

J6

by Jurnal Scan

Submission date: 02-Nov-2019 10:52AM (UTC+0700)

Submission ID: 1205379166

File name: Fullpaper_Elysabet-Semnas.doc (129.5K)

Word count: 1930

Character count: 11728

**Uji Ketahanan terhadap pH Asam dan Garam Empedu
pada Bakteri Indigenous Buah Kawista (*Feronia limonia*) sebagai Kandidat Bakteri Probiotik**

Elysabet Herawati*

Prodi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusantara PGRI Kediri
Jl. K.H. Achmad Dahlan no 76, Kediri, Jawa Timur
*herawati.elisabet@yahoo.co.id

ABSTRAK

Bidang kesehatan telah mengembangkan suatu cara untuk menjaga kesehatan pencernaan, salah satunya dengan konsumsi produk probiotik. Kawista (*Feronia limonia*) merupakan tanaman suku jeruk-jerukan (*Rutaceae*) yang berpotensi sebagai tanaman obat. Bakteri indigenous asam laktat diduga dapat mempengaruhi mutu produk fermentasi termasuk fermentasi alami pada buah. Manfaat bakteri asam laktat sebagai probiotik akan dapat dirasakan apabila kultur dikonsumsi dalam keadaan hidup dan dapat bertahan pada saluran pencernaan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji ketahanan bakteri asam laktat indigenous buah kawista terhadap pH asam dan garam empedu sehingga dapat dijadikan kandidat bakteri probiotik. Isolasi bakteri indigenous genus *Lactobacillus* dari buah kawista matangnya digunakan diberi label M-S7(8). Analisis molekuler gen 16S rRNA dan rekonstruksi pohon filogenetik menunjukkan isolat M-S7(8) memiliki kekerabatan dekat dengan spesies *Lactobacillus paracasei* dan *Lactobacillus casei*. Uji ketahanan terhadap pH asam dilakukan pada 1 mL kultur isolat bakteri asam laktat berumur 48 jam yang diinokulasi pada medium kaldu MRS steril dengan pH 2. Pada jam ke-0, ke-3 dan ke-6 dilakukan perhitungan jumlah sel menggunakan metode *Total Plate Count* dengan medium agar MRS secara *pour plate*. Hasil pengujian terhadap pH rendah (pH 2) menunjukkan isolat M-S7(8) memiliki ketahanan yang baik sampai jam ke-6, ditunjukkan dengan penurunan jumlah isolat tidak lebih dari 3 unit log/mL. Uji ketahanan terhadap garam empedu dilakukan pada 1 mL kultur isolat bakteri asam laktat berumur 48 jam diinokulasi pada medium kaldu MRS steril yang mengandung garam empedu sebesar 0,3% (w/v). Pada jam ke-0 dan ke-4 dilakukan perhitungan jumlah sel menggunakan metode *Total Plate Count* dengan medium agar MRS secara *pour plate*. Ketahanan terhadap garam empedu (*Bile Salt* 0,3%) ditunjukkan dengan penurunan jumlah isolat M-S7(8) tidak lebih dari 3 unit log/mL setelah inkubasi 4 jam. Berdasarkan hasil uji ketahanan terhadap pH asam dan garam empedu, maka isolat M-S7(8) dinyatakan memenuhi salah satu syarat sebagai kandidat bakteri probiotik.

Kata kunci : bakteri indigenous, bakteri probiotik, buah kawista

PENDAHULUAN

Kawista atau *Feronia limonia* merupakan jenis tanaman yang termasuk suku jeruk-jerukan (*Rutaceae*) dan berpotensi sebagai tanaman obat [1]. Makanan dan minuman probiotik dipercaya dapat mencegah penyakit jantung koroner, diare dan gangguan pencernaan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sayur dan buah yang difermentasi dengan bakteri asam laktat indigenous sangat berpotensi sebagai minuman probiotik [2]. Salah satu bakteri indigenous yang sering ditemukan pada produk fermentasi buah dan sayuran adalah golongan bakteri *Lactobacillus* [3]. Pada umumnya, mikroba yang digunakan sebagai probiotik bersifat non patogenik dan telah diuji melalui serangkaian uji *in vitro*, *in vivo*, sampai uji klinik, sehingga diharapkan tidak akan menimbulkan efek samping bagi orang yang mengkonsumsinya. Manfaat bakteri asam laktat sebagai probiotik akan dapat dirasakan apabila kultur dikonsumsi dalam keadaan hidup dan dapat bertahan pada saluran pencernaan [4]. Penelitian ini bertujuan untuk menguji ketahanan bakteri asam laktat indigenous buah kawista terhadap pH asam dan garam empedu sehingga dapat dijadikan kandidat bakteri probiotik. Manfaat dari penelitian adalah harapan pengembangan buah kawista sebagai minuman probiotik apabila bakteri indigenous berpotensi sebagai bakteri probiotik yang layak.

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Instruksional I, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah erlenmeyer, gelas kimia 500 mL, inkubator 37°C, autoklaf, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikropipet, gelas ukur 100 mL, gelas ukur 10 mL, cawan petri, batang L, *microtube*, batang pengaduk, jarum ose, kulkas, *hotplate*, timbangan, spatula, bunsen, dan pH meter.

Bahan utama dalam penelitian ini adalah isolat bakteri asam laktat indigenous buah kawista dengan label M-S7(8). Bahan lain yang digunakan adalah alkohol 96%, alkohol 70%, spiritus, aquades, medium MRS (deMan, Rogosa and Sharpe), Na asetat, glukosa, *yeast extract*, bacto agar, plastik tahan panas, karet,

korek api, aluminium foil, kapas lemak, kertas saring, dan kain kasa. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah NaOH 0,1 N dan HCl untuk mengatur pH medium, buffer pH 4 dan pH 7 untuk mengatur standar pH meter, *bile salt*, dan H₂SO₄ pekat.

C. Prosedur Kerja

Identifikasi isolat bakteri

Identifikasi dilakukan pada isolat indigenous buah kawista dengan label M-S7(8). Identifikasi gen 16S rRNA menggunakan metode PCR yang dilanjutkan dengan proses sekuensing. Hasil sekuensing diolah dengan program Bioedit. Hasil pengolahan data dari Bioedit dikonfirmasi kemiripannya dengan program NCBI Blast. Kemudian dibuat konstruksi pohon filogeninya menggunakan *software* MEGA-6 untuk mengetahui kekerabatan isolat bakteri dengan bakteri yang sudah pernah diidentifikasi.

Uji ketahanan isolat terhadap pH asam (pH 2)

Uji ketahanan isolat terpilih terhadap pH asam (pH 2) sesuai prosedur Ngatirah dkk.[5]. Sebanyak 1 mL kultur isolat bakteri asam laktat dalam medium kaldu MRS berumur 48 jam diinokulasi pada medium kaldu MRS steril dengan pH 2. Untuk menyesuaikan pH medium, digunakan HCl 37%. Kultur pada pH 2 kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 6 jam. Pada jam ke-0, ke-3 dan ke-6 dilakukan perhitungan jumlah sel menggunakan metode *Total Plate Count* dengan medium agar MRS secara *pour plate*. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

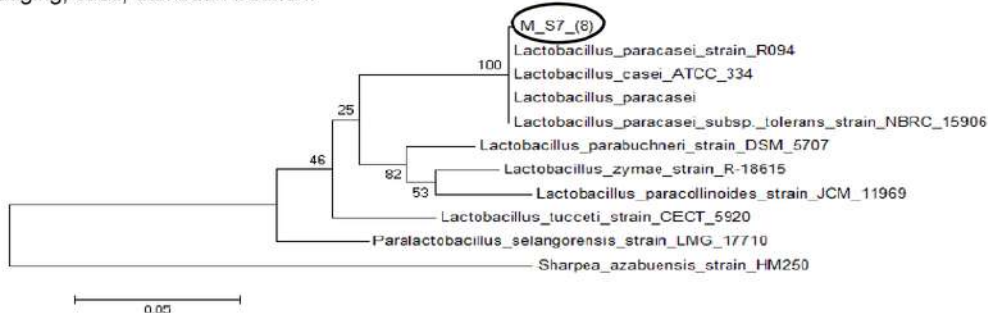
Uji ketahanan isolat terhadap garam empedu (*bile salt* 0,3%)

Uji ketahanan isolat terpilih terhadap garam empedu (*bile salt* 3%) sesuai prosedur Ngatirah dkk.[5]. Sebanyak 1 mL kultur isolat bakteri asam laktat dalam medium kaldu MRS berumur 48 jam diinokulasi pada medium kaldu MRS steril yang mengandung garam empedu sebesar 0,3% (w/v). Kultur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam. Pada jam ke-0 dan ke-4 dilakukan perhitungan jumlah sel menggunakan metode *Total Plate Count* dengan medium agar MRS secara *pour plate*. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C, kemudian dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi isolat bakteri terpilih

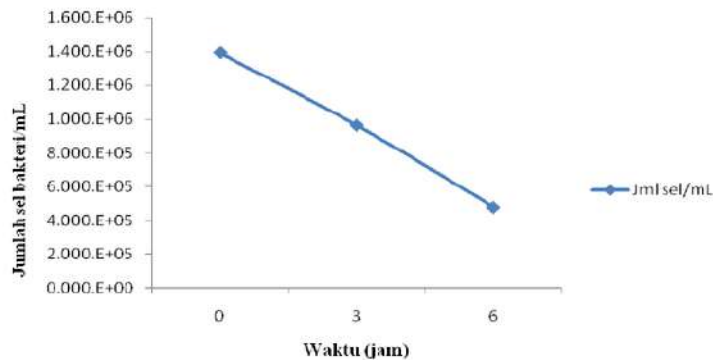
Berdasarkan pohon filogeni dari Gambar 1 diketahui bahwa isolat M-S7(8) memiliki kekerabatan dengan bakteri *Lactobacillus paracasei* dan *Lactobacillus casei*. Kehadiran bakteri genus *Lactobacillus* pada buah kawista, sesuai dengan penelitian yang pernah dilakukan oleh Napitupulu dkk. [6], bahwa *Lactobacillus* termasuk golongan bakteri asam laktat yang sering dijumpai pada makanan fermentasi, produk olahan ikan, daging, susu, dan buah-buahan.



Gambar 1. Pohon filogeni isolat M-S7(8)

Uji ketahanan isolat M-S7(8) terhadap pH asam (pH 2)

Hasil pengujian terhadap pH rendah (pH 2) menunjukkan isolat M-S7(8) masih memiliki ketahanan yang baik sampai jam ke-6. Pernyataan tersebut dibuktikan dalam Tabel 1 dan Gambar 2. Ketahanan terhadap pH rendah yang baik ditunjukkan dengan penurunan jumlah isolat tidak lebih dari 3 unit log/mL [7]. Secara umum, isolat BAL umumnya pada pH 2 mengalami penurunan jumlah koloni yang paling tinggi yaitu berkisar antara 3,2 unit log/mL sampai dengan 5,5 unit log/mL [8]. Hasil yang diperoleh ini sesuai penelitian lain yang menunjukkan bahwa bakteri asam laktat terutama genus *Lactobacillus* termasuk bakteri yang paling tahan terhadap kondisi asam [9].



Gambar 2. Hasil uji ketahanan isolat M-S7(8) pada pH asam (pH 2) dengan waktu inkubasi 6 jam

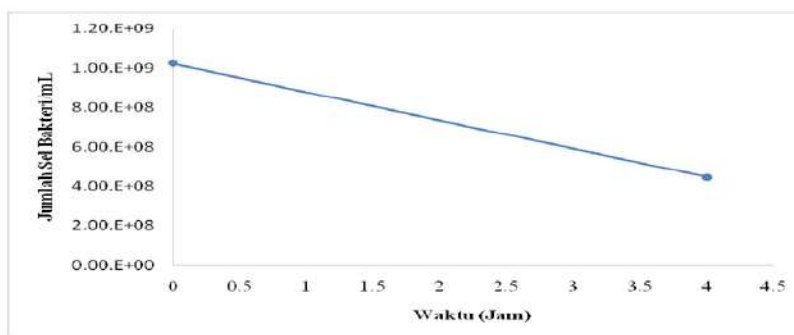
Tabel 1. Hasil uji ketahanan isolat M-S7(8) terhadap pH rendah (pH 2)

Waktu (Jam)	Jumlah Bakteri			Rata-rata	FP	Jumlah sel/mL	Log Jumlah sel
0	157	138	123	139.33	1.E+04	1.39.E+06	6,14
3	103	89	97	96.33	1.E+04	9.63.E+05	5,98
6	67	78	58	67.67	1.E+04	4.67.E+05	5,68

Sebagian besar bakteri asam laktat akan tumbuh lebih lambat pada pH rendah, dan juga bisa mengalami kerusakan dan hilangnya viabilitas sel. Kondisi toleran negatif dari bakteri terhadap lingkungan asam tergantung strain bakteri tersebut [7]. Kondisi yang sangat asam dapat menyebabkan kerusakan membran sel dan lepasnya komponen intraseluler sehingga berakibat kematian sel. Bakteri yang tahan asam memiliki ketahanan yang besar terhadap kerusakan membran [9].

Uji ketahanan isolat M-S7(8) terhadap garam empedu (*bile salt* 0,3%)

Ketahanan terhadap garam empedu (*Bile Salt* 0,3%) ditunjukkan dengan penurunan jumlah isolat tidak lebih dari 3 unit log/mL setelah inkubasi 4 jam. Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian Susanti dkk. [7] yang menyatakan pengujian beberapa strain bakteri asam laktat terhadap garam empedu (*Bile Salt* 0,3%) hanya mengalami penurunan kurang dari 1 log/mL. Isolat M-S7(8) juga tidak mengalami penurunan lebih dari 3 unit log/mL setelah inkubasi 4 jam. Pernyataan ini dibuktikan pada Tabel 2 dan Gambar 3.



Gambar 3. Hasil uji ketahanan isolat M-S7(8) pada garam empedu (*bile salt* 0,3%) dengan waktu inkubasi 4 jam

Tabel IV.2 Hasil uji ketahanan isolat M-S7(8) terhadap garam empedu (*bile salt* 0,3%)

Waktu (jam)	Jumlah Bakteri			Rata-Rata	FP	Jumlahsel/mL	Log Jumlah Sel
0	107	102	98	102.33	1.E+07	1.02.E+09	9,01
4	59	40	35	44.67	1.E+07	4.47E+08	8,65

Karakteristik isolat yang diuji berpotensi sebagai probiotik karena tahan terhadap garam empedu usus halus, sehingga dapat bertahan dalam usus besar [10]. Kemampuan bertahan dalam konsentrasi garam empedu ini juga berkaitan dengan kemampuan isolat menghasilkan *Bile Salt Hydrolase* (BSH). Beberapa *Lactobacillus* mempunyai enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) dengan aktivitas untuk menghidrolisa garam empedu, sehingga mampu mengubah sifat fisika-kimia yang dimiliki oleh garam empedu menjadi tidak toksik bagi bakteri asam laktat [11]. Garam empedu mempengaruhi permeabilitas sel bakteri. Sel bakteri asam laktat yang tahan terhadap garam empedu, bila diinkubasi dalam media yang mengandung *Bile Salt* 0,3% masih terjadi pertumbuhan dan tidak terjadi lisis, namun mengalami sedikit kebocoran materi intraseluler [12].

SIMPULAN

Isolat M-S7(8) merupakan bakteri indigenous buah kawista yang berpotensi sebagai kandidat bakteri probiotik. Hal ini ditunjukkan dengan hasil uji ketahanan terhadap pH asam (pH 2) dan garam empedu, yakni penurunan tidak lebih dari 3 unit log/mL selama waktu pengujian.

SARAN

Perlu dilakukan optimasi terhadap isolat M-S7(8) sehingga dapat dijadikan starter yang baik dalam pembuatan minuman probiotik kawista.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Ibu Dr. Pingkan Aditiawati dari KK Bioteknologi Mikroba Institut Teknologi Bandung sebagai Pembimbing Penelitian atas waktu, support dan bimbingan selama proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ilango dan Chitra, 2009, Wound Healing and Anti-oxidant Activities of the Fruit Pulp of *Limonia acidissima* Linn (Rutaceae) in Rats, *Tropical Jurnal of Pharmaceutical Research*, Vol. 9, Ed.3, hal 223-230.
- [2] Indarayati, Sri, 2011, Potensi Fermentatif Mikroflora Indigenous Pulp Tiga Varietas Kakao (*Theobroma cacao*, L.) di Sumatera Barat, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang,.
- [3] Fitriyani, Ida, 2010, Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Matang yang Berpotensi Menghasilkan Antimikroba, *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Yogyakarta.
- [4] Puspawati, N.N., Nuraida, L., dan Adawiyah, D. R., 2010, Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung Untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Air Susu Ibu pada Proses Pengeringan Beku. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol. 21, Ed.1, hal 60-65.
- [5] Ngatirah, Harmayani, E., dan Tyas, U., 2000, Seleksi Bakteri Asam Laktat Agenia Probiotik yang Berpotensi Menurunkan Kolesterol. *Seminar Nasional Industri Pangan*. PATPI, Surabaya, 10-11 Oktober.
- [6] Napitupulu, N.R., Kanti, A., Yulinery, T., Hardiningsih, R., dan Julistiono, H., 1997, DNA Plasmid *Lactobacillus* Asal Makanan Fermentasi Tradisional yang Berpotensi dalam Pengembangan Sistem Inang Vektor untuk Bioteknologi Pangan, *Jurnal Mikrobiologi Tropis*, Vol. 1, hal 91-96.
- [7] Susanti, Kusumaningtyas, dan Illanningtyas, 2007, Uji Sifat Probiotik Bakteri Asam Laktat sebagai Kandidat Bahan Pangan Fungsional, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vol. 18, Ed. 2, hal 90-99.
- [8] Mujnisa, A., Rotib, L.A., Djide, N., dan Natsir, A., 2013, Ketahanan Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi dari Feses Broiler terhadap Kondisi Saluran Pencernaan Broiler, *JITP*, Vol. 2, Ed.3, hal 152-158.
- [9] Russel, J.B. dan Gonzales, D., 1998, The Effects of Fermentation Acids on Bacterial Growth. *Advances Microbe Physiology*, Vol. 39, hal 205-234.
- [10] Evanikastri, 2003, Isolat dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Sampel Klinik yang Berpotensi sebagai Probiotik. *Tesis*. Program Studi Ilmu Pangan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- [11] Halim, C. N., dan Zubaidah, E., 2013, Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*), *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Vol. 1, Ed. 1, hal 129-137.
- [12] Surono, I., 2004, *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*, Vol. 7, Ed.2, PT.Zitri Cipta Karya, Jakarta.

ORIGINALITY REPORT



MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

1%

★ e-journal.uajy.ac.id

Internet Source

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off