

Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Plantarum* C410LI dan *Lactobacillus Rossiae* LS6 yang Diisolasi dari Lemea Rejang terhadap Suhu, pH dan Garam Empedu Berpotensi sebagai Prebiotik

Yenni Okfrianti¹, Darwis², Ayu Pravita³
Poltekkes Kemenkes Bengkulu
yenni79okfrianti@gmail.com

Artikel history

Dikirim, Jun 22nd, 2018

Ditinjau, Aug 21st, 2018

Diterima, Aug 28th, 2018

ABSTRACT

*Based on previous research it was found that lemea (traditional food rejang) was proven to contain 2 types of lactic acid bacteria (BAL) namely *L.aplantarum* C410L1 and *L. crossiae* LS6 which could be probiotic and beneficial for health. The development of lemea as a potential probiotic must be proven its resistance to bile acids and salts as an indication of being able to survive in the gastrointestinal tract. This study aims to determine the resistance of BAL isolated from lemea against low pH, bile acids, and temperature. This research is an experimental study with all research units controlled. Analysis of BAL resistance to high temperatures, low pH, and bile salts was carried out in the Bengkulu Polytechnic Health Polytechnic laboratory. The total BAL colonies increased at 49 ° C and decreased at 64 ° C. The increase in the total number of BAL colonies within 0-30 hours occurred at pH 5 and pH 6. There was no increase or decrease in the total number of BAL colonies in salts 0.30%, 0.60%, and 0.90%. The diisolate lactic acid (BAL) bacteria from lemea have a temperature resistance of 42 ° C to 64 ° C, pH 2 to pH 7, have a salt resistance concentration of 0.30% to 0.90%. Lactic acid bacteria (BAL) which are diisolate from lemea have the potential as probiotics.*

Keywords: salt, pH, temperature, time, lactic acid bacteria

ABSTRAK

Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa lemea (makanan tradisional rejang) terbukti mengandung 2 jenis bakteri asam laktat (BAL) yaitu *L.aplantarum* C410L1 dan *L.rossiae* LS6 yang dapat bersifat probiotik dan bermanfaat untuk kesehatan. Pengembangan lemea sebagai probiotik potensial wajib dibuktikan ketahanannya terhadap asam dan garam empedu sebagai indikasi mampu bertahan hidup dalam saluran cerna. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan BAL yang diisolasi dari lemea terhadap pH rendah, asam empedu, dan suhu. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan semua unit penelitian dikontrol. Analisis ketahanan BAL terhadap suhu tinggi, pH rendah, dan garam

empedu dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Bengkulu. Total koloni BAL mengalami peningkatan pada suhu 49°C dan penurunan pada suhu 64°C. Peningkatan jumlah total koloni BAL dalam waktu 0-30 jam terjadi pada pH 5 dan pH 6. Tidak terjadi peningkatan atau penurunan jumlah total koloni BAL pada garam 0,30 %, 0,60%, maupun 0,90%. Bakteri asam laktat (BAL) yang diisolat dari lemea memiliki ketahanan terhadap suhu 42°C sampai 64°C, pH 2 sampai pH 7, memiliki ketahanan terhadap garam konsentrasi 0,30% sampai 0,90%. Bakteri asam laktat (BAL) yang diisolat dari lemea memiliki potensi sebagai probiotik.

Kata Kunci: garam, pH, suhu, waktu, bakteri asam laktat

PENDAHULUAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah sejenis bakteri gram positif, tidak menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang dan memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama proses fermentasi (Ramesh, 2015). Bakteri asam laktat dapat berfungsi sebagai bakteriosin yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Bakteriosin adalah komponen ekstraseluler berupa *peptide* atau senyawa yang berupa protein antimikroba yang memperlihatkan suatu respon berlawanan terhadap bakteri tertentu (Jagadesswari, 2010). Bakteri asam laktat juga disebut probiotik (Emmawati, 2015).

Probiotik yaitu mikroorganisme hidup yang memberi manfaat kesehatan terhadap inangnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Prinsip kerja probiotik yaitu dengan memanfaatkan kemampuan organism tersebut dalam menguraikan rantai panjang karbohidrat, protein, dan lemak. Kemampuan ini diperoleh karena

adanya enzim-enzim khusus yang dimiliki oleh mikroorganisme untuk memecah ikatan dari molekul kompleks menjadi molekul sederhana sehingga mempermudah penyerapan oleh saluran pencernaan manusia (Williams, 2010).

Bakteri asam laktat (BAL) sebagai sumber probiotik mengandung asam amino pendek yang mampu menurunkan tekanan darah, meningkatkan kekebalan tubuh, dan menghambat kerja enzim pembentuk kolesterol sehingga menurunkan kolesterol tubuh (Beltrán-Barrientos *et al.*, 2016). Manfaat lain adalah kandungan senyawa dalam bakteri asam laktat juga dapat mencegah terjadinya kanker. Bakteri asam laktat banyak terdapat pada produk susu fermentasi (dadih, yoghurt), produk asinan sayur buah, dan produk-produk fermentasi lainnya (Ramesh, 2015).

Manfaat yang bisa diperoleh dari kebiasaan mengkonsumsi probiotik yaitu mampu meningkatkan pertahanan imunitas

nonspesifik. Probiotik dari jenis *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus bulgaricus* diketahui dapat meningkatkan produksi makrofag dan mengaktifkan fagosit baik penelitian pada manusia maupun pada tikus percobaan. Proses fagositosis merupakan respon awal dari sistem pertahanan tubuh sebelum tubuh membentuk antibodi. Fagosit akan menyingkirkan agen-agen toksik yang masuk ke dalam tubuh sehingga dapat menurunkan tekanan darah dan membantu menurunkan kolesterol (Widiyaningsih, 2011).

Bakteri asam laktat merupakan *fastidious organism*, tumbuh dengan baik pada medium kompleks. Asam laktat diproduksi sebagai metabolit primer, sehingga termasuk *growth-associated product*. Produksi Bakteri asam laktat mempunyai hubungan linier dengan laju pertumbuhan. Hal ini menunjukkan bahwa untuk dapat dikatakan probiotik pertumbuhan bakteri asam laktat sangat dipengaruhi oleh komposisi media pertumbuhan dan faktor lingkungannya (Williams, 2010).

Faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan produksi asam laktat adalah pH, suhu dan garam empedu. Setiap spesies bahkan strain dapat memiliki nilai pH dan suhu terbaik yang berbeda untuk pertumbuhan dan produksi asam laktat.

Hal ini ditunjukkan oleh penelitian yang sudah dilakukan oleh Abdel-Rahman *et al* (2013) dan Aghababaie *et al* (2015) pada penelitian ini yakni terdapat pengaruh pH, suhu, dan salisitas terhadap pertumbuhan dan produksi asam laktat 3 jenis isolat bakteri asam laktat pada bahan makanan fermentasi.

Makanan sejenis bekasam dapat ditemukan di Provinsi Bengkulu yakni Lemea. Lemea adalah makanan fermentasi tradisional Suku Rejang yang terbuat dari campuran ikan air tawar dan rebung yang dicacah, selanjutnya difermentasi selama 3-4 hari pada suhu 25,17°C. Lemea mengandung kadar air yang sangat tinggi yakni sebesar 90,87% dan rasa asam yang khas dengan pH 4,55 (Nurutami *et al.*, 2014). Selain itu juga lemea diketahui mengandung bakteri genus *Pediococcus* (Rianti *et al.*, 2014) dengan koloni bakteri sebanyak $118,67 \times 10^4$ koloni /gram (Nurutami *et al.*, 2014).

Pada penelitian tahap 1 yang sudah dilakukan sebelumnya diketahui lemea yang sudah difermentasikan dengan bahan dasar ikan betok mengandung BAL sebanyak $1,7 \times 10^8$ koloni/g dengan diperoleh jenis bakterinya yakni *Lactobacillus plantarum* C410L1 dan *Lactobacillus rosiiiae* LS6. Penelitian sebelumnya yakni untuk membuktikan lemea memiliki potensi sebagai makanan

fermentasi asli Suku Rejang sebagai penghasil *angiotensin converting enzyme* anti hipertensi. Namun pada penelitian ini, belum diteliti secara *in vitro* untuk membuktikan apakah lemea mampu menjadi probiotik. Sehingga perlu diteliti ketahanan BAL pada lemea terhadap suhu, pH rendah dan garam empedu. Beberapa spesies BAL merupakan probiotik yang baik karena dapat bertahan melewati pH lambung yang rendah dan menempel atau melakukan kolonisasi usus. Akibatnya, bakteri jahat di usus akan berkurang karena kalah bersaing dengan BAL.

METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri asam laktat yang diisolat dari produk Lemea (Makanan khas Rejang Lebong). Berikut tahapan penelitian yang dilakukan:

Tahap I : (Ketahanan BAL terhadap Suhu Tinggi)

Sebanyak 1 ml (10^6 CFU/ml) kultur yang telah disegarkan dalam BHI (*Brain Hearth Broth*) selama 24 jam, diatur inkubasinya selama 10, 20 dan 30 menit pada suhu yang meningkat yaitu 37°C , 40°C , 43°C , 46°C , 49°C , 52°C , 55°C , 58°C , 61°C , 64°C , 67°C , 70°C , 73°C , 76°C , 79°C . Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah BAL

dengan menggunakan metode hitungan cawan pada media PCA (*Plate Count Agar*). Semakin banyak penurunan jumlah sel setelah inkubasi maka semakin tidak tahan bakteri tersebut terhadap suhu tinggi (Harmayani dkk, 2009).

Tahap II (Uji Ketahanan BAL terhadap pH Rendah)

Sebanyak 1 ml (10^6 CFU/ml) kultur yang telah disegarkan dalam BHI (*Brain Hearth Broth*) selama 24 jam, diatur inkubasinya selama 0, 5 dan 30 jam pada pH yang meningkat yaitu 2, 3, 4, 5, 6, 7. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah BAL dengan menggunakan metode hitungan cawan pada media PCA (*Plate Count Agar*). Semakin banyak penurunan jumlah sel setelah inkubasi maka semakin tidak tahan bakteri tersebut terhadap pH rendah.

Tahap III (Ketahanan BAL pada Garam Empedu)

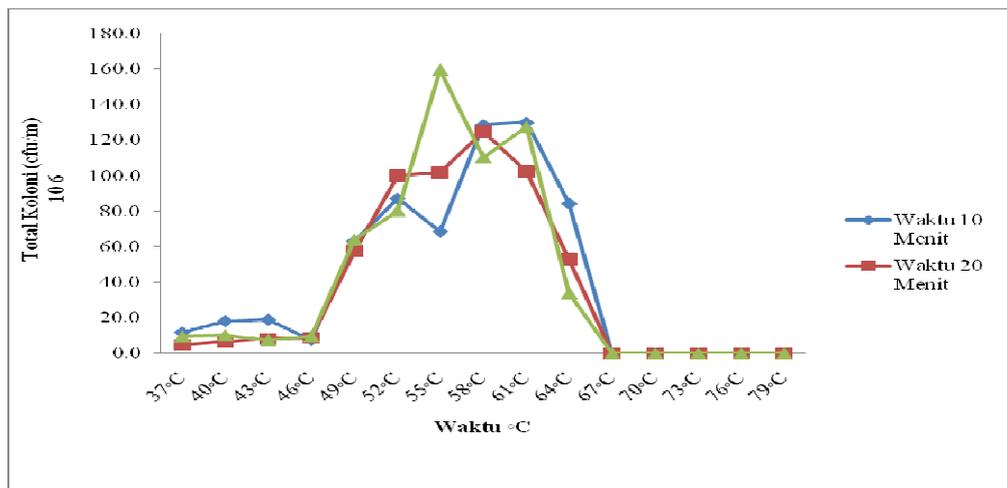
Sebanyak 1 ml (10^6 CFU/ml) kultur yang telah disegarkan dalam BHI (*Brain Hearth Broth*) selama 24 Jam, diatur diinkubasi selama 24 jam pada garam NaCl dengan konsentrasi 0%, 0.3%, 0.6%, dan 0.9 %. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah BAL dengan menggunakan metode hitungan cawan pada media PCA (*Plate Count Agar*). Semakin banyak penurunan

jumlah sel setelah inkubasi maka semakin tidak tahan bakteri tersebut terhadap NaCl.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Identifikasi ketahanan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diisolasi dari *Lemna* terhadap suhu dan waktu

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa adanya peningkatan dan penurunan jumlah koloni BAL pada suhu 49°C sampai 64°C. Pada suhu 49°C terjadi peningkatan total koloni BAL dan terjadi penurunan pada suhu 64°C. Penjelasan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Total Koloni (cfu/ml) 10^6 pada Suhu dan Waktu yang Berbeda

Hal ini menunjukkan suhu berpengaruh terhadap pertumbuhan sel. Menurut Elias *et al* (2014) suhu merupakan faktor fisik yang berpengaruh pada laju pertumbuhan melalui pengaruhnya diantaranya terhadap reaksi kimia dan stabilitas struktur molekul protein. Reaksi kimia akan meningkat dengan meningkatnya suhu karena peningkatan suhu menyebabkan peningkatan energi kinetik reaktan. Pertumbuhan pada hakekatnya adalah hasil metabolisme, suatu reaksi kimia terarah yang berlangsung di dalam sel yang dikatalisis oleh enzim. Maka peningkatan suhu akan menyebabkan peningkatan

pertumbuhan hingga suatu saat peningkatan suhu tidak diikuti dengan meningkatnya pertumbuhan.

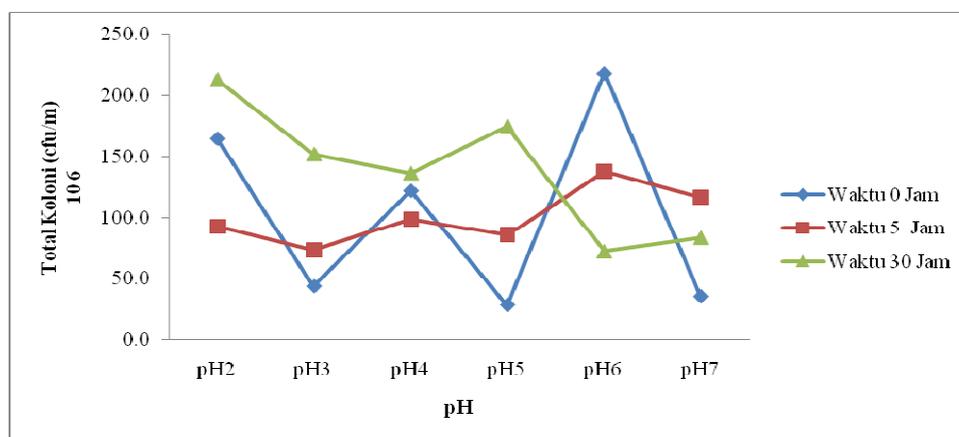
Hal ini berkaitan dengan pengaruh suhu terhadap stabilitas konformasi struktur protein enzim. Selain itu juga diketahui bahwa pada proses metabolisme sel didukung oleh penyediaan nutrisi yang berasal dari luar sel. Proses yang terkait dengan *uptake* nutrisi dengan suhu adalah bahwa molekul-molekul yang berukuran besar harus dihidrolisis terlebih di luar sel. Proses ini dikatalisis oleh enzim ekstraseluler yang aktivitasnya juga dipengaruhi oleh suhu. Selain itu ada

banyak protein membran dan protein dinding sel yang berperan dalam proses *uptake* nutrient yang secara fungsional juga dipengaruhi oleh suhu terutama terkait dengan stabilitas strukturalnya (Subagiyo *et al.*, 2015). Pengaruh suhu terhadap *uptake* nutrient terjadi melalui mekanisme perubahan affinitas mikroorganisme terhadap nutrient. Perubahan ini terjadi karena pengaruh perubahan suhu terhadap karakteristik lipid penyusun membran sel, terutama fluiditas membran, dan sistem energetika transport aktif yang juga terdapat pada sistem membran sehingga akan

menyebabkan gangguan pada transport aktif.

2. Identifikasi ketahanan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang diisolasi dari Lemea terhadap pH dan waktu

Hasil penelitian diketahui bahwa adanya penurunan jumlah total koloni BAL dalam waktu 5 jam pada pH 2, pH 4, pH 6. Penurunan total koloni BAL paling banyak terjadi pada pH 2. Peningkatan jumlah total koloni BAL dalam waktu 0-30 jam terjadi pada pH 5 dan pH 6. Peningkatan paling banyak terjadi pada pH 6 dapat dilihat pada Gambar 2 berikut ini.



Gambar 2. Total Koloni (cfu/ml) 10^6 pada pH dan Waktu yang Berbeda

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Subagiyo *et al.* (2015) yang menunjukkan hasil nilai laju pertumbuhan tertinggi dari tiga isolat uji terjadi pada suhu, pH awal dan salinitas yang berbeda. Isolat L12 tumbuh optimum

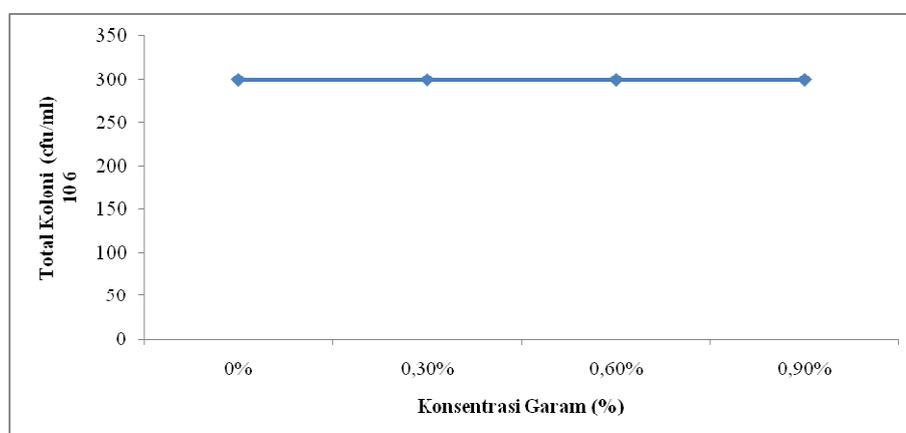
pada suhu 30°C, pH awal 6 dan salinitas 0,75%. Isolat L14 tumbuh optimum pada suhu 30°C, pH awal 6 dan salinitas 1.5%. Isolat L21 tumbuh optimum pada suhu 30°C, pH awal 6 dan salinitas 1.5%.

Nagarjun (2015) melaporkan pH awal optimum untuk produksi asam laktat oleh bakteri *Lactobacillus amylovorus* NRRL B- 4542 adalah 8,5. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan dan produksi asam laktat terjadi diantaranya melalui 2 mekanisme yaitu (1) Penurunan nilai pH akibat akumulasi asam organik mengubah keadaan fisiologis sel. Pengasaman sitoplasmik menyebabkan penghambatan aktivitas enzim, akibatnya fluks katabolik melalui glikolisis berkurang sehingga laju sintesis energi biokimia menurun. Penurunan produksi energi bersamaan dengan peningkatan penggunaan energi untuk mengatasi pengasaman sitoplasma menyebabkan energi untuk sintesis biomassa menjadi terbatas. Dalam kondisi ini, laju pertumbuhan spesifik menurun secara progresif, dan pertumbuhan akhirnya berhenti. Respon seluler terhadap fenomena ini adalah mempertahankan mRNA gen-gen katabolik pada tingkat

yang signifikan, melalui transkripsi gen dan meningkatkan stabilitas transkrip. Jadi translasi dipertahankan dan konsentrasi intraseluler enzim-enzim tertentu ditingkatkan, sebagai kompensasi secara parsial terhadap aktivitas penghambatan akibat penurunan pH (Even *et al.*, 2002) (2) Stres asam laktat mengubah profil ekspresi gen. Hasil penelitian Xie *et al* (2004) menunjukkan terjadi perubahan ekspresi 50 gen akibat stress asam laktat, yaitu 24 gen yang diinduksi dan 26 gen yang lain ditekan.

3. Identifikasi Ketahanan Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Diisolasi dari Lemea terhadap Garam Empedu

Hasil penelitian diketahui bahwa BAL tahan terhadap garam, tidak ada peningkatan atau penurunan jumlah total koloni BAL pada garam 0,30 %, 0,60%, maupun 0,90% dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Total Koloni (cfu/ml) 10^6 pada Konsentrasi Garam yang Berbeda

Pada penelitian tahap 1 yang sudah dilakukan sebelumnya diketahui lemea yang sudah difermentasikan dengan bahan dasar ikan betok mengandung BAL sebanyak 1.7×10^8 koloni/g dengan diperoleh jenis bakterinya yakni *Lactobacillus plantarum* C410L1 dan *Lactobacillus rosiiiae* LS6.

Penelitian yang dilakukan oleh Emmawati *et al* (2015) menunjukkan bahwa bakteri yang tahan terhadap garam 0,50 % dan suhu pH 2 berpotensi sebagai probiotik. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sunaryanto dan Marwoto (2012) telah diperoleh lima isolat *Lactobacillus* DH1, DH2, DH3, DH3, dan DH5 sebagai kandidat probiotik yang diisolasi dari dadih susu kerbau. Hasil identifikasi secara fenotip dan secara molekuler menggunakan 16S rRNA, isolat DH2 teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* dan memiliki karakteristik yang dapat digunakan sebagai kandidat probiotik. Isolat DH2 mampu bertahan hidup sampai dengan pH 2, konsentrasi garam empedu sampai dengan 0,5% (b/v).

Penelitian lain oleh Adawiyah *et al* (2015) menunjukkan bahwa Bakteri Asam Laktat isolat susu sapi asli dangke *L. fermentum* dan *L. acidophilus* memiliki ketahanan garam empedu. Ketahanan Bakteri Asam

Laktat (BAL) terhadap garam empedu merupakan suatu karakteristik yang penting, karena akan berpengaruh pada aktivitas BAL dalam saluran pencernaan, terutama saluran usus bagian atas tempat empedu disekresikan. Empedu bersifat sebagai senyawa aktif permukaan. Sifat ini yang menyebabkan aktifnya enzim lipolitik yang disekresikan pankreas. Enzim lipolitik bereaksi dengan asam lemak pada membran sitoplasma BAL, sehingga mengakibatkan perubahan struktur membran dan sifat permeabilitasnya. Keragaman struktur asam lemak pada membran sitoplasma bakteri menyebabkan perbedaan permeabilitas dan karakteristiknya sehingga mungkin mempengaruhi ketahanannya terhadap garam empedu.

SIMPULAN

Bakteri asam laktat (BAL) yang diisolat dari lemea memiliki ketahanan terhadap suhu 42°C sampai 64°C. Bakteri asam laktat (BAL) yang diisolat dari lemea memiliki ketahanan terhadap pH 2 sampai pH 7. Bakteri asam laktat (BAL) yang diisolat dari lemea memiliki ketahanan terhadap garam konsentasi 0,30% sampai 0,90%.

DAFTAR RUJUKAN

- Abdel-Rahman MA, Tashiro Y, Sonomoto K. 2013. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology Advances* 31: 877–902. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.04.002.
- Adawiyah SR, Hafsan, Nur FMHM. 2015. *Ketahanan bakteri asam laktat asal dangke terhadap garam empedu sebagai kandidat probiotik*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN 164–173.
- Aghababaie M, Khanahmadi M, Beheshti M. 2015. Developing a kinetic model for co-culture of yogurt starter bacteria growth in pH controlled batch fermentation. *Journal of Food Engineering* 166: 72–79. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2015.05.013.
- Beltrán-Barrientos LM, Hernandez A, Mendoza M, Torres-Llanez M. 2016. Invited review: Fermented milk as antihypertensive functional food. *Journal of Dairy Science* 99: 4099–4110. DOI: 10.3168/jds.2015-10054.
- Elias M, Wiczorek G, Rosenne S. 2014. The universality of enzymatic rate-temperature dependency. *Trends in Biochemical Sciences* 39: 1–7. DOI: 10.1016/j.tibs.2013.11.001.
- Emmawati A, Laksmi B, Nuraida L. 2015. Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolates from Mandai Function as Probiotic. *Jurnal Agritech* 35: 146. DOI: 10.22146/agritech.9400.
- Even S, Lindley N, Loubiere P. 2002. Dynamic response of catabolic pathways to autoacidification in *Lactococcus lactis*: Transcript profiling and stability in relation to metabolic and energetic constraints. *Molecular Microbiology* 45: 1143–1152. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.03086.x.
- Harmayani E, Ngatirah, Rahayu E. 2009. Ketahanan dan Viabilitas Probiotik Bakteri Asam Laktat Selama Proses Pembuatan Kultur Kering dengan Metode Freeze dan Spray Drying. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan* 7: 126–132.
- Jagadesswari S, Vidya P. 2010. Isolation and Characterization of Bacteriocin Producing *Lactobacillus* sp. From Traditional Fermented Food. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry* 9: 575-581
- Nagarjun PA. 2015. Parametric optimization of lactic acid production and its scale up using free and immobilized cells of *Lactobacillus amylovorus* NRRL B- 4542. *International Journal Bioscience* 3: 159–168. DOI: 10.18782/2320-7051.2124
- Ramesh C, Ray DM. 2015. *Food Biology Series*. 108–109. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Subagiyo S, Margino S, Triyanto, Setyati WA. 2015. Effects of pH, temperature and salinity in growth and organic acid production of lactic acid bacteria isolated from penaeid shrimp intestine. *Indonesian Journal of Marine Sciences* 20: 187. DOI: 10.14710/ik.ijms.20.4.187-194.
- Sunaryanto R, Marwoto B. 2012. Isolasi, identifikasi, dan karakterisasi bakteri asam laktat dari dadih susu kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* 14: 228–233.
- Widiyaningsih EN. 2011. Peran Probiotik

Untuk Kesehatan. *Jurnal Kesehatan* 4: 14–20.

Williams NT. 2010. Probiotics. *American Journal Of Health-System Pharmacy: AJHP: Official Journal Of The American Society Of Health-System Pharmacists* 67: 449–458. DOI: 10.2146/ajhp090168.

Xie Y, Chou L, Cutler A. 2004. DNA microarray profiling of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL1403 gene expression during environmental stresses. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 6738–6747. DOI: 10.1128/AEM.70.11.6738-6747.2004.