

ISBN 978-602-8853-10-1
978-602-8853-11-8


23 APRIL 2011

PROSIDING

SEMINAR HASIL-HASIL PENELITIAN IPB

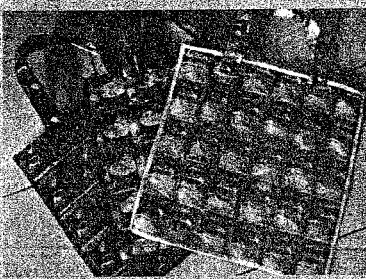
2010

Buku 1

Bidang Pangan dan Energi

Bidang Sumberdaya Alam dan Lingkungan

Bidang Biologi dan Kesehatan





D. Mahr

23 Nov 2011

J.B.b.02.a.3.b.1
J.B.b.03.a.3.b.2

PROSIDING
SEMINAR HASIL-HASIL
PENELITIAN IPB
2010

Buku 1

Bidang Pangan dan Energi
Bidang Sumberdaya Alam dan
Lingkungan
Bidang Biologi dan Kesehatan

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Institut Pertanian Bogor

SUSUNAN TIM PENYUSUN

Pengarah : 1. Prof. Dr. Ir. Bambang Pramudya Noorachmat, M.Eng
(Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat IPB)
2. Prof. Dr. Ir. Ronny Rachman Noor, M.Rur.Sc
(Wakil Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Bidang Penelitian IPB)

Ketua Editor : Dr. Ir. Prastowo, M.Eng

Anggota Editor : 1. Dr. Ir. Sulistiono, M.Sc
2. Prof. Dr. Ir. Bambang Hero Saharjo, M.Agr
3. Prof. Dr. drh. Agik Suprayogi, M.Sc.Agr

Tim Teknis : 1. Drs. Dedi Suryadi
2. Euis Sartika
3. Endang Sugandi
4. Lia Maulianawati
5. Muhamad Tholibin
6. Yanti Suciati

Desain Cover : Muhamad Tholibin

**Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB 2010,
Bogor 13-14 Desember 2010**

**Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Institut Pertanian Bogor**

**ISBN : 978-602-8858-10-1
978-602-8858-11-8
Oktober 2011**

KATA PENGANTAR

Salah satu tugas penting LPPM IPB adalah melaksanakan seminar hasil penelitian dan mendesiminasihasil penelitian tersebut secara berkala dan berkelanjutan. Pada tahun 2010, sekitar 331 judul kegiatan penelitian telah dilaksanakan. Penelitian tersebut dikoordinasikan oleh LPPM IPB dari beberapa sumber dana antara lain Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) IPB, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Dikti), Kementerian Pertanian (Kementerian) dan Kementerian Negara Riset dan Teknologi (KNRT) dimana sebanyak 201 judul penelitian tersebut telah dipresentasikan dalam Seminar Hasil Penelitian IPB yang dilaksanakan pada tanggal 13 – 14 Desember 2010 di Institut Pertanian Bogor.

Hasil penelitian tersebut sebagian telah dipublikasikan pada jurnal dalam dan luar negeri, dan sebagian dipublikasikan pada prosiding dengan nama Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB 2010, yang terbagi menjadi 3 (tiga) buku yaitu :

- Buku I : Bidang Pangan dan Energi
 - Bidang Sumberdaya Alam dan Lingkungan
 - Bidang Biologi dan Kesehatan
- Buku II : Bidang Sosial dan Ekonomi
- Buku III : Bidang Teknologi dan Rekayasa

Melalui hasil penelitian yang telah dipublikasikan ini, maka runutan dan perkembangan penelitian IPB dapat diketahui, sehingga *road map* penelitian IPB dan lembaga mitra penelitian IPB dapat dipetakan dengan baik.

Kami ucapkan terima kasih pada Rektor dan Wakil Rektor IPB yang telah mendukung kegiatan Seminar Hasil-Hasil Penelitian ini, para Reviewer dan panitia yang dengan penuh dedikasi telah bekerja mulai dari persiapan sampai pelaksanaan kegiatan seminar hingga penerbitan prosiding ini terselesaikan dengan baik.

Semoga Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian IPB 2010 ini dapat bermanfaat bagi semua. Atas perhatian dan kerjasama yang baik diucapkan terima kasih.

Bogor, Oktober 2011
Kepala LPPM IPB,

Prof.Dr.Ir. Bambang Pramudya N., M.Eng
NIP 19500301 197603 1 001

DAFTAR ISI

SUSUNAN TIM PENYUSUN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv

DAFTAR JUDUL	Halaman
---------------------	----------------

BIDANG PANGAN DAN ENERGI

Pengembangan Produk Tepung Pisang Kaya Pati Resisten Sebagai Pangan Model Fungsional - <i>Betty Sri Laksmi Jenie, Harsi D. Kusumaningrum, Sri Widowati</i>	1
Aplikasi Marka RM223 Pada Introduksi Aroma Pandan Wangi Ke Varietas Nonaromatik Ciherang - <i>Djarot Sasongko Hami Seno, Tri Joko Santoso, Akhmad Endang Zainal Hasan, Bram Kusbiantoro, Zainal Alim Mas'ud</i>	13
Introduksi Toleransi Genangan Berbantuan Marka <i>Sub1</i> Pada Varietas Ciherang - <i>Djarot Sasongko Hami Seno, Satya Nugroho, Tri Joko Santoso, Zainal Alim Mas'ud</i>	24
Pengembangan Pisang Kepok Unti Sayang Melalui Penerapan Good Agricultural Practices (GAP) - <i>Mohamad Rahmad Suhartanto, Sobir, Heri Harti</i>	34
Ibm Usaha Pengolahan Susu Pasteurisasi dan Bio Yogurt Pt D-Farm Agriprima - <i>Rarah R. A. Maheswari, Zakiah Wulandari</i>	45
Karakteristik Bakteri Asam Laktat Indigenus Dadih Susu Kerbau Sebagai Kandidat Probiotik Pada Kondisi Saluran Pencernaan Secara <i>In Vitro</i> - <i>Rarah R. A. Maheswari</i>	56
Inaktivasi Enzim Lipase Untuk Stabilisasi Bekatul Sebagai Bahan <i>Ingredient</i> Pangan Fungsional - <i>Slamet Budijanto, Azis Boing Sitanggang, Sukarno, Bram Kusbiantoro</i>	73
Teknik Kendali Proses Produksi Minyak Sawit Merah Serta Aplikasinya Pada Beberapa Produk Pangan (<i>Cocoa Butter Equivalent</i> , Minuman Emulsi, Dan Mikroenkapsulat) - <i>Tien R Muchtadi, Nuri Andarwulan, Sugiyono</i>	91

BIDANG SUMBERDAYA ALAM DAN LINGKUNGAN

Fraksinasi Metil Ester Minyak Sawit Menggunakan <i>Fractional Distillation Reactor</i> untuk Menghasilkan Metil Ester Palmitat (C ₁₆) Dominan - <i>Ani Suryani, Siti Mujdalipah, Ari Imam Sutanto, Jaelani</i>	107
Rehabilitasi Lahan Kritis Di Sekitar Tambang Emas Di Gunung Pongkor Melalui Kemitraaan Dengan Masyarakat Di Kecamatan Nanggung Kabupaten Bogor - <i>Asdar Iswati, Dyah Retno Panuju, Enni Dwi Wahjunie, Etty Kusumastuti</i>	117
Kandungan Karbon Pada Berbagai Macam Tipe Vegetasi Di Lahan Gambut Eks Plg Sejuta Ha Setelah 10 Tahun Terbakar (Tahun Kedua: Rehabilitasi Dengan Blocking Kanal) - <i>Basuki Wasis, Dadan Mulyana</i>	134
Efektivitas <i>Brachiaria</i> , Mikoriza Dan Kompos Jerami Padi Diperkaya Kalium Dalam Perbaikan Kualitas Tanah Masam Dan Hasil Ubikayu - Bariot Hafif, Supiandi Sabiham, Iswandi Anas, Atang Sutandi, Suyamto	142
Perubahan Komunitas Semut Pada Pertanaman Kakao Serta Implikasinya Terhadap Keberadaan Hama Dan Penyakit: Adakah Pengaruh Iklim? - <i>Damayanti Buchori, Ahmad Rizali, Adha Sari</i>	159
Biokonversi Lignoselulosa Tanaman Jagung Menjadi Bioetanol Melalui Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Simultan (SKFS) Menggunakan Biakan Campuran - <i>Djumali Mangunwidjaja, Anas Miftah Fauzi, Sukardi, Wagiman</i>	174
Pengaruh Proses Re-Esterifikasi pada Mesa Sebelum Proses Netralisasi Terhadap Nilai IFT Surfaktan MES yang Dihasilkan - <i>Erliza Hambali, Putu Suarsana, Sugihardjo, Mira Rivai, Edi Zulchaidir, Hermansyah Handoko</i> ...	186
Penentuan Lokasi Optimal Pusat-Pusat Pertumbuhan Baru Berbasis Model LGP-IRIO Untuk Mengatasi Ketimpangan Pembangunan Wilayah di Indonesia - <i>Ernan Rustiadi, Setia Hadi, Didit Okta Pribadi, Andi Syah Putra</i>	197
Analisis Proses Pembentukan Aliran Permukaan Dan Keterkaitannya Dengan Ketersediaan Air Secara Spasial Dan Temporal Mendukung Pemenuhan Kebutuhan Air Untuk Pertanian - <i>Hidayat Pawitan, Yanuar J. Purwanto, Budi Kartika, Nani Heryani, Sawijo</i>	217
Penyusunan Program Rehabilitasi Hutan Rawa Gambut Terdegradasi Dalam Rangka Penurunan Emisi Gas Rumah Kaca - <i>Istomo, Sri Wilarsro Budi R.</i>	233
Model Pengembangan Lahan Rawa Lebak Berbasis Sumberdaya Lokal Untuk Peningkatan Produktivitas Lahan Dan Pendapatan Petani (Studi Kasus Di Kecamatan Sungai Raya Dan Sungai Ambawang, Kabupaten	

Kubu Raya - Kalimantan Barat) - <i>Rois, Supiandi Sabiham, Irsal Las, Machfud</i>	252
Pengembangan Metodologi untuk Identifikasi Tingkat Degradasi Lahan di Lahan Kering Mendukung Pendayagunaan Lahan Terlantar untuk Keperluan Pertanian - <i>Santun R.P. Sitorus, Oteng Haridjaja, Asdar Iswati, Dyah R. Panuju</i>	267
Kcernaan, Fermentasi, Dan Performa Produksi Sapi Potong Lokal Yang Diberi Ekstrak Lerak (<i>Sapindus Rarak</i>) Pada Ransum Hijauan Tinggi - <i>Sri Suharti, Dewi Apri Astuti, Elizabeth Wina</i>	287
Rekayasa Lingkungan Termal Larutan Nutrisi Pada Budidaya Tanaman Tomat Secara Hidroponik - <i>Yohanes Aris Purwanto, Herry Suhardiyanto, Chusnul Arif, Yudi Chadirin</i>	294
BIDANG KESEHATAN	
Ekstrak Terstandar Anti Rematik Berbasis Jahe Merah (<i>Zingiber Officinale</i> Linn Var Rubrum) - <i>Dyah Iswantini, Min Rahminiwati, Ahmad Djunaedi, Yunawati Gandasasmita, Sari Pramadiyanti, Latifah K Darusman, Edy Djauhari, Trivadila, Huda Salahudin, Agus Fachrudin, Taopik Ridwan</i>	311
Aplikasi Etephon Untuk Menyerempakkan Kemasakan Buah Jarak Pagar (<i>Jatropha Curcas L.</i>) - <i>Endah R. Palupi, Memen Surachman, Kartika, Warid</i>	320
Preparasi Dan Aplikasi Vaksin Polivalen Avian Influenza H5n1 Pada Unggas Menggunakan Prinsip Antibodi-Anti-Idiotipe: Efikasi Vaksin Terhadap Berbagai Strain Virus AI H5N1 Indonesia - <i>I Wayan Teguh Wibawan, Ketut Karuni N Natih</i>	335
Seleksi Populasi BC2F2 Hasil Silangan IR64/Hawara Bunar Melalui Pendekatan Marker Assisted Backcrossing (Mab) Dan Produksi Generasi BC2F3 Toleran AI Untuk Mengembangkan Galur Padi Gogo Toleran AI (15 Ppm) - <i>Miftahudin, Andik Wijayanto, Tatik Chikmawati, Dwinita W. Utami, Ida Hanarida</i>	352
Intervensi Bubuk Susu Tempe Untuk Memperbaiki Gejala Klinis Diare Pada Anak - <i>Mira Dewi, Faisal Anwar, Ali Khomsan, Dadang Sukandar</i>	365
Seleksi Kombinasi Bakteri Selulolitik Dan Xilanolitik Untuk Sakarifikasi Tongkol Jagung - <i>Pradani Suseyaningsih, Anja Meryandini, Titi Candra Sunarti</i>	376

**KARAKTERISTIK BAKTERI ASAM LAKTAT INDIGENUS DADIAH
SUSU KERBAU SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK PADA KONDISI
SALURAN PENCERNAAN SECARA *IN VITRO***

(Characteristic of Lactic Acid Bacteria Indigenous Dadiyah as The Candidate for Probiotics in Gastrointestinal Condition)

Rarah R. A. Maheswari

Dept. Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, IPB

ABSTRAK

Dadiyah merupakan makanan tradisional khas Sumatra Barat yang dihasilkan dari proses fermentasi secara alami terhadap susu kerbau dalam tabung bambu. Produk ini memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai pangan fungsional, bila proses fermentasi dilakukan secara terkontrol dengan melibatkan kultur starter berupa bakteri probiotik.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari potensi *Lactobacillus plantarum-D01*, *Lactococcus lactis-D01*, *Lactobacillus acidophilus-Y01* dan *Bifidobacterium longum-Y01* sebagai kandidat bakteri probiotik meliputi kemampuannya untuk tumbuh pada : a) kondisi keasaman lambung yang berbeda (pH 2; 2,5; 3,2 dan 7,2) dan b) keberadaan garam empedu di usus halus, c) keberadaan antibiotik, d) mempunyai sifat antagonistik terhadap bakteri patogen (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028), dan e) menunjukkan kemampuan penempelan pada saluran pencernaan tikus secara *in vitro*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keempat Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diuji *Lactobacillus plantarum-D01*, *Lactococcus lactis-D01*, *Lactobacillus acidophilus-Y01* dan *Bifidobacterium longum-Y01* memiliki ketahanan yang baik dan dapat bertahan hidup pada kondisi keasaman lambung yang berbeda, adanya garam empedu dan antibiotik. *Lactobacillus acidophilus-Y01* dan *Bifidobacterium longum-Y01* memiliki ketahanan yang lebih baik yaitu mampu mempertahankan jumlah populasinya pada kondisi keasaman lambung yang berbeda, adanya garam empedu dan antibiotik. *Lactobacillus plantarum-D01*, *Lactococcus lactis-D01*, mengalami penurunan jumlah populasi sebesar 1-2 log pada kondisi keasaman lambung berbeda (pH 2; 2,5 dan 3,2), adanya garam empedu serta antibiotik amoksisin. Keempat BAL yang diujikan lebih tahan terhadap antibiotik kloramfenikol daripada antibiotik amoksisin, serta menunjukkan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen indikator yang diujikan yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028. Keempat BAL yang diuji *Lactobacillus plantarum-D01*, *Lactococcus lactis-D01*, *Lactobacillus acidophilus-Y01* dan *Bifidobacterium longum-Y01* memenuhi kriteria sebagai syarat probiotik yaitu dapat bertahan pada kondisi asam lambung, adanya garam empedu dan menghasilkan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen, sehingga akan mendatangkan manfaat kesehatan pada saluran pencernaan.

Kata kunci : Dadiyah, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, probiotik.

ABSTRACT

Probiotic bacteria defined as living microorganisms which will confer health benefit to the host when administered in adequate amounts. The aims of this research were to study the potential of *Bifidobacterium longum Y-01*, *Lactobacillus acidophilus Y-01*, *Lactobacillus plantarum D-01-01*, and *Lactococcus lactis D-01-01* as probiotic bacteria through its ability to grow in gastrointestinal conditions (acid conditions of stomach and the presence of bile salts in the small intestine); its resistance to antibiotics; and its

(koperasi, peternak, pengusaha kecil). Hal ini juga akan mengurangi ketergantungan peternak atau koperasi dalam menjual susu segar kepada industri pengolahan susu. Teknologi yang diintroduksikan di unit pengolahan susu D-Farm (PT D-Farm Agriprima) diharapkan dapat direplikasikan pada UMKM lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2003. SK Menkes Nomor 23/Menkes/SK/I/1978 tentang Pedoman Cara Produksi yang Baik untuk Makanan. BPOM, Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. 1998. SNI 01-4852-1998. Sistem Analisis Bahaya dan Pengendalian Titik Kritis (*Hazard Analysis Critical Control Point-HACCP*) serta Pedoman Penerapannya. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. 2002. Pedoman 1004-2002 Panduan Penyusunan Rencana Sistem Analisa Bahaya dan Pengendalian Titik Kritis (HACCP), Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1998. Higiene dan Sanitasi Sarana Pengolahan Pangan. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Dewan Standardisasi Nasional. 1992. SNI 01-2981-1992. Cara uji makanan dan minuman. Standar Nasional Indonesia, Jakarta
- Dewan Standardisasi Nasional. 1992. SNI 01-3141-1992. Susu Segar. Dewan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- FDA. 1995. Sanitation, Sanitary Regulation and Voluntary Programs. In: G Mariot, Norman (Editors). Principles of Food Sanitation, Hal 7. 3rd Edition. Chapman and Hall, New York.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 1990. Persyaratan Kualitas Air Minum No.416/MENKES/Per/IX/1990, Jakarta.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2002. Persyaratan Kesehatan Lingkungan Kerja Perkantoran dan Industri No.1405/MENKES/SK/XI/2002, Jakarta.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2003. Persyaratan Hygiene Sanitasi Jasaboga No.715/MENKES/SK/V/2003, Jakarta.
- Menteri Negara Sekretaris Negara. 1996. Undang-Undang Republik Indonesia No. 7. 1996 tentang Pangan, Jakarta.
- Menteri Negara Sekretaris Negara. 1999. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 69 tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan, Jakarta.

antimicrobial properties against pathogen bacterias. This study initiated with assays of four tested Lactic Acid Bacterias (LAB) for its ability to grow and survive in acid conditions, bile salts, and antibiotics, also its antagonistic activities against indicator strains of pathogen bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, and *Escherichia coli* ATCC 25922). Result obtained from assay of ability to grow in acid conditions, presence of bile salts, and antibiotics showed that *B. longum* Y-01 and *L. acidophilus* Y-01 that isolated from cow milk product had better resistance than *L. plantarum* D-01-01 and *L. lactis* D-01-01 (t-test), LAB indigenous dadiah. Result showed that difference tested LABs influenced diameter of the inhibition zone toward indicator pathogene bacterias ($P<0.01$), which was *L. acidophilus* had the largest inhibition zone against *S. aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922, while *B. longum* was able to produce the largest inhibition zone against *S. thypimurium* ATCC 14028. Therefore the four tested LABs can be identified as probiotic bacteria.

Keywords : Dadiah, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, probiotic.

PENDAHULUAN

Kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan saat ini semakin meningkat, sehingga menimbulkan implikasi yang luas dalam memilih bahan makanan untuk kelangsungan hidupnya. Hal tersebut mendorong berkembangnya riset-riset mengenai makanan dan minuman yang mempunyai efek menyehatkan, atau dikelompokkan sebagai pangan fungsional.

Dadiah merupakan makanan tradisional khas Sumatra Barat yang dihasilkan dari proses fermentasi secara alami terhadap susu kerbau dalam tabung bambu. Produk ini memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai pangan fungsional, bila proses fermentasi dilakukan secara terkontrol dengan kultur starter berupa bakteri probiotik. Bakteri probiotik harus memiliki sifat non patogen, menghasilkan asam dengan cepat, tahan terhadap garam empedu, tahan terhadap antibiotik, mampu menempel pada epitel dinding saluran pencernaan, serta mampu memproduksi substansi antimikroba termasuk asam organik, hidrogen peroksida dan bakteriosin.

Bakteri Asam Laktat (BAL) termasuk salah satu mikroorganisme yang memiliki peranan untuk menjaga kesehatan saluran pencernaan baik pada manusia ataupun hewan. Kelompok bakteri yang baik dalam mikroflora usus atau disebut probiotik merupakan bagian yang terpenting bagi manusia untuk mengoptimalkan kesehatan. Karakteristik yang dipertimbangkan untuk menentukan syarat utama isolat BAL sebagai bakteri probiotik yakni bersifat nonpatogenik, harus mampu

bertahan hidup, bersaing dan tumbuh dalam saluran pencernaan. Bakteri tersebut harus mampu melewati beberapa rintangan seperti keasaman lambung yang tinggi, adanya sekresi garam empedu ataupun antibiotik dalam usus halus, mampu menghasilkan senyawa antimikroba untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen, serta mampu melakukan penempelan pada usus halus, untuk dapat berperan dalam mendukung kesehatan inangnya. Isolasi dan identifikasi terhadap kultur starter indigenus dadiyah mendapatkan dominasi BAL *Lactobacillus plantarum-D01* dan *Lactococcus lactis-D01*, sedangkan dari olahan bioproduk susu sapi mendapatkan *Lactobacillus acidophilus-Y01* dan *Bifidobacterium longum-Y01*(Maheswari, 2008), sehingga sangat menarik untuk mempelajari lebih lanjut potensi isolat asal dadiyah dan produk olahan susu sapi sebagai kandidat bakteri probiotik untuk menghasilkan dadih probiotik sebagai pangan fungsional.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi

Karakterisasi BAL dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Ternak serta Laboratorium Terpadu, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan. Pengujian kemampuan penempelan BAL dilakukan di Laboratorium Histologi, Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini berlangsung dari bulan Maret sampai Agustus 2010.

Kultur Bakteri

Kultur BAL yang digunakan adalah *L. plantarum D-01*, *L. lactis D-01*, *B. longum Y-01*, *L. acidophilus Y-01*, sedangkan bakteri uji indikator adalah *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, dan *S. Typhimurium* ATCC 14028. Semua kultur bakteri tersebut merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi Bagian Teknologi Hasil Ternak, Dept. IPTP-Fakultas Peternakan IPB. Media dan bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini, diantaranya adalah *de-Man's Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), *Buffer Pepton Water* (BPW), *de-Man's Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), *Phosphate Buffered Saline* (PBS), *bile salt*, *Eosin Methilen Blue Agar* (EMBA), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Nutrient Agar* (NA),

Mueller Hinton Agar (MHA), HCl, NaOH, NaCl fisiologis, metanol p.a, antibiotik amoksisilin dan kloramphenikol, larutan buffer pH 4 dan 7, serta *mounting media* dan Hematoxylin-Eosin. Media untuk pengujian penempelan pada permukaan padat yaitu larutan detergen, aquades dan larutan *acridin orange* 0,026%.

Karakteristik Ketahanan Kultur Starter BAL terhadap Kondisi Keasaman Lambung yang Berbeda (Chou dan Weimer, 1999)

Kultur starter BAL disegarkan ke dalam MRSB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Sel-sel bakteri dipanen melalui sentrifugasi (5000 rpm selama 10 menit pada 4 °C), lalu dipisahkan dari supernatannya. Sel-sel kultur starter bakteri distandardisasi untuk mendapatkan populasi awal 10^7 cfu/ml, lalu diinokulasikan ke dalam larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) yang telah dikondisikan pada pH 2; 2,5; 3,2; dan 7,2, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 180 menit. Ketahanan BAL terhadap kondisi keasaman lambung yang berbeda ditentukan dari jumlah populasi bakteri yang tetap bertahan hidup sebelum diinkubasi (t_0) dan sesudah diinkubasi selama 180 menit (t_{180}).

Karakteristik Ketahanan Kultur Starter BAL terhadap Garam Empedu (Lin et al., 2006)

Pengujian lanjut ketahanan BAL terhadap garam empedu hanya dilakukan terhadap isolat bakteri yang dapat tumbuh pada pH 2,0. Pengujian disesuaikan dengan kadar garam empedu pada saluran pencernaan yaitu menggunakan *bile salt* (garam empedu) sebanyak 0,3% *oxgall* b/v dalam media PBS basal pada pH 7,2, kemudian disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kultur starter BAL dengan populasi awal $\pm 10^7$ cfu/ml diinokulasikan pada media PBS dengan garam empedu 0,3% steril, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Ketahanan BAL terhadap garam empedu ditentukan dari jumlah populasi bakteri yang tetap bertahan hidup sebelum diinkubasi (t_0) dan sesudah diinkubasi selama 24 jam (t_{24}).

Karakteristik Ketahanan Kultur Starter BAL Dadiyah terhadap Antibiotik Berbeda (Liasi et al., 2009)

Karakterisasi BAL terhadap ketahanannya pada antibiotik dilakukan terhadap isolat bakteri yang dapat tumbuh pada pH 2,0 dan dalam media PBS yang mengandung garam empedu 0,3%. Karakterisasi BAL berdasarkan pada sensitivitasnya terhadap antibiotik amoksisilin dan kloramfenikol. Kultur starter BAL dengan populasi awal $\pm 10^7$ cfu/ml ditumbuhkan ke dalam media MRSB

yang telah ditambahkan antibiotik sebanyak $30 \mu\text{g}/\text{ml}$, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ketahanan BAL terhadap kondisi keberadaan antibiotik yang berbeda ditentukan dari jumlah populasi bakteri yang tetap bertahan hidup sebelum diinkubasi (t_0) dan sesudah diinkubasi selama 24 jam (t_{24}).

Karakteristik Aktivitas Antagonistik BAL Dadiyah terhadap Bakteri Patogen (Modifikasi Wiryawan *et al.*, 2009)

Persiapan Filtrat Bebas Sel (FBS) dan FBS Terkonsentrasi. Kultur starter BAL yang sudah disegarkan distandardisasi dengan populasi awal $\pm 10^7 \text{ cfu}/\text{ml}$, lalu diinokulasikan dalam MRSB dan diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Filtrat bebas sel (FBS) diperoleh melalui penyaringan steril dengan filter $0,22 \mu\text{m}$ (Millipore). FBS dikonsentrasi dengan cara menambahkan metanol (MeOH) dengan rasio 1:1, kemudian dievaporasi dalam *rotary evaporator* pada suhu $40-45^\circ\text{C}$ selama 60 menit atau hingga mencapai $1/5$ volume awal, dengan tujuan untuk meningkatkan aktivitas antimikroba dari BAL. FBS terkonsentrasi segera disimpan dalam refrigerator (4°C) sebelum digunakan.

Persiapan Bakteri Indikator. Bakteri patogen indikator disegarkan untuk memperoleh kultur bakteri yang berumur 24 jam. Bakteri patogen distandardisasi dengan populasi awal minimal $10^8 \text{ cfu}/\text{ml}$ (standar Mc Farland no.2) dalam media NB, lalu terlebih dahulu diencerkan dalam NaCl fisiologis hingga populasi mencapai $10^5 \text{ cfu}/\text{ml}$ sebelum digunakan dalam uji konfrontasi.

Konfrontasi Filtrat Bebas Sel dengan Bakteri Indikator. Pengujian aktivitas antimikroba kultur starter *L. plantarum* D-01, *L. lactis* D-01 *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 $10^5 \text{ cfu}/\text{ml}$ dipipet ke dalam cawan Petri, lalu ditambahkan media *Mueller 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 *cork borer* (alat pelubang). Sebanyak $50 \mu\text{l}$ FBS terkonsentrasi dipipet ke dalam sumur, lalu cawan beserta isi diletakkan dalam refrigerator untuk memberi kesempatan FBS berdifusi ke dalam agar selama ± 30 menit. 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.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketahanan Kultur Starter BAL Dadiyah terhadap Kondisi Keasaman Lambung yang Berbeda

Tekanan pertama yang terjadi pada sel Bakteri Asam Laktat (BAL) pada saat memasuki saluran pencernaan adalah terpapar pada asam lambung. Pada kondisi pH rendah, BAL tidak hanya tumbuh lambat tetapi mungkin juga mengalami kerusakan asam dan menurun viabilitasnya. Nilai pH lambung dalam keadaan istirahat atau kosong sangatlah rendah yaitu sekitar 2,0, berubah menjadi 2,5 ketika enzim pepsin menghidrolisis protein (Surono, 2004), meningkat menjadi 3,2 ketika asam lambung disekresikan dan berada sekitar 7,2 ketika mulai memasuki usus (Mitsuoka, 1990) dengan lama waktu yang diperlukan mulai saat bakteri masuk sampai keluar lambung adalah sekitar 90 menit (Berrada *et al.*, 1991). Kemampuan BAL asal dadiyah *L. plantarum* D-01 dan *L. lactis* D-01, serta asal olahan susu *B. longum* Y-01, *L. acidophilus* Y-01, tumbuh atau bertahan pada keasaman lambung yang berbeda selama 180 menit dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Populasi BAL Dadiyah pada Kondisi Keasaman Lambung yang Berbeda

No.	Lama inkubasi	Populasi BAL (log cfu/ml)			
		<i>L. plantarum</i> D-01	<i>L. lactis</i> D-01	<i>B. longum</i> Y-01	<i>L. acidophilus</i> Y-01
pH 2,0					
1.	P_0 menit	7,98 ± 0,13 ^a	7,72 ± 0,24 ^A	7,15 ± 0,29	7,06 ± 0,12
	P_{180} menit	6,47 ± 0,09 ^b	6,45 ± 0,20 ^B	7,31 ± 0,33	7,15 ± 0,13
	$\Delta(P_{180} - P_0)^*$	-1,51 ± 1,07	-1,27 ± 0,90	0,16 ± 0,11	0,09 ± 0,06
pH 2,5					
2.	P_0 menit	7,52 ± 0,12 ^a	7,24 ± 0,45	7,36 ± 0,09 ^a	7,25 ± 0,02
	P_{180} menit	6,01 ± 0,31 ^b	6,49 ± 0,30	7,62 ± 0,06 ^b	7,54 ± 0,12
	$\Delta(P_{180} - P_0)^*$	-1,51 ± 1,07	-0,75 ± 0,53	0,26 ± 0,18	0,29 ± 0,21
pH 3,2					
3.	P_0 menit	7,81 ± 0,28 ^A	7,04 ± 0,12	7,50 ± 0,33	7,12 ± 0,03 ^a
	P_{180} menit	6,37 ± 0,23 ^B	6,89 ± 0,34	7,92 ± 0,29	7,43 ± 0,08 ^b
	$\Delta(P_{180} - P_0)^*$	-1,44 ± 1,02	-0,15 ± 0,11	0,42 ± 0,30	0,31 ± 0,22
pH 7,2					
4.	P_0 menit	7,93 ± 0,29	7,43 ± 0,08	7,01 ± 0,17 ^a	7,45 ± 0,08 ^a
	P_{180} menit	8,48 ± 0,13	7,86 ± 0,17	7,45 ± 0,15 ^b	7,81 ± 0,14 ^b
	$\Delta(P_{180} - P_0)^*$	0,55 ± 0,39	0,43 ± 0,30	0,44 ± 0,31	0,36 ± 0,25

Keterangan : *apabila hasilnya (-) menunjukkan adanya kematian
(A,B) pada kolom dan kondisi pH yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$)
(a,b) pada kolom dan kondisi pH yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)
Uji t dilakukan dengan membandingkan populasi pada lama inkubasi ke-0 dan ke-180 menit.

Pertumbuhan BAL asal dadiyah *L. plantarum D-01* nyata menurun ($P<0,05$) sebesar $\pm 1,5$ log pada kondisi lambung dengan pH 2,0; 2,5 maupun 3,2, namun mampu tumbuh pada kondisi usus halus dengan pH 7,2. BAL asal dadiyah *L. lactis D-01* lebih mampu beradaptasi pada kondisi tersebut dan hanya mengalami penurunan populasi ($P<0,01$) sebesar $\pm 1,3$ log pada saat lambung kosong atau mempunyai pH 2,0. BAL asal olahan susu mampu bertahan dan tumbuh pada berbagai kondisi pH yang diujikan, ditunjukkan peningkatan populasi *B. longum Y-01* pada pH 2,5 ($P<0,05$) dan *L. acidophilus Y-01* pada pH 3,2 ($P<0,05$).

BAL asal dadiyah, walaupun mengalami penurunan, namun masih mampu mempertahankan populasinya hingga 80% dari populasi awal selama 180 menit terpapar dengan kondisi asam, sehingga dapat dinyatakan bahwa kedua bakteri tersebut memiliki ketahanan atau resistensi yang baik (Jacobsen *et al.*, 1999). BAL indigenus dadiyah yaitu *L. plantarum D-01* dan *L. lactis D-01* maupun olahan susu sapi *B. longum Y-01*, *L. acidophilus Y-01*, memiliki ketahanan yang baik terhadap kondisi keasaman lambung yang berbeda (pH 2; 2,5; 3,2 dan 7,2). Bakteri *B. longum Y-01* dan *L. acidophilus Y-01* memiliki ketahanan yang lebih baik pada pH rendah dibandingkan bakteri *L. plantarum D-01* dan *L. lactis D-01* sesuai dengan pernyataan Nakazawa dan Hosono (1992) yaitu *Bifidobacteria* dan *L. acidophilus* adalah mikroba yang berkarakteristik mampu mencapai dan hidup dalam keadaan utuh di dalam usus dengan jumlah yang cukup tinggi. Susanti *et al.* (2007) menjelaskan bahwa kondisi yang sangat asam dapat mengakibatkan kerusakan membran dan lepasnya komponen intraseluler yang dapat menyebabkan kematian. Bakteri yang tahan asam memiliki ketahanan yang lebih besar terhadap kerusakan membran akibat penurunan pH ekstraseluler dibandingkan dengan bakteri yang tidak tahan terhadap asam. Toleransi BAL yang cukup tinggi terhadap asam biasanya juga disebabkan bakteri tersebut mampu mempertahankan pH sitoplasma yang lebih basa daripada pH ekstraseluler, hal ini dapat dicapai bila sel memiliki membran yang merupakan barier yang membatasi pergerakan senyawa/proton. Komposisi asam lemak dan protein penyusun membran yang beragam di antara spesies bakteri juga diduga mempengaruhi keragaman ketahanan bakteri terhadap pH rendah. Nannen dan

Hutkins (1991) menambahkan, bahwa untuk bertahan di lingkungan asam, suatu BAL harus mampu mempertahankan pH intraseluler yang lebih tinggi dibandingkan pH ekstraseluler. Bakteri yang tidak tahan terhadap asam akan menjaga pH intraseluler mendekati netral, sedangkan BAL yang lebih tahan terhadap asam secara dinamis akan mengubah pH intraseluler seiring dengan penurunan pH ekstraseluler, sehingga tidak terjadi gradien proton yang besar. BAL dengan gradien proton yang besar tidak menguntungkan dikarenakan translokasi proton menggunakan banyak energi. Selain itu gradien proton yang besar mengakibatkan akumulasi anion, asam organik dalam sitosol yang bersifat toksik bagi sel tersebut.

Ketahanan Kultur Starter BAL Asal Dadiyah Terhadap Garam Empedu

Asam empedu mengandung padatan seperti garam empedu dengan komposisi terbanyak adalah garam Na dan segmen empedu seperti bilirubin glukuronida, sulfat steroid dan senyawa racun lainnya serta mengandung sejumlah lipid seperti fosfolipid dan kolesterol. Asam empedu akan diserap kembali dari ileum bagian bawah dan kembali ke hati untuk disekreksikan kembali ke empedu. Asam empedu yang tidak diserap kembali dan lolos ke usus besar didekonjugasi oleh bakteri usus menjadi asam empedu sekunder. Pada penelitian ini konsentrasi *bile salt* yang digunakan sebanyak 0,3% dikarenakan menurut Zavaglia *et al.* (1998) semua mikroba yang berhasil hidup setelah ditumbuhkan dalam MRS A yang ditambah 0,3% *ox gall*, dinyatakan bersifat tahan terhadap garam empedu. Konsentrasi garam empedu sebesar 0,3% merupakan konsentrasi yang kritikal, nilai yang cukup tinggi untuk melakukan seleksi terhadap isolat yang resisten terhadap garam empedu. Kemampuan *L. plantarum* D-01, *L. lactis* D-01, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 bertahan atau tumbuh dalam media yang mengandung garam empedu selama 24 jam dapat dilihat Tabel 2.

Tabel 2. Ketahanan Populasi BAL Dadiyah terhadap Garam Empedu

No.	Lama inkubasi	Populasi BAL (log cfu/ml)			
		<i>L. plantarum</i> D-01	<i>L. lactis</i> D-01	<i>B. longum</i> Y- 01	<i>L. acidophilus</i> Y-01
1.		Kontrol tanpa Garam Empedu			
	P ₀ menit	7,31 ± 0,11	7,34 ± 0,05 ^A	7,37 ± 0,10	7,92 ± 0,13
	P ₁₈₀ menit	7,43 ± 0,11	7,98 ± 0,06 ^B	7,62 ± 0,15	8,18 ± 0,06

Tabel 2. Ketahanan Populasi BAL Dadiyah terhadap Garam Empedu (*lanjutan*)

No.	Lama inkubasi	Populasi BAL (log cfu/ml)			
		<i>L. plantarum</i> <i>D-01</i>	<i>L. lactis</i> <i>D-01</i>	<i>B. longum Y-</i> <i>01</i>	<i>L. acidophilus</i> <i>Y-01</i>
	$\Delta(P_{180} - P_0)^*$	0,12 ± 0,09	0,64 ± 0,45	0,25 ± 0,18	0,26 ± 0,18
2. Perlakuan dengan Garam Empedu					
	P_0 menit	7,85 ± 0,83	7,99 ± 0,07 ^A	8,41 ± 0,03 ^a	7,54 ± 0,10 ^a
	P_{180} menit	6,37 ± 0,63	6,05 ± 0,12 ^B	8,51 ± 0,01 ^b	7,78 ± 0,07 ^b
	$\Delta(P_{180} - P_0)^*$	-1,48 ± 1,05	-1,94 ± 1,37	0,10 ± 0,07	0,24 ± 0,17

Keterangan : * apabila hasilnya (-) menunjukkan adanya kematian

(A,B) pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P<0,01$)

(a,b) pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$)

Uji t dilakukan dengan membandingkan jam ke-0 dan ke-24 jam

BAL asal dadiyah mengalami penurunan populasi sebesar 1,5 log untuk *L. plantarum D-01* dan 2,0 log untuk *L. lactis D-01* ($P<0,01$) pada kondisi lingkungan saluran pencernaan dengan garam empedu, sebaliknya BAL asal olahan susu sapi *B. longum Y-01* dan *L. acidophilus Y-01* dapat bertahan dan meningkat populasinya ($P<0,05$). Bila dibandingkan pertumbuhannya dalam lingkungan saluran pencernaan dengan pH 2,0 tanpa garam empedu, keempat kultur BAL mampu tumbuh dan bermultiplikasi walaupun dengan peningkatan populasi yang rendah, yang menunjukkan sekali lagi resistensinya pada kondisi pH 2,0 tersebut. Walaupun adanya penambahan garam empedu 0,3% *oxgall* pada media dengan pH 2,0 menekan pertumbuhan kedua isolat BAL asal dadiyah, namun *L. plantarum D-01* dan *L. lactis D-01* mampu mempertahankan populasinya masing-masing sebesar sekitar 80% dan 75%. Salminen *et al.* (2004) menjelaskan bahwa suatu BAL dapat dikatakan bakteri probiotik apabila mampu bertahan dan tumbuh pada saluran pencernaan terutama ketika memasuki bagian atas saluran usus, dimana empedu disekresikan di dalam usus. Surono (2004) mengatakan bahwa lamanya bakteri hidup di dalam usus sekitar 4-6 jam, namun bakteri yang telah melewati garam empedu harus mampu mengkolonisasi pada saluran usus bagian bawah agar dapat dikatakan bakteri probiotik, untuk maksud tersebut maka waktu pengamatan dalam penelitian dilakukan selama 24 jam. Kemampuan BAL asal dadiyah tetap mempertahankan populasinya menunjukkan karakteristik resistensinya pada gram empedu, seperti yang dinyatakan Jacobsen *et al.* (1999) bahwa semua bakteri yang berhasil bertahan pada kondisi yang diberi garam empedu dinyatakan bersifat tahan atau resisten terhadap garam empedu. Susanti

et al. (2007) menjelaskan bahwa garam empedu berpengaruh terhadap permeabilitas sel bakteri. Pada BAL yang tahan terhadap garam empedu apabila diinkubasi pada larutan penyanga yang mengandung garam empedu masih dapat tumbuh dan tidak akan mengalami lisis, namun BAL tersebut tetap mengalami kebocoran materi intraseluler. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi perubahan sifat permeabilitas sel pada membran sel bakteri. Pada bakteri yang tidak tahan terhadap garam empedu, perubahan permeabilitas sel dan kebocoran materi intraseluler lebih besar, sehingga sel bakteri akan mati karena lisis. Perubahan struktur membran sel dan sifat permeabilitas sel dapat terjadi akibat enzim lipolitik yang disekresikan pankreas bereaksi dengan asam lemak pada membran sitoplasma bakteri. Keragaman struktur asam lemak pada membran sitoplasma bakteri menyebabkan perbedaan permeabilitas dan karakteristiknya, sehingga mungkin mempengaruhi ketahanannya terhadap garam empedu.

Ketahanan Kultur Starter BAL *Indigenous Dadiyah* terhadap Antibiotik Amoksisilin dan Kloramfenikol

Antibiotik merupakan musuh paling berbahaya bagi mikroba. Antibiotik akan menyapu bersih populasi bakteri di dalam usus tanpa pandang bulu, sehingga untuk sesaat usus menjadi bersih tanpa adanya bakteri. BAL yang memiliki ketahanan terhadap antibiotik tidak akan mati ketika diberi antibiotik, sehingga di dalam usus manusia keseimbangan mikrobanya masih dapat terjaga. Pada penelitian ini ketahanan BAL asal dadiyah dan olahan susu sapi diuji terhadap amoksisilin dan kloramfenikol. Kedua antibiotik ini dipilih karena mempunyai spektrum luas yang aktif terhadap banyak bakteri Gram positif dan Gram negatif, serta merupakan antibiotik yang sering dikonsumsi oleh masyarakat. Kemampuan *L. plantarum* D-01, *L. lactis* D-01, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 tumbuh atau bertahan terhadap antibiotik selama 24 jam dapat dilihat Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Populasi BAL Dadiyah tanpa atau dengan Antibiotik yang Berbeda

No.	Lama inkubasi	Populasi BAL (log cfu/ml)			
		<i>L. plantarum</i> D-01	<i>L. lactis</i> D-01	<i>B. longum</i> Y-01	<i>L. acidophilus</i> Y-01
1		Kontrol (Tanpa Antibiotik)			
	P ₀ menit	7,89 ± 0,03 ^A	7,72 ± 0,05 ^A	7,79 ± 0,04 ^A	7,83 ± 0,03 ^A
	P ₁₈₀ menit	11,26 ± 0,05 ^B	9,59 ± 0,05 ^B	9,89 ± 0,02 ^B	9,31 ± 0,04 ^B
	Δ(P ₁₈₀ - P ₀) [*]	3,37 ± 2,38	1,87 ± 1,32	2,10 ± 1,48	1,48 ± 1,05

Tabel 3. Jumlah Populasi BAL Dadiyah tanpa atau dengan Antibiotik yang Berbeda (*lanjutan*)

No.	Lama inkubasi	Populasi BAL (log cfu/ml)			
		<i>L. plantarum</i> D-01	<i>L. lactis</i> D-01	<i>B. longum</i> Y-01	<i>L. acidophilus</i> Y-01
Antibiotik Amoksisilin					
	P ₀ menit	7,86 ± 0,43	7,68 ± 0,22 ^A	7,65 ± 0,13	7,82 ± 0,79
	P ₁₈₀ menit	7,53 ± 0,60	6,10 ± 0,10 ^B	7,82 ± 0,10	8,20 ± 0,37
	Δ(P ₁₈₀ - P ₀) [*]	-0,33 ± 0,23	-1,58 ± 1,12	0,17 ± 0,12	0,38 ± 0,27
Antibiotik Kloramfenikol					
3	P ₀ menit	7,89 ± 0,02 ^a	7,93 ± 0,02 ^a	7,92 ± 0,03 ^A	7,73 ± 0,05 ^a
	P ₁₈₀ menit	8,21 ± 0,06 ^b	8,20 ± 0,08 ^b	8,12 ± 0,03 ^B	8,23 ± 0,11 ^b
	Δ(P ₁₈₀ - P ₀) [*]	0,32 ± 0,23	0,27 ± 0,19	0,20 ± 0,14	0,50 ± 0,35

Keterangan : * apabila hasilnya (-) menunjukkan adanya kematian
 (A,B) pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)
 (a,b) pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)
 Uji t dilakukan dengan membandingkan jam ke-0 dan ke-24 jam.

BAL asal dadiyah dan asal olahan susu sapi tumbuh dengan baik dan nyata meningkat populasinya (P<0,01) sebesar 1,5 – 3 log selama 24 jam inkubasi dalam media MRSB tanpa penambahan antibiotik, dengan peningkatan populasi tertinggi didapatkan pada *L. plantarum* D-01. Inkorporasi antibiotik amoksisilin 30µg/ml tidak berpengaruh bagi pertumbuhan *L. plantarum* D-01, *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01 , namun nyata (P<0,01) menghambat pertumbuhan *L. lactis* D-01 ditunjukkan oleh penurunan populasi sekitar 1,5 log. Penambahan kloramfenikol tidak mempengaruhi pertumbuhan kultur BAL yang diuji ditunjukkan oleh peningkatan secara nyata populasinya yaitu *L. plantarum* D-01, *L. lactis* D-01 dan *L. acidophilus* Y-01 (P <0,05), serta *B. longum* Y-01(P< 0,01).

Keempat BAL yang diuji tersebut mampu tumbuh dan berkembang biak pada media tumbuhnya yaitu MRSB karena terdapat nutrisi yang baik dan cukup untuk pertumbuhan BAL diantaranya sumber karbohidrata yaitu dextrose, tidak terdapat substrat penghambat berupa antibiotika, serta didukung oleh kondisi pH maupun suhu yang sangat mendukung. Buckle *et al.* (2007) yang mengatakan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba yaitu ketersediaan nutrisi, pH, suhu, ketersediaan oksigen, adanya zat penghambat dan adanya persaingan dengan mikroba lainnya. Walaupun *L. lactis* D-01 menunjukkan pertumbuhan yang terhambat dengan adanya amoksisilin dalam media, namun populasi bakteri tetap mampu dipertahankan hingga sekitar 80% dari populasi

awal setelah diinkubasi selama 24 jam. Menurut Jacobsen *et al.* (1999) semua bakteri yang berhasil bertahan pada kondisi yang telah diberi antibiotik dinyatakan bersifat tahan atau resisten terhadap antibiotik meskipun jumlah populasinya mengalami penurunan. Widodo (2002) menyatakan bahwa salah satu syarat BAL yang bermanfaat sebagai probiotik adalah memiliki ketahanan terhadap antibiotik karena antibiotik merupakan musuh paling berbahaya bagi mikroba. Antibiotik akan menyapu bersih populasi bakteri di dalam usus tanpa pandang bulu, sehingga untuk sesaat usus menjadi bersih tanpa adanya bakteri. BAL yang memiliki ketahanan terhadap antibiotik tidak akan mati ketika diberi antibiotik, sehingga di dalam usus manusia keseimbangan mikrobanya masih dapat terjaga. Setiap antibiotik mempunyai efektivitas yang berbeda dalam melawan bakteri sasarnya baik Gram negatif atau Gram positif, bergantung pada lokasi infeksi dan kemampuan antibiotik mencapai lokasi tersebut (Pelczar dan Chan, 2008). Kultur starter BAL keempatnya lebih tahan terhadap antibiotik kloramfenikol daripada antibiotik amoksisilin, karena amoksisilin lebih bersifat bakterisidal sementara kloramfenikol bersifat bakteriostatis dengan cara menghambat pertumbuhan atau pembiakan bakteri, sehingga memungkinkan bakteri yang telah diberi antibiotik kloramfenikol mampu berkembang biak kembali (Volk dan Wheeler, 1993). Antibiotik amoksisilin sering digunakan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif seperti *H. influenza*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *Salmonella* serta untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram positif seperti : *S. pneumoniae*, *enterococci*, *nonpenicilinase-producing staphylococci*, *Listeria* (Siswadono, 2000). Antibiotik kloramfenikol biasanya hanya digunakan untuk infeksi yang parah disebabkan oleh bakteri anaerob penyebab meningitis, *H. influenza* dan tifus (Volk dan Wheeler, 1993).

Aktivitas Antagonistik BAL Dadiyah terhadap Bakteri Patogen

Salah satu kriteria yang diinginkan dari BAL yang digunakan sebagai kultur probiotik adalah kemampuannya untuk menghambat bakteri patogen sehingga mampu berkompetisi dengan bakteri patogen untuk mempertahankan keseimbangan mikroflora normal usus. Konfrontasi substrat aktif dari BAL dilakukan terhadap bakteri patogen indikator yaitu *E. coli* ATCC 25922, *S.*

aureus ATCC 25923 dan *S. Typhimurium* ATCC 14028 yang dipilih karena sering sebagai penanggung jawab penyebab berjangkitnya penyakit pada manusia. Aktivitas antagonistik BAL asal dadiyah dan produk olahan susu terhadap *S. Typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas Antagonistik FBS Terkonsentrasi BAL Dadiyah terhadap Bakteri Patogen Indikator

No.	Kultur Bakteri	Diameter penghambatan (mm)		
		<i>S. Typhi</i> ATCC 25923	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>S.aureus</i> ATCC 25923
1.	<i>L. plantarum</i> D-01	11,84 ± 0,34 ^C	12,64 ± 0,28 ^B	11,32 ± 1,32 ^{ab}
2.	<i>L. lactis</i> D-01	9,73 ± 0,02 ^D	10,81 ± 0,17 ^C	9,40 ± 0,52 ^b
3.	<i>B. longum</i> Y-01	13,13 ± 0,19 ^B	14,72 ± 0,45 ^A	13,80 ± 0,47 ^a
4.	<i>L. acidophilus</i> Y-01	15,35 ± 0,28 ^A	15,16 ± 0,32 ^A	12,53 ± 0,18 ^a

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (A,B,C,D, P<0,01) atau nyata (a,b, P<0,05).

BAL asal dadiyah *L. plantarum* D-01 dan *L. lactis* D-01 dan asal olahan susu sapi *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-01, keempatnya menghasilkan substrat antimikroba ekstraseluler, yang disekresikan dalam media tumbuhnya dan menunjukkan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen indikator *S. Typhi* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 25923 dibuktikan oleh zona bening penghambatan pada hasil konfrontasinya. FBS dari keempat kultur BAL mempunyai aktivitas antagonistik yang berbeda terhadap masing-masing bakteri patogen. Aktivitas tertinggi terhadap *S. Typhi* ATCC 14028 ditunjukkan oleh FBS dari *L. acidophilus* Y-01 dan terendah dari *L. lactis* D-01 dengan diameter zona penghambatan masing-masing adalah 15,35 mm dan 9,75 mm. Hasil ini memperkuat pendapat Fuller (1997), bahwa *lactobacilli*, *bifidobacteria* dan *L. lactis* mampu menghambat secara langsung bakteri patogen indikator *S. Typhi*.

FBS dari *B. longum* Y-01 dan *L. acidophilus* Y-0 menghasilkan aktivitas antagonistik yang sama kuatnya dalam menghambat bakteri patogen indikator *E.*

coli ATCC 25922 dengan diameter zona hambat sebesar 14-15mm, nyata lebih besar ($P<0,01$) dari yang dihasilkan BAL asal dadiyah *L. plantarum D-01* dan *L. lactis D-01*yaitu masing-masing sebesar 12,64 mm dan 10,81 mm. Hasil ini sesuai dengan Surono (2004) yang menyatakan bahwa spesies dan strain dari *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp., *Pediococcus* sp. serta *Streptococcus* sp. mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*, demikian pula spesies dari *Bifidobacteria* juga mampu menghambat secara langsung pertumbuhan bakteri *E. coli* (Fuller, 1997).

FBS dari BAL yaitu asal dadiyah *L. plantarum D-01*dan *L. lactis D-01* dan asal olahan susu sapi *B. longum Y-01* dan *L. acidophilus Y-01*, semuanya mampu menunjukkan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen indikator *S. aureus* ATCC 25923, dengan menghasilkan diameter zona bening penghambatan sebesar diameter antara 9,40 mm dan 13,80 mm. FBS dari *L. lactis D-01* menunjukkan aktivitas penghambatan terendah ($P<0,05$), sedangkan FBS dari *L. plantarum D-01*, *B. longum Y-01* dan *L. acidophilus Y-0* menghasilkan aktivitas antagonistik yang sama kuatnya ($P>0,05$) dalam menghambat bakteri patogen indikator *S. aureus* ATCC 25923 dengan rataan diameter zona hambat sebesar 12,55mm.

FBS dari *L. plantarum D-01*, *L. lactis D-01*, *B. longum Y-01* dan *L. acidophilus Y-01* mampu menghambat ketiga bakteri pathogen *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 25923 dengan menghasilkan zona bening penghambatan di sekitar sumur. Penghambatan terhadap bakteri patogen indikator dapat disebabkan oleh asam organik (Surono, 2004) yang menyebabkan penurunan pH lingkungan tumbuh hingga sekitar 4,0, lebih rendah dari pH optimum bakteri patogen yaitu sekitar 6,5 sampai 7,5. Asam laktat dan asam asetat merupakan salah satu senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh BAL. BAL juga menghasilkan beberapa senyawa yang bersifat antimikroba, diantaranya diasetil, hidrogen peroksid, karbondioksid, dan senyawa protein yang lebih dikenal dengan sebutan bakteriosin (Salminen dan Wright, 1998). BAL juga menghasilkan hidrogen peroksid yang cukup besar, akumulasi senyawa tersebut terdapat di dalam sel dikarenakan BAL tidak menghasilkan enzim katalase. Mekanisme aktivitas penghambatan antimikroba dilakukan dengan cara merusak dinding sel bakteri, menghambat pembentukan dinding sel

yang sedang tumbuh, mengubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrien di dalam sel, denaturasi protein sel serta perusakan sistem metabolisme dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler (Pelczar dan Chan, 2008).

KESIMPULAN

BAL asal dadiyah *L. plantarum D-01* dan *L. lactis D-01*, serta asal olahan susu sapi *B. longum Y-01* dan *L. acidophilus Y-01* teridentifikasi sebagai bakteri probiotik, disebabkan keempat BAL tersebut memiliki ketahanan yang baik dan mampu bertahan hidup di dalam kondisi keasaman lambung dengan pH yang berbeda (2,0; 2,5; 3,2; 7,2), adanya garam empedu 0,3 % *oxgall*, adanya antibiotik amoksisilin dan kloramfenikol, serta menghasilkan senyawa antimikroba yang mampu menphambat pertumbuhan bakteri pathogen indikator *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922 dan *S. aureus* ATCC 25923.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung terselesaikannya penelitian ini dengan baik, khususnya kepada Kemendiknas yang telah membiayai penelitian ini, LPPM dan IPB untuk segala fasilitas yang dapat kami peroleh untuk kelancaran selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Berrada, N., J. F. Lemeland, G. Laroch, P. Thouvenot, & M. Piaia. 1991. *Bifidobacterium* from fermented milks: survival during gastric transit. *J. Dairy Sci.* 74:409–413.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G.H. Fleet & M. Wootton. 2007. Ilmu Pangan. Terjemahan : H. Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia, Jakarta.
- 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.
- Fuller, R. 1997. Probiotics 2 Applications and Practical Aspects. Chapman and Hall, London.

- Jacobsen, C. N., V. R. Nielsen, A. E. Hayford, P. L. Moller, K. F. Michaelsen, A. Paerregaard, B. Sandstro, M. Tvede, & M. Jakobsen. 1999. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 : 4949-4956.
- Liiasi, 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.
- Lin, W. H., C. F. Hwang, L. W. Chen, & H. Y. Tsien. 2006. Viable counts, characteristic evaluation for commercial lactic acid bacteria products. *J. Food Microbiol.* 23: 74-81.
- 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 Kompetensi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mitsuoka, T. 1990. Profile of intestinal bacteria : our lifelong partners. Yakult Honsa co. Ltd.
- Nakazawa, Y. & A. Hosono. 1992. Functions of Fermented Milk : Challenges for The Health Science and Technology. Elsevier Science Publisher B. V., New York.
- Nannen, N. L. & R. W. Hutkins. 1991. Intracellular pH effect in lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 74 : 741-746.
- Pelczar, M.J. & E. C. S Chan. 2008. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1. Terjemahan R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo & S. L. Angka. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Salminen, S. & A. V. Wright. 1998. Lactic Acid Bacteria. Marcell Dekker Inc., New York.
- Salminen, S., A.V. Wright, & A. Ouwehand. 2004. Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects. 3th edition. Revised and Expanded. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Siswandono. 2000. Kimia Medical Edisi Revisi. Airlangga University Press, Surabaya.
- Steel, R. G. D. & J. H. Torrie. 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika. Terjemahan B. Sumantri. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Surono, I. S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. Tri Cipta Karya, Jakarta.
- Susanti, I., R. W. Kusumaningtyas & F. Illaningtyas. 2007. Uji sifat probiotik BAL sebagai kandidat bahan pangan fungsional. *J. Teknol. Industri Pangan.* 13(2).

- Volk, W. A & M. F. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Edisi kelima. PT Gelora Aksara Pratama, Erlangga.
- Widodo, W. 2002. Bioteknologi Fermentasi Susu. Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Wiryawan, K. G., A. S. Tjakradidjaja, R. R. A. Maheswari, & E. D. Janingrum. 2009. Isolasi BAL penghasil antimikroba. Pusat Studi Ilmu Hayati, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Zavaglia, A. G., G. Kociubinski, P. Perez & G. De Antoni. 1998. Isolation and characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. J. Food Protect. 61(7) : 865-873.