀)	0,71 ± 0,02	2,10 ± 0,04	1,48 ± 0,04
-----Amoksisilin-----			
2. P ₀ jam	7,60 ± 0,17	7,65 ± 0,13	7,82 ± 0,79
P ₂₄ jam	7,61 ± 0,05	7,82 ± 0,10	8,20 ± 0,37
Δ(P ₂₄ - P ₀)	0,01 ± 0,12	0,17 ± 0,21	0,38 ± 0,75
-----Kloramfenikol-----			
P ₀ jam	7,56 _a ± 0,03	7,92 _A ± 0,03	7,73 _a ± 0,05
3. P ₂₄ jam	7,68 _b ± 0,01	8,12 _B ± 0,03	8,23 _b ± 0,11
Δ(P ₂₄ - P ₀)	0,12 ± 0,03	0,20 ± 0,05	0,50 ± 0,14

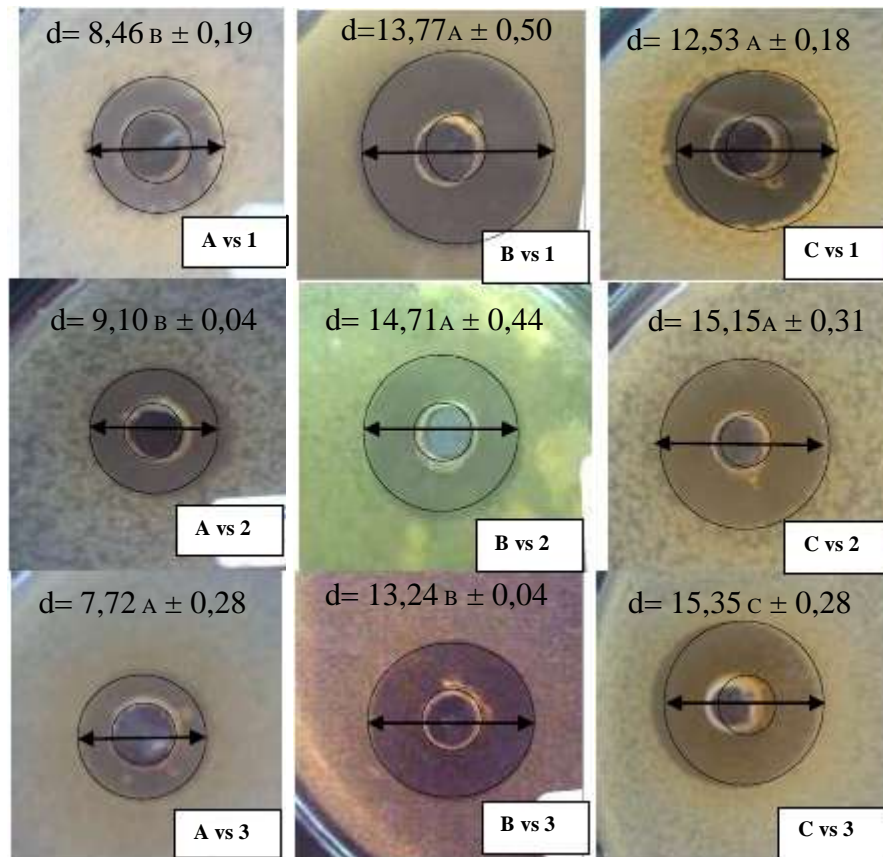
Keterangan : Superskrip huruf kapital yang berbeda pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)
Superskrip huruf kecil yang berbeda pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Aktivitas Antagonistik BAL *Indigenous* Kefir terhadap Bakteri Patogen

Salah satu kriteria yang diinginkan dari BAL yang digunakan sebagai kultur probiotik adalah mampu menggantikan kerja antibiotik sehingga dapat mempertahankan keseimbangan mikrofora dalam usus dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri patogen yang digunakan yakni *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 dan *S. Typhimurium* ATCC 14028. Bakteri patogen tersebut dipilih karena sering ditemukan dalam saluran pencernaan atau lingkungan terkontaminasi. Bakteri patogen tersebut mewakili kelompok bakteri tertentu yaitu *S. aureus* ATCC 25923 mewakili kelompok bakteri Gram positif dan bakteri *E. coli* ATCC 25922 serta *S. Typhimurium* ATCC 14028 mewakili kelompok bakteri Gram negatif. Hasil pengujian BAL *Indigenous* Kefir terhadap bakteri patogendapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil uji antagonistik BAL *indigenous* kefir terhadap bakteri patogen menunjukkan bahwa BAL kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 memiliki penghambatan yang beragam terhadap tiga bakteri patogen. Perbedaan besarnya penghambatan yang didapat disebabkan BAL tersebut menghasilkan asam organik, hidrogen peroksida dan senyawa protein yang dikenal dengan sebutan bakteriosin (10). Selama proses fermentasi BAL dapat menghasilkan asam-asam organik yang merupakan senyawa antimikroba yang dapat melawan flora kompetitornya termasuk bakteri pembusuk dan patogen dalam bahan pangan. Asam organik seperti asam laktat dan asam asetat merupakan hasil metabolise BAL. Sifat antimikroba dari asam organik merupakan akibat dari hasil penurunan nilai pH (11). Nilai pH pada supernatan BAL *indigenous* kefir yakni 4,418; *B. longum* Y-01 adalah 4,058 dan *L. acidophilus* Y-01 sebesar 4,277. Akumulasi senyawa antimikroba ini dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi yaitu rendahnya nilai pH. Bentuk tak terdisosiasi suatu komponen antimikroba akan mengakibatkan proton lebih cepat masuk ke dalam sel. Jika pH diturunkan (asam)

maka proton yang masuk ke dalam sitoplasma sel akan semakin banyak, sehingga semakin banyak energi yang diperlukan untuk mengeluarkan proton. Pengeluaran proton ini dilakukan untuk mencegah terjadinya pengasaman dan denaturasi komponen-komponen sel, sehingga apabila bakteri tidak cukup energi maka akan mengakibatkan kematian. Besarnya perbedaan nilai pH pada masing-masing BAL sejalan dengan perbedaan aktivitas antagonistik bakteri tersebut yang ditunjukkan oleh zona hambat bening yang dihasilkan.



Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

Gambar 1. Total Zona Hambat (A) BAL Kefir, (B) *B. longum* Y-01 dan (C) *L. acidophilus* Y-01 terhadap (1) *S. aureus* ATCC 25923, (2) *E. coli* ATCC 25922 dan (3) *S. Typhimurium* ATCC 14028

Aktivitas antagonistik antimikroba BAL menyebabkan adanya perubahan dinding sel pada bakteri patogen sehingga mengakibatkan lisis atau penghambatan sintesis komponennya. Adanya suatu zat antimikroba yang dihasilkan BAL mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sitoplasma pada bakteri uji sehingga terjadi kebocoran zat nutrisi dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler. Terhambatnya kerja enzim intraseluler akan menyebabkan denaturasi protein sel serta merusak sistem metabolisme dalam sel (12), sehingga yang berakibat pada kematian pada bakteri patogen.

KESIMPULAN

BAL asal kefir dan asal produk olahan susu sapi *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 didapatkan mempunyai ketahanan pada kondisi saluran



pencernaan manusia secara *in vitro* yaitu media dengan pH yang berbeda (pH 2; 2,5; 3,2 dan 7,2), toleransi pada garam empedu dan antibiotik (amoksisilin dan kloramphenikol). Kultur BAL *indigenous* kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 juga memiliki aktifitas antagonistik terhadap bakteri patogen indikator (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 dan *S. Typhimurium* ATCC 14028). Hasil pengujian *in vitro* pada kondisi saluran pencernaan dan uji antagonistik mendapatkan bahwa BAL *indigenous* kefir, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 yang diisolasi dari olahan susu sapi, ketiganya berpotensi dikembangkan sebagai bakteri probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Chou, L. S. & B. Weimer. 1999. Isolation and characterization of acid and bile tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. J. Dairy Sci. 62: 23-31.
- (2) Lin, W. H., C. F. Hwang, L. W. Chen & H. Y. Tsen. 2006. Viable counts, characteristic evaluation for commercial lactic acid bacteria products. J. Food Microbiol. 23: 74-81.
- (3) Liasi, S. A., T. I. Azmi, M. D. Hassan, M. Shuhaimi, M. Rosfarizan & A. B. Ariff. 2009. Antimicrobial activity and isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product Budu. Malay. J. Microbiol. 5(1): 33-37.
- (4) Maheswari, R. R. A. 2008. Karakteristik susu sapi dan susu kambing yang difermentasi dengan kultur starter *indigenous* dan diperkaya dengan probiotik dan prebiotik (sinbiotik) sebagai pangan fungsional. Laporan Pelaksanaan Kegiatan Hibah Komperensi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- (5) Oh, S., S. H. Kim & R. W. Worobo. 2000. Characterization and purification of a bacteriocin produced by a potential probiotic culture, *Lactobacillus acidophilus* 30SC. J. Dairy Sci. 83: 2747-2752.
- (6) Suroño, I. S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. PT. Tri Cipta Karya, Jakarta.
- (7) Sanders, M. E. 2000. Consideration for use of probiotic bacteria to modulate human health. J. Nutr. 130: 384-390.
- (8) Noriega, L., G. Clara . G. N. Reyes & A. Margolles. 2005. Acquisition of bile salt resistance promotes antibiotic susceptibility changes in *Bifidobacterium*. J. Food Protect. 68(9): 1916-1919.
- (9) Scuhnack, W. K. Mayer & M. Haake. 1990. Senyawa Obat. Gadjah Mada University Press., Yogyakarta.
- (10) Salminen, S., A. V. Wright & A. Ouwehand. 2004. Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Funtional Aspects. 3th Ed. Revised and Expanded. Marcel Dekker, Inc., New York.
- (11) Ray, B. 2004. Fundamental Food Microbiology. 3rd Ed. CRC Press, New York.
- (12) Pelczar, M. J. & E. C. S. Chan. 2007. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Universitas Indonesia Press, Jakarta.