

JURNAL BIOLOGI

(JOURNAL OF BIOLOGY)

VOL. 19 NO. 1 JUNI 2015

KETAHANAN *Lactobacillus* sp. ISOLAT SUSU KUDA SUMBAWA
TERHADAP pH RENDAH DAN ASAM DEOKSIKOLAT SERTA KEMAMPUANNYA
MENTRANSFORMASI ASAM KOLAT MENJADI ASAM DEOKSIKOLAT

I Gusti Agung Gde Bayu Wirama, Yan Ramona, Cok Istri Sri Arisanti

AKTIVITAS MENDAPATKAN MAKAN MONYET EKOR PANJANG (*Macaca fascicularis* Raffles)
DI DESTINASI WISATA PURA LUHUR ULUWATU, BALI

Ni Made Dewi Wahyuni, A. A Gde Raka Dalem, I Ketut Ginantra

KERAGAMAN GENETIK IKAN CAKALANG (*Katsuwonus pelamis*)
DARI KABUPATEN JEMBRANA DAN KARANGASEM, BALI

Fakhrurrazi Fakhri, Inna Narayani, I.G.Ngurah Kade Mahardika

TOKSISITAS DETERGEN DAN PEWARNA KAIN SINTETIS
TERHADAP ANGGANG-ANGGANG (*Gerris marginatus*)

I.K. Putra Juliantara, Ni Lub Watimiasih, I Wayan Kasa

KUALITAS DAN KUANTITAS DNA DARAH KERING PADA BESI
DAN KAYU YANG DISIMPAN DALAM KURUN WAKTU BERBEDA

Ni Putu Puniari Eka Putri, I Ketut Junitha

UJI AKTIVITAS EKSTRAK REBUNG BAMBU TABAH (*Gigantochloa nigrociliata* BUSE-KURZ)
TERHADAP PERILAKU KAWIN MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.)

A.A. Istri Mas Padmiswari, A.A.S.A. Sukmaningsih K., Ni Putu Adriani Astiti

PENGARUH MEDIA TERHADAP PERTUMBUHAN
DAN BIOMASSA CENDAWAN *Alternaria alternata* (Fries) Keissler

Pinky Prabara Taurisia, Meitini W. Proborini, Irsan Nuhantoro

KEKAYAAN SPESIES BURUNG DI WILAYAH DESA BUAHAN, KECAMATAN KINTAMANI,
KABUPATEN BANGLI DAN DI HUTAN HUJAN DATARAN TINGGI SEKITARNYA

I Kadek Teguh Indra Dewantara, Ni Lub Watimiasih, I Nengah Nuyana

RASIO JENIS KELAMIN PADA KELAHIRAN ANTARA BULAN DESEMBER 2010 SAMPAI NOVEMBER
2012 DI RSUD WANGAYA, DENPASAR DAN RSUD BANGLI, BANGLI DI PROVINSI BALI

Victor Peter Poli, I Ketut Junitha, Ni Made Rai Suarni

KANDUNGAN FITOKIMIA EKSTRAK DAUN KAMBOJA (*Plumeria* sp.) DAN PENGARUHNYA
TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* var. *Amarum*)

Putu Yayun Antari Budaya, Ni Putu Adriani Astiti, Eniek Kriswiyanti

PENERBIT JURUSAN BIOLOGI FAKULTAS MIPA
UNIVERSITAS UDAYANA

JURNAL BIOLOGI (JOURNAL OF BIOLOGY)

VOL. 19 NO. 1 JUNI 2015

KETAHANAN <i>Lactobacillus</i> sp. ISOLAT SUSU KUDA SUMBAWA TERHADAP pH RENDAH DAN ASAM DEOKSIKOLAT SERTA KEMAMPUANNYA MENTRANSFORMASI ASAM KOLAT MENJADI ASAM DEOKSIKOLAT <i>I Gusti Agung Gde Bayu Wirama, Yan Ramona, Cok Istri Sri Arisanti</i>	1
AKTIVITAS MENDAPATKAN MAKAN MONYET EKOR PANJANG (<i>Macaca fascicularis</i> Raffles) DI DESTINASI WISATA PURA LUHUR ULUWATU, BALI <i>Ni Made Dewi Wahyuni, A. A Gde Raka Dalem, I Ketut Ginantra</i>	6
KERAGAMAN GENETIK IKAN CAKALANG (<i>Katsuwonus pelamis</i>) DARI KABUPATEN JEMBRANA DAN KARANGASEM, BALI <i>Fakhrurrasi Fakhri, Inna Narayani, I.G.Ngurah Kade Mahardika</i>	11
TOKSISITAS DETERGEN DAN PEWARNA KAIN SINTETIS TERHADAP ANGGANG-ANGGANG (<i>Gerris marginatus</i>) <i>I K. Putra Juliantara, Ni Luh Watiniasih, I Wayan Kasa</i>	15
KUALITAS DAN KUANTITAS DNA DARAH KERING PADA BESI DAN KAYU YANG DISIMPAN DALAM KURUN WAKTU BERBEDA <i>Ni Putu Puniari Eka Putri, I Ketut Junitha</i>	21
UJI AKTIVITAS EKSTRAK REBUNG BAMBUS TABAH (<i>Gigantochloa nigrociliata</i> BUSE-KURZ) TERHADAP PERILAKU KAWIN MENCIT JANTAN (<i>Mus musculus</i> L.) <i>A.A. Istri Mas Padmiswari, A.A.S.A. Sukmaningsih K., Ni Putu Adriani Astiti</i>	25
PENGARUH MEDIA TERHADAP PERTUMBUHAN DAN BIOMASSA CENDAWAN <i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler <i>Pinky Prahara Taurisia, Meitini W. Proborini, Irsan Nuhantoro</i>	30
KEKAYAAN SPESIES BURUNG DI WILAYAH DESA BUAHAN, KECAMATAN KINTAMANI, KABUPATEN BANGLI DAN DI HUTAN HUJAN DATARAN TINGGI SEKITARNYA <i>I Kadek Teguh Indra Dewantara, Ni Luh Watiniasih, I Nengah Nuyana</i>	34
RASIO JENIS KELAMIN PADA KELAHIRAN ANTARA BULAN DESEMBER 2010 SAMPAI NOVEMBER 2012 DI RSUD WANGAYA, DENPASAR DAN RSUD BANGLI, BANGLI DI PROVINSI BALI <i>Victor Peter Poli, I Ketut Junitha, Ni Made Rai Suarni</i>	39
KANDUNGAN FITOKIMIA EKSTRAK DAUN KAMBOJA (<i>Plumeria</i> sp.) DAN PENGARUHNYA TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAHE EMPRIT (<i>Zingiber officinale</i> var. <i>Amarum</i>) <i>Putu Yayun Antari Budaya, Ni Putu Adriani Astiti, Eniek Kriswiyanti</i>	44

JURNAL BIOLOGI

PIMPINAN REDAKSI

Ni Luh Watiniasih (~2015)

SEKRETARIS

Ni Made Suartini

BENDAHARA

A.A.S.A. Sukmaningsih K

EDITOR AHLI

Yan Ramona (Mikrobiologi)
Made Ria Defiani (Botani)
Ida Ayu Astarini (Genetika dan Molekuler)
Inna Narayani (Zoologi)
Deny Suhernawan Y (Ekologi)

EDITOR TEKNIK

Retno Rawuri
Iriani Setyawati
Ni Made Susun Parwanayoni

DISTRIBUTOR

Ngurah Intan Wiratmini

ADMINISTRASI

Putu Ariwati

Jurnal Biologi, (ISSN 1410 5292) diterbitkan oleh Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana, sebagai wahana informasi ilmiah bidang hayati berupa hasil penelitian maupun kajian pustaka dan kajian buku.

Pemasukan naskah

Redaksi menerima naskah dari dosen, peneliti, mahasiswa maupun praktisi dengan ketentuan penulisan seperti tercantum pada bagian belakang jurnal ini.

Langganan

Jurnal Biologi terbit dua nomor dalam satu tahun (Juni dan Desember). Langganan untuk satu tahun (termasuk ongkos kirim) adalah sebagai berikut:

1. Lembaga/instansi: Rp. 125.000,- (seratus dua puluh lima ribu rupiah)
2. Individu/pribadi: Rp. 75.000,- (tujuh puluh lima ribu rupiah)
3. Mahasiswa: Rp. 30.000,- (tiga puluh ribu rupiah)

Pembayaran Berlangsung dapat dilakukan dengan cara : a) pembayaran langsung, b) wesel, atau transfer ke no Rek.:0017-01-009881-50-7 (BRI Cabang Denpasar)

Salinan bukti pembayaran (b dan c) mohon dikirimkan ke redaksi. Mahasiswa harus melampirkan salinan kartu mahasiswa/surat keterangan dari perguruan tinggi/institut.

Alamat Redaksi

Jurusan Biologi FMIPA Unud
Kampus Bukit Jimbaran
E-mail: jbiounud@yahoo.com

KETAHANAN *Lactobacillus* sp. ISOLAT SUSU KUDA SUMBAWA TERHADAP pH RENDAH DAN ASAM DEOKSIKOLAT SERTA KEMAMPUANNYA MENTRANSFORMASI ASAM KOLAT MENJADI ASAM DEOKSIKOLAT

THE RESISTANCE OF *Lactobacillus* sp. ISOLATE FROM SUMBAWA MARE MILK TO THE LOW pH AND THE DEOXICOLIC ACID AND ITS ABILITY TO TRANSFORM COLIC ACID BECOME DEOXICOLIC ACID

I GUSTI AGUNG GDE BAYU WIRAMA¹, YAN RAMONA^{2,3}, COK ISTRI SRI ARISANTI⁴

¹ Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana

² UPT Laboratorium Terpadu Biosain dan Bioteknologi, Universitas Udayana

³ Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana

Email: bayuwirama@yahoo.com

INTISARI

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ketahanan dari 20 isolat *Lactobacillus* sp., yang sebelumnya diisolasi dari susu kuda Sumbawa, terhadap pH rendah dan NaDC konsentrasi tinggi. Kemampuan isolat tersebut untuk mengubah CA ke DCA juga diamati pada penelitian ini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 11 strain dapat bertahan hidup dalam medium yang mengandung 0,6 mM NaDC pH 2 atau pH 3. Semua strain tahan hidup pada medium pH 4 yang mengandung 0,2 mM NaDC. Pada uji biotransformasi yang dilakukan pada 5 strain yang paling potensial berdasarkan uji ketahanan asam dan NaDC, menunjukkan bahwa tidak satupun strain-strain uji tersebut melakukan biotransformasi CA menjadi DCA, dan hal ini menunjukkan bahwa isolat-isolat tersebut berpotensi untuk dikembangkan menjadi probiotik.

Kata kunci: probiotik, Lactobacillus, pH rendah, DCA, biotransformasi.

ABSTRACT

The objective of this research was to investigate the resistance properties of 20 isolates of *Lactobacillus* sp., previously isolated from sumbawa mare milk, at low pH level and high concentration of NaDC. The ability of these isolates to convert CA to DCA was also investigated before being developed into local potential probiotics. The results showed that 11 strains were found to be survive in the medium containing 0.6 mM NaDC at pH 2 or 3. All strains were resistant to pH 4 in the medium containing 0.2 mM NaDC. The biotransformation test (conducted to 5 most potential isolates) found that none of those isolates converted CA into DCA, indicating that they are potential to be developed as probiotics.

Keywords: probiotics, Lactobacillus, low pH, DCA, biotransformation.

PENDAHULUAN

Lactobacillus merupakan bakteri yang paling umum digunakan sebagai probiotik (Carr *et al.*, 2002). Bakteri ini memiliki kemampuan beradaptasi pada kondisi asam lambung dan lingkungan usus yang mengandung garam empedu (Yulinery *et al.*, 2006). Sebelum dikembangkan menjadi probiotik, suatu strain *Lactobacillus* yang dianggap potensial harus melewati berbagai macam uji, seperti ketahanan terhadap lingkungan pH rendah, uji ketahanan terhadap NaDC konsentrasi tinggi, dan uji biotransformasi asam kolat menjadi asam deoksikolat (Sujaya *et al.*, 2008).

Tujuan dilakukannya uji ketahanan adalah untuk memastikan bakteri *Lactobacillus* spp. yang akan dikembangkan menjadi probiotik tersebut mampu bertahan pada lingkungan saluran pencernaan bagian atas yang dimulai dari kondisi asam pada lambung

sampai interaksi dengan asam empedu pada usus halus, sehingga kerapatan selnya mencapai jumlah optimal pada saat mencapai usus besar atau kolon. Sementara itu, uji keamanan ditujukan untuk menghindari terjadinya efek negatif (seperti kanker kolon) akibat mengkonsumsi probiotik.

Pada penelitian ini, bakteri kandidat probiotik yang diisolasi dari susu kuda liar diteliti sifat resistennya pada lingkungan pH rendah dengan kehadiran NaDC serta kemampuannya dalam biotransformasi asam kolat menjadi asam deoksikolat.

MATERI DAN METODE

Penyegaran Isolat *Lactobacillus* sp.

Biakan murni (sebanyak 20 isolat) dari stok kultur beku isolat Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus* sp. yang disimpan dalam gliserol pada temperatur -20°C

disuspensikan sebanyak 1 Ose pada 5 mL medium *MRS Broth* steril, diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 48 jam, dan *distreak for single colony* pada media *MRS* agar. Koloni yang terpisah kemudian diinokulasikan ke dalam 5 mL *MRS Broth*, diinkubasi pada temperatur 37°C selama 48 jam, dan sebelum dipergunakan dalam penelitian ini, dilakukan konfirmasi kebenaran spesies yang dipakai selama penelitian (Sujaya *et al.*, 2008). Beberapa karakteristik penting dari bakteri uji, seperti pewarnaan Gram, uji katalase dan uji produksi gas dari metabolisme glukosa dikonfirmasi menggunakan metode yang tertera pada Sujaya *et al.* (2008).

Uji Ketahanan *Lactobacillus* terhadap pH Rendah

Biakan murni isolat *Lactobacillus* sp. disuspensikan ke dalam 5 mL *MRS Broth* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian, sebanyak 100 µL kultur bakteri ini dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* yang sudah berisi 900 µL media *MRS Broth* pH 2, 3 atau 4, diinkubasi selama 3 jam pada *water bath* pada suhu 37°C, disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit, dan supernatannya dibuang. Selanjutnya, pellet yang diperoleh dicuci sebanyak 3 kali dengan cara mensuspensikan pellet tersebut dengan 300 µL salin, divortex dan disentrifugasi kembali selama 5 menit dengan kecepatan 7000 rpm, supernatannya dibuang, dan disuspensikan kembali dalam 300 µL. Kemudian, sebanyak 50 µL suspensi tersebut dimasukkan ke dalam media *MRS Broth* pH netral dan diinkubasi selama 48 jam untuk menumbuhkan bakteri *Lactobacillus* yang telah terpapar pada lingkungan pH rendah.

Ketahanan isolat bakteri *Lactobacillus* sp. terhadap pH rendah ditentukan dengan cara mengukur nilai *Optical Density* (OD) suspensi pada panjang gelombang 660 nm (OD 660 nm), menggunakan spektrofotometer. Pengukuran nilai *Optical density* dilakukan sebanyak 3 kali dan hasilnya dirata-ratakan.

Ketahanan *Lactobacillus* terhadap Asam Deoksikolat (DCA)

Sebanyak 1 Ose biakan murni isolat *Lactobacillus* sp. disuspensikan ke dalam 5 mL *MRS Broth* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian, sebanyak 50 µL suspensi ini diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi 5 mL *MRS Broth* yang mengandung NaDC dengan konsentrasi yang bervariasi (0 mM, 0,2 mM, 0,4 mM, dan 0,6 mM) dan diinkubasi pada temperatur 37°C selama 48 jam.

Ketahanan isolat bakteri *Lactobacillus* sp. terhadap NaDC ditentukan dengan cara mengukur nilai *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 660 nm (OD 660 nm), menggunakan spektrofotometer. Pengukuran nilai *optical density* dilakukan sebanyak 3 kali dan hasilnya dirata-ratakan.

Uji Aktivitas Biotransformasi Asam Kolat (CA) menjadi Asam Deoksikolat (DCA)

Uji biotransformasi asam kolat pada 5 BAL uji yang paling potensial (berdasarkan pada resistensinya terhadap lingkungan pH rendah dan kadar NaDC tinggi) dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat-isolat tersebut pada 5

mL media *MRS broth* pH 7,0 yang ditambahkan dengan 25 mM asam kolat, dan diinkubasi selama 48 jam dalam keadaan anaerob menggunakan *anaeropack*. Selanjutnya sebanyak 1 mL dari kultur ini diambil, disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit, sebanyak 100 µL supernatannya diambil dan dimasukkan ke dalam *Eppendorf*, ditambahkan 20 µL larutan HCl 3N dan 0,5 mL etil asetat, divortex selama 1 menit, dan disentrifugasi kembali selama 5 menit pada 5000 rpm. Kemudian, bagian lapisan etil asetatnya diambil dan langkah ekstraksinya diulangi kembali sebanyak 2 kali. Gabungan supernatan (etil asetat) ini selanjutnya diuapkan pada suhu kamar selama semalam. Asam deoksikolat (DCA) yang terbentuk dari hasil biotransformasi oleh *Lactobacillus* sp. diuji dengan *Thin Layer Chromatography* (TLC), dengan menggunakan eluent *cyclohexane*, etil asetat, dan asam asetat dengan perbandingan volume 10:15:14. Setelah itu elusi hasil biotransformasi dideteksi dengan *molibdophosphoric acid* (10% dalam etanol 99,9%), dan spot akan tampak berwarna hitam setelah dipanaskan dalam oven selama 1-2 menit (Sujaya *et al.*, 2008).

HASIL

Konfirmasi Bakteri *Lactobacillus* sp.

Berdasarkan pewarnaan gram, bakteri *Lactobacillus* yang diamati berwarna ungu seperti yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Lactobacillus* sp. setelah dilakukan pewarnaan gram. Warna ungu menunjukkan bahwa bakteri ini termasuk bakteri Gram positif.

Selain pewarnaan gram, uji-uji lain yang dilakukan untuk konfirmasi ini antara lain uji katalase dan uji produksi gas dari hasil metabolisme glukosa. Hasil uji-uji ini ditampilkan pada Tabel 1.

Uji Ketahanan *Lactobacillus* sp. terhadap pH Rendah

Pada penelitian ini sebanyak 20 strain bakteri *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dari susu kuda Sumbawa ditumbuhkan pada medium pH rendah (pH 2, 3 dan 4) untuk mengetahui ketahanan strain-strain tersebut pada kondisi asam lambung. Hasil uji ketahanan terhadap pH rendah ini ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Uji konfirmasi bakteri *Lactobacillus* sp.

No	Kode Isolat	Bentuk sel	Uji Pewarnaan Gram	Uji Katalase	Uji Produksi Gas
1	SKA 14	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
2	SKA 16	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
3	SMM 73	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
4	SMM 79	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
5	SMM 23	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
6	SMM 21	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
7	SMM 25	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
8	SMM 15	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
9	SMM 31	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
10	SMM 10	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
11	SMM 77	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
12	SMM 22	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
13	SKK 12	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
14	SMM 63	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
15	SMM 8	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
16	SMM 6	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
17	SMM 48	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
18	SMM 72	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
19	SMM 2	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif
20	SMM 47	Batang	Warna ungu (Gram +)	Negatif	Negatif

Tabel 2. Ketahanan bakteri *Lactobacillus* sp. terhadap pH 2, 3 dan 4.

Nomor	Strain	Kontrol	Nilai OD		
			pH 2	pH 3	pH 4
1.	SKA 14	+(0,673)	-(0,093)	+(0,766)	+(0,879)
2.	SKA 16	+(1,522)	-(0,007)	+(0,214)	+(0,766)
3.	SMM 73	+(1,066)	-(0,037)	+(0,727)	+(0,626)
4.	SMM 79	+(1,129)	-(0,038)	+(0,829)	+(1,049)
5.	SMM 23	+(1,711)	+(1,442)	+(1,663)	+(1,714)
6.	SMM 21	+(1,432)	-(0,007)	+(0,831)	+(1,239)
7.	SMM 25	+(1,784)	+(1,045)	+(1,780)	+(1,750)
8.	SMM 15	+(1,732)	+(1,468)	+(1,524)	+(1,717)
9.	SMM 31	+(1,808)	+(1,725)	+(1,667)	+(1,752)
10.	SMM 10	+(1,672)	+(1,599)	+(1,689)	+(1,652)
11.	SMM 77	+(0,692)	-(0,045)	+(0,217)	+(0,807)
12.	SMM 22	+(0,981)	-(0,032)	+(0,748)	+(1,116)
13.	SKK 12	+(0,643)	+(0,347)	+(0,727)	+(0,823)
14.	SMM 63	+(0,863)	-(0,009)	-(0,011)	+(0,561)
15.	SMM 8	+(1,880)	+(1,830)	+(1,794)	+(1,835)
16.	SMM 6	+(1,907)	+(1,802)	+(1,874)	+(1,899)
17.	SMM 48	+(1,855)	+(1,450)	+(1,814)	+(1,859)
18.	SMM 72	+(1,830)	+(1,758)	+(1,826)	+(1,791)
19.	SMM 2	+(1,502)	+(1,543)	+(1,515)	+(1,542)
20.	SMM 47	+(2,038)	-(0,060)	+(1,090)	+(2,102)

Keterangan : + = Tahan asam (nilai OD \geq 0,1); - = Tidak tahan asam (nilai OD < 0,1)

Uji Ketahanan *Lactobacillus* sp. terhadap Asam Deoksikolat

Hasil pengamatan ketahanan *Lactobacillus* sp. terhadap asam deoksikolat dapat dilihat pada Tabel 3.

Uji Aktivitas Biotransformasi Asam Kolat (CA) menjadi Asam Deoksikolat (DCA)

Pada penelitian ini, sebanyak 5 isolat yang paling potensial untuk dikembangkan menjadi probiotik baru

Tabel 3. Ketahanan bakteri *Lactobacillus* sp. terhadap Asam Deoksikolat (konsentrasi NaDC 0,2 mM; 0,4 mM dan 0,6 mM)

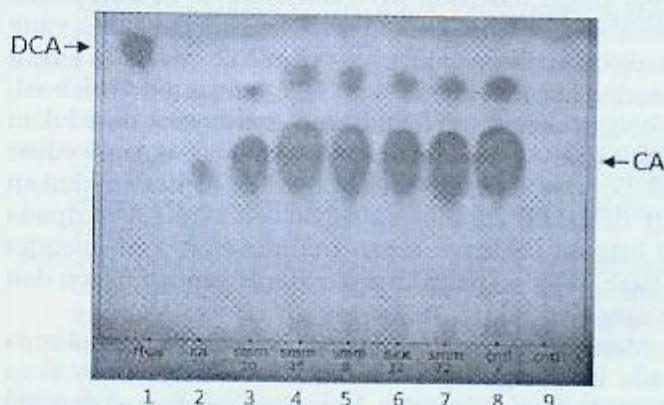
No.	Strain	Kontrol	Nilai OD		
			0,2 mM	0,4 mM	0,6 mM
1.	SMM 8	+(1,836)	+(1,236)	+(1,104)	+(0,268)
2.	SMM 10	+(1,739)	+(1,482)	+(0,539)	+(0,120)
3.	SMM 48	+(1,984)	+(0,479)	+(0,116)	-(0,070)
4.	SMM 2	+(1,773)	+(0,314)	+(0,190)	-(0,069)
5.	SMM 6	+(1,624)	+(1,125)	+(0,458)	-(0,067)
6.	SMM 31	+(1,712)	+(0,821)	+(0,437)	-(0,095)
7.	SMM 23	+(1,502)	+(1,110)	+(0,566)	-(0,061)
8.	SMM 15	+(1,708)	+(0,407)	+(0,130)	-(0,068)
9.	SMM 25	+(1,788)	+(0,532)	+(0,149)	-(0,074)
10.	SMM 72	+(1,714)	+(1,009)	-(0,029)	-(0,022)
11.	SKK 12	+(1,834)	+(1,451)	+(1,302)	+(0,791)

Keterangan:

+ = Tumbuh pada medium dengan asam deoksikolat (nilai OD \geq 0,1).

- = Tidak dapat tumbuh pada medium dengan asam deoksikolat (nilai OD < 0,1).

diuji kemampuannya untuk mentransformasi asam kolat (CA) menjadi asam deoksikolat (DCA). Hasil uji biotransformasi ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Uji Biotransformasi CA oleh Bakteri *Lactobacillus* sp.

Keterangan:

1. Asam Deoksikolat (DCA)
2. Asam Kolat (CA)
3. Transformasi CA yang diekstraksi dari supernatan SMM 10
4. Transformasi CA yang diekstraksi dari supernatan SMM 25
5. Transformasi CA yang diekstraksi dari supernatan SMM 8
6. Transformasi CA yang diekstraksi dari supernatan SKK 12
7. Transformasi CA yang diekstraksi dari supernatan SMM 72
8. MRS broth ditambah Asam Kolat (CA)
9. MRS b

PEMBAHASAN

Uji konfirmasi bakteri menunjukkan bahwa bakteri yang dipakai berbentuk batang dan Gram-positif (Gambar 1) karena dinding selnya dapat menahan warna kristal violet dengan kuat dan tidak teruci pada tahapan berikutnya dalam pewarnaan Gram. Selain itu, semua strain uji tidak memiliki enzim katalase yang ditunjukkan oleh tidak terbentuknya gelembung oksigen setelah dipaparkan pada larutan H₂O₂ dan tidak menghasilkan gas dari hasil metabolisme glukosa (Tabel 1). Data yang diperoleh pada uji ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Sujaya *et al.* (2008). Berdasarkan data tersebut maka

dapat dipastikan bahwa isolat yang dipakai adalah benar seperti yang diharapkan, sehingga uji-uji lanjutan yang merupakan syarat pengembangan probiotik, seperti uji isolat terhadap pH rendah dan konsentrasi tinggi NaDC dapat dilakukan.

Dalam uji ketahanan terhadap pH rendah, semua strain uji (20 strain bakteri *Lactobacillus* sp.) dapat bertahan hidup dan tumbuh pada medium pH 4 (Tabel 2). Sedangkan pada medium pH 3 dan pH 2 berturut-turut hanya 1 dan 0 strain bakteri yang tidak menunjukkan respon pertumbuhan yang ditunjukkan oleh nilai absorbansi pada panjang gelombang 660 nm (OD_{660nm}) yang lebih kecil dari limit deteksi 0,1 (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa strain-strain tersebut mempunyai potensi yang cukup besar untuk dikembangkan menjadi probiotik lokal, walaupun berbagai uji lanjutan masih perlu dilanjutkan. Beberapa peneliti, seperti Hutkins dan Nannen (1993) melaporkan bahwa agar dapat bertahan pada lingkungan pH rendah, suatu organisme tersebut harus dapat mengkondisikan pH internalnya lebih tinggi daripada pH lingkungannya. Menurut Chou dan Weimer (1999), dalam mempertahankan kondisi pH internalnya lebih tinggi daripada pH eksternalnya, bakteri tahan asam akan mengaktifkan kerja enzim ATP-ase yang dimilikinya. Dengan adanya enzim ATP-ase maka enzim tersebut akan menghidrolisis ATP yang dimiliki oleh sel, sehingga akan dihasilkan cukup energi yang diperlukan oleh sel untuk memindahkan proton dari dalam ke luar sel. Dengan cara ini sel akan mampu mempertahankan pH di dalam sitoplasma selalu lebih tinggi daripada di luar sel sehingga organisme tersebut akan mampu bertahan hidup pada lingkungan pH rendah (Chou dan Weimer, 1999).

Menurut Russel (1992) terpaparnya membran plasma pada lingkungan pH rendah secara berlebihan akan menyebabkan hilangnya integritas membran, dan hal ini akan menyebabkan sel-sel tersebut tidak mampu lagi mengatur keluar masuknya substansi secara normal. Dalam kondisi seperti itu, sel akan kehilangan banyak komponen-komponen penting sel, seperti Mg, K, dan lemak dari dalam sel, sehingga pertumbuhan sel akan terhambat bahkan dapat mengalami kematian (Bender dan Marquis, 1987).

Setelah berhasil melewati kondisi lingkungan asam lambung, probiotik akan berhadapan dengan lingkungan ekstrim kedua, yaitu tingginya kandungan asam-asam empedu sekunder di dalam usus halus. Syarat bakteri untuk dapat berfungsi sebagai probiotik adalah memiliki ketahanan terhadap asam deoksikolat yang terdapat di usus halus, sehingga bakteri tersebut mampu mencapai kolon dalam keadaan hidup dengan kerapatan sel yang memadai (Fuller, 1989).

Hasil uji ketahanan terhadap kadar NaDC tinggi menunjukkan bahwa semua strain *Lactobacillus* sp. yang diuji (11 strain bakteri *Lactobacillus* sp.) tahan terhadap NaDC pada konsentrasi 0,2 mM. Sedangkan pada konsentrasi 0,4 mM hanya terlihat 1 strain *Lactobacillus* sp. (SMM 72) yang tidak dapat tumbuh atau tidak tahan terhadap NaDC (Tabel 3). Pada konsentrasi yang lebih tinggi (0,6 mM), hanya 3 strain *Lactobacillus* sp. (SMM

8; SMM 10; dan SKK 12) yang mampu bertahan atau tumbuh. Hasil yang diperoleh pada Tabel 3 sejalan dengan yang dilaporkan oleh Jacobsen *et al.* (1999) yang menyatakan bahwa mikroba yang berhasil hidup setelah ditumbuhkan dalam *MRS broth* yang ditambah NaDC 0,2 mM merupakan strain-strain yang tahan terhadap garam empedu konsentrasi rendah. Jika dibandingkan dengan kontrol (strain bakteri *Lactobacillus* sp. yang ditumbuhkan pada medium tanpa penambahan NaDC), nilai OD yang ditunjukkan oleh strain uji sangat rendah, yaitu berkisar antara 0,4 sampai 1,48 unit OD, sementara itu pada kontrol terbaca antara 1,5 sampai 1,98 (Tabel 3)

Binder *et al.* (1975) melaporkan bahwa pada konsentrasi rendah (0,1 mM – 0,2 mM) NaDC dapat menghambat pertumbuhan mikroba, termasuk mikroba yang ada pada saluran pencernaan. Penurunan jumlah koloni yang mampu hidup pada media yang telah ditambahkan NaDC disebabkan oleh sifat cairan garam empedu sebagai senyawa aktif permukaan yang dapat menembus dan bereaksi dengan sisi membran sitoplasma yang bersifat lipofilik. Sifat ini akan menyebabkan perubahan dan kerusakan struktur membran hingga menyebabkan kematian sel. Semakin tinggi konsentrasi garam empedu yang diberikan, semakin tinggi pula penurunan jumlah sel bakteri (Farida, 2006). Pernyataan tersebut dikuatkan oleh Kurdi *et al.* (2000) yang melaporkan bahwa konsentrasi NaDC yang lebih tinggi (0,4 - 0,8 mM) dapat membunuh hampir semua sel bakteri. Ketahanan beberapa strain terhadap NaDC yang diperoleh pada penelitian ini mengindikasikan bahwa strain-strain tersebut menunjukkan indikasi baik untuk dikembangkan menjadi calon probiotik lokal, walaupun beberapa uji lanjutan masih harus dilalui oleh ketiga isolat yang mampu bertahan sampai konsentrasi 0,6 mM NaDC (Tabel 3).

Uji biotransformasi asam kolat menjadi asam deoksikolat sangat menentukan dapat tidaknya bakteri kandidat probiotik tersebut dikembangkan menjadi agensia probiotik secara komersial. Beberapa peneliti seperti Brady *et al.* (2000) dan Sujaya *et al.* (2008) melaporkan bahwa kandungan asam deoksikolat yang tinggi di dalam saluran pencernaan erat kaitannya dengan insiden kanker kolon. Pada individu menderita kanker kolon ditemukan kandungan asam deoksikolat yang lebih tinggi daripada orang sehat, sehingga asam deoksikolat di dalam saluran pencernaan dicurigai sebagai pemicu terjadinya kanker kolon.

Hasil skrining yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan bahwa *Lactobacillus* sp. yang diuji pada penelitian ini tidak melakukan biotransformasi asam kolat primer menjadi asam kolat sekunder (Gambar 2), sehingga kelima isolat yang diuji pada tahapan ini aman untuk dikembangkan menjadi agensia probiotik secara komersial.

Beberapa spesies bakteri, seperti *Clostridium scindens* dan *Clostridium hiraniois* yang menghuni saluran pencernaan dapat memicu biotransformasi asam kolat (CA) menjadi asam deoksikolat (DCA) (Wells and Hylemo, 2000; Wells *et al.*, 2003). Bakteri-bakteri ini diduga memiliki serangkaian gen yang mampu menghasilkan enzim 7 α -dehidroksilase

yang diduga bekerja memutus ikatan hidroksi pada senyawa asam kolat (CA) (Kinchel *et al.*, 1997).

Dalam penelitian ini, diperoleh 3 strain bakteri *Lactobacillus* sp. isolat susu kuda Sumbawa (SMM 8; SMM 10; dan SKK 12) yang paling berpotensi untuk dikembangkan menjadi probiotik potensial, karena sifatnya yang resisten pada pH rendah (pH 2), resisten terhadap NaDC (0,6 mM), serta tidak melakukan biotransformasi asam kolat menjadi asam deoksikolat (Gambar 2).

SIMPULAN

Dari 20 strain bakteri *Lactobacillus* sp. (yang diisolasi dari susu kuda Sumbawa) yang diteliti, diperoleh sebanyak 11 strain tahan dalam medium yang mengandung 0,6 mM NaDC pada pH 2 atau 3. Semua strain tahan terhadap pH 4 dalam medium yang mengandung 0,2 mM NaDC. Pada uji biotransformasi yang dilakukan pada 5 isolat yang paling potensial menunjukkan bahwa semua isolat uji ini tidak melakukan biotransformasi asam kolat menjadi asam deoksikolat, dan hasil ini mengindikasikan bahwa isolat-isolat tersebut berpotensi untuk dikembangkan menjadi probiotik, walaupun uji-uji lanjutan masih diperlukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu kelancaran penelitian ini, yaitu Laboratorium Biosain dan Bioteknologi UNUD yang telah memberikan strain *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dari susu kuda sumbawa, Bapak Ketua PS Farmasi FMIPA UNUD Dr. rer. nat. I Made Agus Gelgel Wirasuta, M.Si., Apt., Ibu Ni Wayan Nursini, MP., serta pihak lain yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

KEPUSTAKAAN

Bender, G. R., and R. E. Marquis. 1987. Membran ATPases and Acid Tolerance of *Actinomyces viscosus* and *Lactobacillus casei*. *Appl. and Environ. Microbiol.* 53(9): 2124-2128.
 Binder, H. J., B. Filburn, and M. Floch. 1975. Bile Acid Inhibition of Intestinal Anaerobic Organism. *Am. J. Clin. Nutr.* 28:119-125.
 Brady, L. J., D. D. Gallaher, and F. F. Busta. 2000. The Role of Probiotic Culture in the Prevention of Colon Cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 130 : 410S-414S.

Carr, F. J., D. Chill, and N. Maida. 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Crit. Rev. Microbiol.* 28: 281-370.
 Chou, L. S., and 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. 1989. A Review: Probiotics in Man and Animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 365-378.
 Farida, E. 2006. Seleksi Pengujian Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Hasil Isolat Lokal serta Kemampuannya dalam Menghambat Sekresi Interleukin-8 dari Alur Sel HCT 116. Skripsi. Bogor. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
 Hutkins, R. W. and N. L. Nannen. 1993. pH Homeostatis in Lactic Acid Bacteria. *J. Dairy. Sci.* 76 : 2354-2365.
 Jacobsen, C. N., V. R. Nielsen, A. E. Hayford, P. L. Moller, K. F. Michaelsen, A. P. Erregard, B. Sandstrom, M. Tvede, and 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 Human. *Appl. and Environ. Microbiol.* 65 : 4949-4956.
 Kinchel, C. D., F. Takamnine, C. P. Lavoie, D. H. Mallonee, and P. B. Hylemon. 1997. Assessment of Fecal Bacteria with Bile Acid 7 α -Dehydroxylating Activity for the Presence of *bai*-Like Genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 1185-1188.
 Kurdi, P., H. W. van Veen, H. Tanaka, I. Mierau, W. N. Konings, G. W. Tannock, F. Tomita, and A. Yokorta. 2000. Cholic Acid is Accumulated Spontaneously, Driven by pH in Many *Lactobacilli*. *J. Bacteriol.* 182: 6535-6528.
 Russel, J. B. 1992. Another Explanation for the Toxicity of Fermentation Acids at Low pH : Anion Accumulation Versus Uncoupling. *J. Appl. Bacteriol.* 73 : 363-370.
 Sujaya, N., N. M. U. Dwipayanti, N. L. P. Suariani, N. P. Widarini, K. A. Nociantiri, and N. W. Nursini. 2008. Potensi *Lactobacillus* spp. Isolat Susu Kuda Sumbawa sebagai Probiotik. *J. Veteriner*, 9 (1) : 33-40.
 Wells, J. E., and P. B. Hylemo. 2000. Identification and Characterization of a Bile 7 α -dehydroxilation Operon in *Clostridium* sp. Strain TO-931, a Highly Active 7 α -dehydroxilating Strain Isolated from Human Feces. *App. Environ. Microbiol.* 66: 1107-1113.
 Wells J. E., K. B. Williams, T. R. Whitehead, D. M. Heuman, and P. B. Hylemon. 2003. Development and Application of Polymerase Chain Relation Assay for the Detection and Enumeration of Bile Acid 7 α -dehydroxilating Bacteria in Human Feces. *Clin. Chin. Acta.* 331: 127-134.
 Yulinery, T., E. Yulianto, and N. Nurhidayat. 2006. Uji Fisiologis Probiotik *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang telah Dienkapsulasi dengan Menggunakan *Spray Dryer* untuk Menurunkan Kolesterol. *Bioversitas*, 7 (2): 118-122.