
Aktivitas Antioksidan *Lactobacillus Rhamnosus* FBB Secara in Vitro

*Antioxidant Activity of *Lactobacillus rhamnosus* FBB in Vitro*

Husni Mubarak, Komang Ayu Nocianitri, I Dewa Gede Mayun Permana

Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

Email: bahananhusni@gmail.com

Abstrak

Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan inangnya. *Lactobacillus rhamnosus* yang diisolasi dari feses bayi sehat merupakan bakteri asam laktat (BAL) yang diketahui memiliki potensi sebagai probiotik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari isolat *L. rhamnosus* FBB secara in vitro. Isolat *L. rhamnosus* FBB tersebut antara lain: *L. rhamnosus* FBB nomor 21, 26, 52, 59, 75, dan 81. Uji konfirmasi menunjukkan bahwa keseluruhan isolat *L. rhamnosus* FBB termasuk bakteri homofermentatif, bakteri gram positif, katalase negatif dan memiliki bentuk morfologi batang berantai. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan mengukur kemampuan penangkapan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) dengan membandingkan subjek penelitian yakni supernatant, intact cell dan cell lysate. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penangkapan radikal bebas pada supernatant, intact cell dan cell lysate masing-masing adalah 39,00-66,71%, 15,76-21,28% dan 4,79-10,86%. *L. rhamnosus* FBB 75 dan *L. rhamnosus* FBB 81 menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan isolat lainnya. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH pada supernatant, intact cell dan cell lysate pada *L. rhamnosus* FBB 75 adalah 66,71%, 15,76%, 10,86% dan aktivitas antioksidan pada *L. rhamnosus* FBB 81 adalah 66,43%, 21,28% 9,37%. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa *L. rhamnosus* FBB 75 dan *L. rhamnosus* FBB 81 merupakan strain yang potensial untuk dikembangkan sebagai probiotik antioksidan.

Kata kunci: *Lactobacillus rhamnosus* FBB, Probiotik, Antioksidan, DPPH.

Abstract

Probiotics are living organisms that can have a beneficial effect on the health of their hosts. *Lactobacillus rhamnosus* isolated from healthy infant feces is lactic acid bacteria (BAL) that has potential as a probiotic. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of *L. rhamnosus* FBB bacterial isolates in vitro. Isolates of *L. rhamnosus* FBB bacteria are: *L. rhamnosus* FBB number 21, 26, 52, 59, 75, and 81. Confirmatory test suggested that the overall isolates of *L. rhamnosus* FBB included homofermentative bacteria, gram-positive bacteria, negative catalase and morphological form of chain stems. Antioxidant activity was determined by measuring the capability of scavenging free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) with comparison of research subjects with supernatant, intact cell and cell lysate. The results showed that free radical scavenging activity on supernatant, intact cell and cell lysate were 39,00-66,71%, 15,76 - 21,28% and 4,79 - 10,86% respectively. *L. rhamnosus* FBB 75 and *L. rhamnosus* FBB 81 showed higher antioxidant activity than other isolates. DPPH free radical scavenging activity on the supernatant, intact cell and cell lysate in *L. rhamnosus* FBB 75 was 66,71%, 15,76%, 10,86% and antioxidant activity in *L. rhamnosus* FBB 81 was 66,43%, 21,28% , 9,37%. The results of this study prove that *L. rhamnosus* FBB 75 and *L. rhamnosus* FBB 81 are potential strains to be developed as antioxidant probiotics.

Keywords : *Lactobacillus rhamnosus* FBB, Probiotics, Antioxidants, DPPH

PENDAHULUAN

Dewasa ini pola hidup masyarakat cenderung memilih gaya hidup mudah dan praktis, dimana lebih memilih makanan cepat saji, dimana kandungan pada makanan tersebut cenderung mengandung tinggi lemak, rendah serat, serta terdapat bahan kimia pengawet. Kebiasaan

tersebut dapat memberi pengaruh negatif yaitu peningkatan profil radikal bebas dalam tubuh. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan aktivitas antioksidan, dapat menyebabkan stress oksidatif (Samichah, 2014). Jika radikal bebas didalam tubuh tidak diinaktivasi, maka reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler, termasuk

karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat (Dawn, *et al.*, 2000). Proses inilah yang menjadi etiologi dan menginisiasi berbagai penyakit kronik degeneratif, seperti atherosklerosis, diabetes mellitus, kardiomiopati, penyakit inflamasi kronik, gangguan neurologis, gangguan paru-paru dan hati, kanker, imunodepresi, dan hipertensi (Muller *et al.*, 2007).

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (SOR) yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi dalam tubuh (Goldberg, 2003). Antioksidan dapat digolongkan menjadi antioksidan primer (*Chain-breaking antioxidant*) dan antioksidan sekunder (*preventive antioxidant*) (Gordon, 1990).

Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan inangnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk dalam saluran pencernaan (FAO/WHO, 2001; FAO/WHO, 2002; ISAPP, 2009; Weichselbaum, 2009). Manfaat probiotik bagi kesehatan banyak sekali, salah satunya memiliki aktivitas antioksidan (Kim *et al.*, 2006; Ou *et al.*, 2009; El-adawi *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011).

Lactobacillus rhamnosus FBB yang diperoleh dari isolasi feses bayi sehat merupakan bakteri asam laktat (BAL) yang diketahui memiliki potensi sebagai probiotik. Isolat tersebut memiliki ketahanan yang baik pada kondisi saluran pencernaan seperti pH rendah (pH 2, 3, dan 4) dan empedu (deoksi kolat), mampu melewati kondisi usus dengan kandungan 0,4 mM sodium deoksi kolat dan pankreatin (Uni, 2012). Diantara beberapa isolat *L. rhamnosus* FBB seperti: *L. rhamnosus* FBB nomor 21, 26, 52, 59, 75 dan 81 mempunyai aktivitas antioksidan sekunder, dimana memiliki kemampuan penghambatan peroksidasi lipid sebesar 34,96-71,48%, kemampuan mengikat (mengkelat) ion logam Fe^{2+} sebanyak 10,11-44,52%, dan kemampuan menangkap OH^- sekitar 16,57-42,85% (Nocianitri *et al.*, 2016). Akan tetapi sifat aktivitas antioksidan primer belum diketahui. Salah satu pengujian aktivitas antioksidan yang dapat digunakan untuk menguji sifat aktivitas antioksidan primer adalah metode peredaman radikal bebas 1,1 - *diphenyl-2picrylhydrazil* (DPPH).

Penelitian ini diuji aktivitas antioksidan primer pada berbagai strain *L. rhamnosus* FBB yang diisolasi dari feses bayi sehat yaitu *L. rhamnosus* FBB nomor 21, 26, 52, 59, 75, dan 81 dengan menggunakan metode penelitian peredaman radikal bebas DPPH dengan subjek penelitian yang diuji antara lain: *supernatant*, *intact cell* dan *cell lysate*. Pengujian yang dilakukan pada *supernatant* bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan dari hasil metabolit dari *L.*

rhamnosus FBB, pada *intact cell* untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada dinding sel strain tersebut, serta pada *cell lysate* untuk dapat mengetahui kemampuan ekstrak intraseluler dalam mendonorkan atom hydrogen pada radikal lipid.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di UPT. Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Jalan Raya Kampus Udayana, Bukit Jimbaran. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan Juni 2017 sampai dengan bulan Agustus 2017.

Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: tabung reaksi, erlenmeyer, pipet mikro, gelas ukur, cawan petri, jarum ose, neraca analitik (Shimadzu tipe AUX220), mikroskop (Olympus tipe CX21), inkubator (Binder dan Memmert), *hotplate stirrers* (Fisher Scientific), alat pemanas (*waterbath*) (Eyela Water Bath tipe SB-35), *sentrifuse* (Hitachi tipe himac CT 15RE), *vortex* (Labinco tipe L46), *laminar air flow* (Biohazard Safety Cabinet tipe JSCB-900SB), *ultrasonic disruption* (Tomy Micro Smash tipe MS-100), autoklaf (Tomy tipe ES-315), spektrofotometer (Thermo Scientific tipe Evolution 201).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: MRS Broth (Oxoid), Agar (American Bacteriological Agar merek Conda Pronadisa), H_2O_2 , kristal violet, larutan lugol, alkohol 96%, pewarna safranin, larutan saline 0,85%, sodium fosfat buffer (PBS: 0,85% NaCl, 2,86 mM KCl, 10 mM Na_2HPO_4 , dan 1,76 mM KH_2PO_4), air bebas ion, DPPH, metanol.

Subjek Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui strain probiotik yang mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dari beberapa strain probiotik bakteri asam laktat koleksi Laboratorium Terpadu UPT. Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana. Strain probiotik yang digunakan adalah strain yang diisolasi dari feses bayi sehat dimana beberapa strain tersebut telah diuji mempunyai potensi sebagai probiotik dan memiliki aktivitas antioksidan sekunder. Penelitian ini diuji aktivitas antioksidan primer pada berbagai strain *L. rhamnosus* FBB dengan subjek penelitian yang diuji antara lain: *supernatant*, *intact cell* dan *cell lysate*. Strain yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Strain *L.rhamnosus* FBB yang dipergunakan dalam penelitian

No	Strain Probiotik
----	------------------

1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> FBB 21
2	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> FBB 26
3	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> FBB 52
4	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> FBB 59
5	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> FBB 75
6	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> FBB 81

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi total BAL (Fardiaz, 1993) dan kemampuan menangkap senyawa radikal DPPH (Takahashi *et al.*, 2005).

Pelaksanaan Penelitian

Penyegaran dan Konfirmasi Isolat

Stok isolat yang disimpan dalam gliserol 30% pada suhu -20°C disegarkan dengan cara diambil 100 µl, kemudian diinokulasi pada 5 ml media MRS Broth (MRSB) selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya kekeruhan pada media yang merupakan adanya aktivitas pertumbuhan dari mikroba tersebut.

Uji Katalase

Isolat yang akan diuji, dibuat tetesannya pada kaca objek, kemudian ditetesi dengan dua tetes larutan H₂O₂, dan diamati gelembung yang timbul. Hasil positif ditunjukkan oleh timbulnya gelembung udara (O₂) yang dihasilkan dari degradasi H₂O₂ oleh enzim - enzim katalase (Suryani, *et al.*, 2010).

Cat Gram

Isolat *Lactobacillus rhamnosus* FBB ditetaskan pada gelas objek kemudian ditunggu hingga mengering sambil difiksasi di atas bunsen (kira-kira 20 cm di atas bunsen) dan diwarnai dengan kristal violet selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir, kemudian ditetesi dengan larutan lugol selama 1 menit, dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya hapusan tersebut dicuci dengan alkohol 96% selama 10 detik, dicuci dengan air dan diwarnai dengan pewarna safranin selama 5 detik, dicuci kembali dengan air mengalir. Sel bakteri yang telah diwarnai, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan diamati dibawah mikroskop (Dewi, 2013).

Uji Gas

Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode *hot loop*, dengan cara memasukkan jarum ose panas ke dalam suspensi biakan BAL. Hasil positif ditandai oleh terbentuknya gas CO₂ dari hasil metabolisme glukosa (Suryani, *et al.*, 2010).

Persiapan Subjek Penelitian

Penelitian ini menguji aktivitas antioksidan pada beberapa strain *L. rhamnosus* FBB dengan mempersiapkan 3 subjek penelitian yang digunakan sebagai sampel, antara lain: *supernatant*, *intact cell* dan *cell lysate*. Jumlah total sel disesuaikan menjadi 10⁸ cfu/ml untuk persiapan subjek penelitian.

Persiapan Supernatant

Stok isolat disegarkan dengan cara diambil 100 µl, kemudian diinokulasi pada 5 ml media MRS Broth (MRSB) selama 18-22 jam dengan suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya kekeruhan pada media yang merupakan adanya aktivitas pertumbuhan dari mikroba tersebut. *Supernatant* dipisahkan dari pelet sel menggunakan proses sentrifugasi pada kecepatan 7.000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4°C. Hasil *supernatant* tersebut selanjutnya digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Kim *et al.*, 2006).

Persiapan Intact cells

Pelet sel yang telah dipisahkan dari *supernatant*, selanjutnya dicuci sebanyak dua kali dengan larutan sodium phosfat buffer (PBS: 0,85% NaCl, 2,86 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, dan 1,76 mM KH₂PO₄, pH = 7,4). Setelah dicuci kemudian diencerkan kembali menggunakan PBS. Larutan pelet sel atau *intact cells* tersebut selanjutnya digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Kim *et al.*, 2006).

Persiapan Cell lysate

Sel yang sudah dicuci dan diencerkan menggunakan PBS, dinding sel dipecah menggunakan alat *ultrasonic cell disrupter* dalam es batu. Padatan sel dipisahkan menggunakan proses sentrifugasi pada kecepatan 7.000 rpm selama 10 menit dengan suhu 4°C. Setelah terpisah, *supernatant* yang merupakan ekstrak intraseluler atau *cell lysate* difiltrasi (0,45 µm, Millipore). Ekstrak intraseluler tersebut selanjutnya digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Kim *et al.*, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji konfirmasi Bakteri Asam Laktat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan dari beberapa *L. rhamnosus* FBB yang diisolasi dari feses bayi sehat yang didahului dengan uji konfirmasi dari koleksi strain yang digunakan. Uji konfirmasi meliputi uji gas, katalase, gram, morfologi serta total BAL pada kerapatan optik atau *optical density* (OD) tertentu. Hal ini dilakukan untuk mengkonfirmasi BAL yang digunakan sesuai dengan karakteristik dan sifat kultur murni strain

tersebut sebelum dilakukannya pengujian aktivitas antioksidannya. Data uji konfirmasi dapat dilihat pada

Tabel 2 dan total BAL pada nilai OD tertentu dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Data uji gas, katalase, gram dan morfologi beberapa isolate dari feses bayi sehat

No	Isolat	Gas	Katalase	Gram	Morfologi
1	<i>L. rhamnosus</i> FBB 21	(-)	(-)	(+)	Batang berantai
2	<i>L. rhamnosus</i> FBB 26	(-)	(-)	(+)	Batang berantai
3	<i>L. rhamnosus</i> FBB 52	(-)	(-)	(+)	Batang berantai
4	<i>L. rhamnosus</i> FBB 59	(-)	(-)	(+)	Batang berantai
5	<i>L. rhamnosus</i> FBB 75	(-)	(-)	(+)	Batang berantai
6	<i>L. rhamnosus</i> FBB 81	(-)	(-)	(+)	Batang berantai

Dari uji konfirmasi yang dilakukan, menunjukkan bahwa isolat yang dipergunakan tidak membentuk gas yang berarti BAL yang digunakan termasuk bakteri homofermentatif yang menghasilkan asam laktat dari

fermentasi karbohidrat. Uji konfirmasi lainnya, menunjukkan hasil bahwa keseluruhan strain tersebut termasuk bakteri gram positif, katalase negatif dan memiliki bentuk morfologi batang berantai.

Tabel 3. Nilai OD dan total BAL beberapa isolat dari feses bayi sehat

No	Isolat	Nilai OD	Total BAL (cfu/ml)
1	<i>L. rhamnosus</i> FBB 21	2,764	$1,0 \times 10^8$
2	<i>L. rhamnosus</i> FBB 26	2,616	$1,2 \times 10^8$
4	<i>L. rhamnosus</i> FBB 52	2,456	$1,0 \times 10^8$
5	<i>L. rhamnosus</i> FBB 59	2,720	$1,1 \times 10^8$
7	<i>L. rhamnosus</i> FBB 75	2,718	$2,0 \times 10^8$
8	<i>L. rhamnosus</i> FBB 81	2,666	$1,6 \times 10^8$

Keseluruhan isolat menunjukkan pertumbuhan yang baik dengan nilai OD berkisar antara 2,456 sampai 2,764 pada panjang gelombang 660 nm dengan total BAL berkisar 10^8 cfu/ml. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara *in vitro* pada masing masing strain yang digunakan untuk

mengetahui strain manakah yang mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan penangkapan radikal bebas DPPH dari beberapa *L. rhamnosus* FBB yang diisolasi dari feses bayi sehat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH beberapa isolat dari feses bayi sehat

No	Isolat	Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH (%)		
		Supernatant	Intact cell	Cell lysate
1	<i>L. rhamnosus</i> FBB 21	39,00	17,99	6,18
2	<i>L. rhamnosus</i> FBB 26	40,64	17,51	6,20
3	<i>L. rhamnosus</i> FBB 52	61,82	17,69	4,79
4	<i>L. rhamnosus</i> FBB 59	65,28	18,27	5,76
5	<i>L. rhamnosus</i> FBB 75	66,71	15,76	1,86
6	<i>L. rhamnosus</i> FBB 81	66,43	21,28	9,37

Supernatant

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH oleh beberapa *L. rhamnosus* FBB yang diisolasi dari feses bayi sehat pada *supernatant* berkisar antara 39,00% sampai dengan 66,71%. *Supernatant L. rhamnosus* FBB yang menunjukkan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH lebih besar dari 50% adalah *L. rhamnosus* FBB nomor 52, 59, 75, dan 81. Syafiqoh (2016) melaporkan bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH pada *supernatant* oleh *L. plantarum* SK (5) yang diisolasi dari bekasam sebesar 34,1%. Hal ini

menunjukkan bahwa pada *supernatant L. rhamnosus* FBB memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH yang berbeda.

Supernatant merupakan subjek penelitian yang diperoleh dari sentrifugasi media yang sudah diinokulasi isolat probiotik. *Supernatant* mengandung hasil proses fermentasi, yakni senyawa metabolit primer berupa asam laktat, asam asetat, dan hidrogen peroksida, sedangkan metabolit sekunder berupa bakteriosin, senyawa flavour, dan eksopolisakarida (Surono, 2004). Bakteri probiotik menunjukkan

aktivitas antioksidan melalui mekanisme melepaskan dan memacu produksi glutathione (GSH) yaitu antioksidan nonenzimatik utama dan penangkap radikal bebas. Glutathione merupakan tripeptida yang berisi grup sulfhidril (\cdot SH) (glutamin, sistein, dan glisin) dan sangat efisien dalam mendetoksifikasi spesies oksigen reaktif dan peroksida. Pada reaksi berantai oksidatif, GSH dikonversi menjadi bentuk glutathione disulfida teroksidasi (GSSG). Salah satu fungsi yang paling penting dari GSH adalah bertindak sebagai penangkap radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$) apabila radikal hidroksil tidak dapat dihilangkan dengan reaksi enzimatik (Pompella *et al.*, 2003). Syafiqoh (2016) melaporkan bahwa identifikasi lebih lanjut menggunakan *high-performance liquid chromatographic* (HPLC) terhadap hasil ekstrak etil asetat dari kultur media *L. plantarum* (*supernatant*) tersebut dalam media MRSB (pH 4,0) diperoleh bahwa senyawa metabolit yang berperan terhadap penghambatan DPPH adalah *L-3-(4-hydroxyphenyl) lactic acid* (HPLA) dan *Lindole-3-lactic acid* (LLA). Diduga hal tersebut yang berperan sebagai penangkap radikal bebas DPPH pada *supernatant L. rhamnosus* FBB.

Intact cell

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH oleh beberapa *L. rhamnosus* FBB pada subjek penelitian *intact cell* keseluruhan menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh, dimana berkisar antara 15,76% sampai dengan 21,28%. Ou *et al.* (2009) melaporkan bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH pada *intact cell* oleh *Bifidobacterium longum* sebesar 71,30% dan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sebesar 70,40%. Zhang *et al.* (2011) melaporkan bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH pada *intact cell* oleh *L. casei* subsp. *casei* SY13 dan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LJJ yang diisolasi dari yogurt tradisional masing-masing sebesar 27,50 dan 23,99%. Hal ini menunjukkan bahwa setiap strain memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH yang berbeda. *Intact cell* merupakan sel utuh dari probiotik yang didapat dari pemisahan media yang sudah diinokulasi isolat dengan *supernatant*. Massa sel yang diperoleh dicuci sebanyak dua kali dengan larutan PBS dan diencerkan kembali dengan larutan PBS tersebut. Bakteri probiotik menunjukkan aktivitas antioksidan melalui mekanisme meningkatkan produksi biomolekul antioksidan tertentu, seperti eksopolisakarida (EPS) (Basileios *et al.*, 2011). Beberapa mikroba, termasuk bakteri asam laktat (BAL) yang bersifat probiotik, memiliki kemampuan menghasilkan EPS seperti *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *Bifidobacterium longum*. Berbagai jenis strain dari *L.*

plantarum telah diteliti dapat menghasilkan eksopolisakarida (Tallon *et al.*, 2006). Eksopolisakarida (EPS) adalah polimer gula atau polisakarida yang disekresikan oleh mikroba keluar sel dinding sel bakteri (Zubaidah *et al.*, 2008). EPS digunakan oleh bakteri untuk melindungi diri dari berbagai macam cekaman lingkungan (Santi *et al.*, 2008). Hal tersebut yang diduga berperan sebagai penangkap radikal bebas DPPH pada *intact cell L. rhamnosus* FBB.

Cell lysate

Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH oleh beberapa *L. rhamnosus* FBB pada subjek penelitian *cell lysate* berkisar antara 4,79% sampai dengan 10,86%. Subjek penelitian *cell lysate L. rhamnosus* FBB yang menunjukkan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH yang tertinggi adalah *L. rhamnosus* FBB 75 yakni 10,86%. Afify *et al.* (2012) melaporkan bahwa pada *cell lysate L. rhamnosus* GG, *L. reuteria* (ATCC 20016), *Bifidobacterium breve* (ATCC 15700), dan *Probionebacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* (ATCC 1907) mempunyai aktivitas yang tinggi dalam penangkapan radikal bebas DPPH. Ou *et al.* (2009) melaporkan bahwa *Bifidobacterium longum* dan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH pada *cell lysate*. Subjek penelitian *Cell lysate* merupakan ekstrak intraseluler bebas sel yang diperoleh dengan memecah dinding sel dari sel utuh probiotik. Sel utuh tersebut dilisis sehingga mendapatkan cairan intraseluler, yang kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan. *Superoxide dismutase* (SOD) merupakan antioksidan endogen enzimatik yang paling efektif dalam mengkatalisis dan mengkonversi radikal bebas anion superoksida menjadi molekul oksigen dan hidrogen peroksida. SOD bekerja melalui sistem pertahanan preventif, menghambat, atau merusak proses pembentukan radikal bebas (Gurer & Ercal 2000). Dalam cairan intraseluler, SOD berperan dalam proses degradasi senyawa spesies oksigen reaktif (SOR). Spesies probiotik mempunyai kemampuan dalam memproduksi dan melepaskan SOD. Songisepp *et al.* (2004) melaporkan bahwa *L. fermentum* memiliki aktivitas antimikroba dan antioksidatif yang tinggi karena sel-selnya dapat memproduksi Mn-SOD (Mn-superoksida dismutase). Kullisaar *et al.* (2002) melaporkan juga bahwa dua strain *Lactobacillus fermentum* E-3 dan E-18 dan *Streptococcus thermophilus* menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan karena mampu memproduksi SOD. Hal tersebut yang diduga pada *cell lysate L. rhamnosus* FBB probiotik memiliki peran sebagai penangkap radikal bebas DPPH.

Pada subjek penelitian yang diamati yaitu *Supernatant*, *Intact cell* dan *Cell lysate* menunjukkan bahwa strain probiotik *L. rhamnosus* FBB memiliki aktivitas antioksidan primer. Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH tertinggi terdapat pada *supernatant*, yakni berkisar antara 39,00% sampai dengan 66,71%. Sedangkan pada *intact cell* dan *cell lysate* masing-masing berkisar antara 15,76% sampai dengan 21,28% pada *intact cell* dan 4,79% sampai dengan 10,86% pada *cell lysate*. Hal ini menunjukkan bahwa *L. rhamnosus* FBB isolasi dari feses bayi sehat memiliki aktivitas antioksidan primer dominan pada ekstrak ekstraseluler bebas sel atau *supernatant*. Jika dilihat dari keseluruhan subjek penelitian yang diuji, *L. rhamnosus* FBB yang memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH yang tertinggi yaitu isolate *L. rhamnosus* FBB 75 dan *L. rhamnosus* FBB 81, dimana aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH pada *supernatant*, *intact cell* dan *cell lysate* masing-masing 66,71%, 15,76%, 10,86% pada *L. rhamnosus* FBB 75 dan 66,43%, 21,28%, 9,37% *L. rhamnosus* FBB 81.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut;

1. Aktivitas antioksidan dari beberapa isolat *L. rhamnosus* bersifat spesifik strain, dimana setiap strain menunjukkan aktivitas antioksidan yang berbeda dengan aktivitas dominan pada *supernatant*.
2. Strain yang mempunyai aktivitas antioksidan yang tertinggi yaitu *L. rhamnosus* FBB 75 dan *L. rhamnosus* FBB 81, dengan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH pada *supernatant*, *intact cell* dan *cell lysate* masing-masing 66,71%, 15,76%, 10,86% pada *L. rhamnosus* FBB 75 dan 66,43%, 21,28%, 9,37% pada *L. rhamnosus* FBB 81.

Saran

Berdasarkan penelitian diatas disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai metabolit yang dihasilkan yang memiliki aktivitas antioksidan primer dan verifikasi sifat antioksidan primer dari *L. rhamnosus* FBB 75 dan *L. rhamnosus* FBB 81 secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

Afify, A. E. M. R., R. M. Romeilah, S. I. M. Sultan, dan M. m. Hussein. 2012. Antioxidant Activity and Biological Evaluation of Probiotic Bacteria Strains. *Int. J. Aca Res. Part A*; 2012; 4(6), 131-139. DOI: 10.7813/2075-4124.2012/4-6/A.18.

Basileios, G., Spyropoulos, Evangelos, P. Misiakos, F. Constantine, N. Christos, Stoidis. 2011. Antioxidant Properties of Probiotics and Their Protective Effects in the Pathogenesis of Radiation-Induced Enteritis and Colitis. *Dig. Dis. Sci.*: 56: 285–294.

Dawn, B.M., D. M. Allan, dan M.S. Colleen. 2000. Metabolisme Oksigen dan Toksisitas Oksigen. In: Joko S, Vivi S, Lydia IM (editors). *Biokimia kedokteran dasar: sebuah pendekatan klinis*. EGC, Jakarta.

Dewi, I. G. A. K., I. G. N. A. D. Putra dan I. N. Sujaya. 2013. Pengembangan Starter dari *Lactobacillus* spp. Isolat Susu Kuda Sumbawa untuk Pembuatan Susu Terfermentasi. *J. Farm. Udayana*: 2 (1) Th. 2013. ISSN: 2301-7716.

EL-Adawi, H. I., M. A. Khalil, M. M. EL-Sheekh, N. M. El-Deeb dan M. Z. Hussein. 2011. Cytotoxicity Assay and Antioxidant Activities of The Lactic Acid Bacterial Strain. *Afri. J. Microbiol. Res.*: 6(8): 1700-1712.

FAO/WHO. 2001. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. American Córdoba Park Hotel, Argentina.

FAO/WHO. 2002. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London.

Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Goldberg, G. 2003. *Plants: Diet and Health*. I Owa State Press, Blackwell Publishing Company, 2121 State Avenue, Ames, USA.

Gordon, M. H. 1990. The Mechanism of Antioxidants Action in Vitro. In: Hudson, B. J. F. (ed). *Food Antioxidants*. Els. Appl. Sci. London- New York.

Gurer, H., dan N. Ercal. 2000. Can Antioxidant Be Beneficial in The Treatment of Lead Poissioning? *Free Rad. Biomed.*: 29(10):927-945.

- ISAPP. 2009. Clarification of the Definition of a Probiotic. www.isapp.net. Diakses tanggal: 21 Feb 2016.
- Kim, H. S., H. S. Chae, S. G. Jeong, J. S. Ham, S. K. Im, C. N. Ahn dan J. M. Lee. 2006. *In vitro* Antioxidative Properties of *Lactobacilli*. Asian-Aust. J. Anim. Sci.: 2006. 19 (2): 262-265.
- Kullisaar, T., M. Zilmer, M. Mikelsaar, T. Vihalemm, H. Annuk, C. Kairane, dan A. Kilk. 2002. Two Antioxidative *Lactobacilli* Strains as Promising Probiotics. Int. J. Food Microbiol: 72: 215-224.
- Lee, J., Y. Kim, H. S. Yun, J. G. Kim, S. Oh, dan S. H. Kim. 2010. Genetic and Proteomic Analysis of Factors Affecting Serum Cholesterol Reduction by *Lactobacillus acidophilus* A4. Appl. Environ. Microbiol: 76(14): 4829-4835.
- Muller, F.L., M. S. Lustgarten, Y. Jang, A. Richardson, dan H. V. Remmen. 2007. Trends in Oxidative Aging Theories. Free Radical Bio. Med.: 43: 477-503.
- Nocianitri, K.A., I. N. Sujaya, dan Y. Ramona. 2016. Aktivitas antioksidan *Lactobacillus* spp untuk pengembangan probiotik. J. Media Ilmiah Tek. Pangan: (3)1: 43 – 52, 2016. ISSN: 2407-3814.
- Ou, C. C., T. M. Lu, J.W. Tsai, J. H. Yen, H.W.Chen Dan M. Y. Lin. 2009. Antioxidative Effect of Lactic Acid Bacteria: Intact Cells vs. Intracellular Extracts. J. Food Drug Anal.: 17 (3) Th. 2009: 209-216.
- Pompella, A., A. Visvikis, A. Paolicchi, V. D. Tata, dan A. F. Casini. 2003. The Changing Faces of Glutathione, a Cellular Protagonist. Biochem. Pharmacol: 66: 1499–1503.
- Syafiqoh, N. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Efek Antidiabetes Probiotik *Lactobacillus Plantarum* Sk (5) Asal Bekasam. Skripsi. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.
- Samichah. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Penerimaan Organoleptik Yoghurt Sari Wortel (*Daucus Carrota L*). Artikel Penelitian. PS Ilmu Gizi FK UNDIP. Semarang.
- Santi, L. P., A. Dariah dan D. H. Goenadi. 2008. Peningkatan Kemantapan Agregat Tanah Mineral Oleh Bakteri Penghasil Eksopolisakarida. J. Menara Perkebunan.: 76(2): 93-103.
- Songisepp, E., T. Kullisaar, P. Hutt, P. Elias, T. Brilene, M. Zilmer, M. Mikelsaar. 2004. A New Probiotic Cheese with Antioxidative and Antimicrobial Activity. J Dairy Sci.: 87: 2017-2023.
- Surono, I. S. 2004. Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan. Tri Cipta Karya, Jakarta.
- Suryani, Y., A. B. Oktavia, dan S. Umniyati. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Kotoran Ayam sebagai Agensi Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase. Biologi dan Pengembangan Profesi Pendidik Biologi. Biota. 12 (3): 177-185.
- Takahashi, R., R. Ohmori, C. Kiyose, Y. Momiyama, F. Ohsuzu, dan K. Kondo. 2005. Antioxidant Activities of Black and Yellow Soybeans against Low Density Lipoprotein Oxidation. J. Agric. Food Chem.: 53: 4578-4582.
- Tallon, R., P. Bressollier dan M. C. Urdaci. 2006. Isolation and Characterization of Two Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14643409>. Diakses tanggal: 24 Mei 2017.
- Uni, I. A. S. M. 2012. Isolasi Bakteri Asam Laktat Penghidrolisis Garam Empedu dari Feses Bayi dan Uji Ketahanan Terhadap pH Rendah untuk Pengembangan Probiotik. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA UNUD. Denpasar.
- Weichselbaum, E. 2009. Probiotics and Health: a Review of The Evidence. Nutri. Bull.: 34:340–373.
- Zhang, S., L. Liu, Y. Su, H. Li, Q. Sun, X. Liang dan Jiaping. 2011. Antioxidative Activity of Lactic Acid Bacteria in Yogurt. Afri. J. Microbiol. Res.: 5 (29): 5194-5201.
- Zubaidah, E., Y. Liasari dan E. Saparianti. 2008. Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2 pada Produk Probiotik Berbasis Buah Murbei. J. Tek. Pertanian: 9 (1): 59-68.