

**STUDI VIABILITAS ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT YANG
DIISOLASI DARI ASINAN REBUNG BAMBUTABAH TERHADAP pH
RENDAH DAN GARAM EMPEDU**

*Viability Studies of Lactic Acid Bacteria Isolates Isolated from Tabah Bamboo Shoots Pickle
on Low pH and Bile Salts*

Nurul Octavia Wasis, Nyoman Semadi Antara*, Ida Bagus Wayan Gunam

PS Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit
Jimbaran, Badung, Kode pos : 80361; Telp/Fax : (0361) 701801.

Diterima 08 Oktober 2018 / Disetujui 07 November 2018

ABSTRACT

Tabah bamboo shoot pickle is one of the fermented food which is the source of lactic acid bacteria. Lactic acid bacteria (LAB) is beneficial to health because it has the ability as a probiotic. Lactic acid bacteria that have probiotic criteria should have resistance to low pH and bile salts. This study aims to determine isolates of lactic acid bacteria isolated from tabah bamboo shoot pickle resistant to low pH and bile salts (NaDC). Lactic acid bacteria were tested to low pH by using MRS broth that have different pH (pH 2, pH 3, pH 4 and pH 6.2 as a control) incubated at 37°C for 3 hours. isolates were survive in low pH then continued in bile salt resistance test with 0.3% bile salt concentration for 15 minutes, 30 minutes, 45 minutes, 60 minutes and 24 hours. The results showed that three isolates out of 88 isolates had ability to grow in low pH and in medium supplemented by NaDC 0,3%. The isolates are AR 3057, AR 3101 and AR 6152 which can be used as candidat of probiotic.

Keywords : Tabah bamboo shoot pickle, lactic acid bacteria, probiotic, low pH, bile salt

ABSTRAK

Asinan rebung bambu tabah merupakan salah satu pangan terfermentasi yang merupakan sumber bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat bermanfaat bagi kesehatan karena memiliki kemampuan sebagai probiotik. Bakteri asam laktat yang memiliki kriteria probiotik harus memiliki ketahanan terhadap pH rendah dan garam empedu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui isolat bakteri asam laktat hasil isolasi dari asinan rebung bambu tabah yang tahan terhadap pH rendah dan garam empedu (NaDC). Pengujian ketahanan BAL terhadap pH rendah dengan menggunakan media MRS *broth* yang memiliki pH berbeda yaitu pH 2, 3, 4 dan 6,2 sebagai kontrol yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 jam. Isolat yang mampu bertahan hidup pada pH rendah kemudian dilanjutkan pada uji ketahanan garam empedu, dengan konsentrasi garam empedu 0,3% selama 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit dan 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan 3 isolat dari 88 isolat bakteri asam laktat hasil dari asinan rebung bambu tabah yang telah diuji memiliki kemampuan untuk berkembang pada pH rendah dan media yang disuplemen NaDC 0,3%. Isolat tersebut yaitu AR 3057, AR 3101 dan AR 3152 yang dapat digunakan sebagai kandidat probiotik.

Kata kunci : Asinan rebung bambu tabah, bakteri asam laktat, probiotik, pH rendah, garam empedu.

*Korespondensi Penulis:

Email: semadi.antara@unud.ac.id

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki makanan tradisional yang sangat beragam. Berbagai macam jenis makanan tradisional yang banyak digemari adalah makanan yang difermentasi. Salah satu produk pangan terfermentasi adalah asinan. Asinan termasuk ke dalam fermentasi asam laktat dimana dalam proses fermentasinya merupakan fermentasi spontan. Asinan dapat dibuat dari berbagai macam buah-buahan dan sayuran. Salah satu jenis asinan dari sayuran adalah asinan dari rebung bambu tabah (*Gigantochloa nigrociliata* Burze-Kurz).

Asinan rebung bambu tabah adalah salah satu produk pangan terfermentasi yang merupakan sumber bakteri asam laktat. Kelebihan asinan rebung bambu tabah sebagai sumber bakteri asam laktat karena adanya penambahan garam dalam proses fermentasi yang berperan sebagai medium selektif bagi bakteri asam laktat yang dapat mempercepat pertumbuhan bakteri asam laktat, bakteri asam laktat tersebut dominan ditemukan pada proses fermentasi.

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang bermanfaat bagi kesehatan karena berfungsi menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan. Bakteri asam laktat yang memiliki kriteria probiotik harus memiliki toleransi tinggi terhadap pH rendah dan garam empedu. Menurut Makinan *et al.* (2012) probiotik harus mampu bertahan dalam saluran pencernaan dengan pH yang sangat rendah di dalam lambung serta mampu mentoleransi garam empedu. Hardiningsih *et al.* (2006) dalam penelitiannya menyatakan bahwa apabila individu dalam keadaan berpuasa, kondisi lambung dapat mencapai pH 2 dan banyak mikroorganisme termasuk *Lactobacillus* hanya dapat bertahan hidup selama 30 detik sampai beberapa menit.

Ketahanan terhadap garam empedu juga penting agar bakteri mampu tumbuh dan beraktivitas dalam usus halus karena dinding

sel bakteri terdiri dari lemak sehingga berpeluang terjadinya lisis (Mourad dan Eddine, 2006). Zhang *et al.* (2016) hasil penelitiannya menunjukkan 21 isolat dari Tibeat Qula memiliki toleransi terhadap garam empedu pada konsentrasi 0,3%.

Berdasarkan adanya bakteri asam laktat hasil isolasi dari asinan rebung bambu tabah serta besarnya manfaat yang dihasilkan dari bakteri asam laktat tersebut untuk dijadikan probiotik. Maka perlu dilakukan penelitian untuk menguji kemampuan bakteri asam laktat hasil isolasi dari asinan rebung bambu tabah terhadap pH rendah dan garam empedu sebagai calon kandidat bakteri probiotik.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan Jurusan Teknologi Industri Pertanian Universitas Udayana, Laboratorium Mikrobiologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana dan Laboratorium Analisis Pangan Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Udayana. Penelitian ini dilaksanakan pada Maret sampai Juli 2018.

Bahan dan Alat

Kultur bakteri yang digunakan adalah isolat bakteri asam laktat hasil isolasi dari asinan rebung tabah yang diambil dari Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan Universitas Udayana yang disimpan dalam stock gliserol. Asinan rebung tabah juga didapatkan dari Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan. Isolat yang didapatkan sebanyak 88 isolat yang telah diberi kode, De Man Rogosa Sharpe Broth (MRSB) dengan merek Merck, NaOH 0,1 N, HCl, 0,85% NaCl, garam empedu Natrium Deoksikolat (NaDC) merek Sigma, methanol, kristal violet, Lugol's iodine, alkohol, safranin, bromocressol purple.

Alat yang digunakan untuk penelitian ini antara lain spektrofotometer (Thermo), mikroskop (Novel), pH meter (Toa Ion Meter Im-40s), *laminar air flow* (Esco), *waterbath* (Wina Instruments), inkubator (Memmert), *autoclave* (All American Model 1925X), *magnetic stirrer* (Iwaki Stirer BS 38), cawan petri (Pirex-Iwaki), tabung reaksi (Pirex-Iwaki), Erlenmeyer (Pirex-Iwaki), tip biru, tip kuning, tip kristal, pipetman 20 P, 200 P dan 1000 P (Gilson), aluminium foil (Klin Pak), *ependorf*, lampu bunsen, jarum ose, *vortex* (Labinco L 46), timbangan (AND), kulkas (Toshiba), *freezer*, *syringe filter* (Corning) dan selop tangan.

Tahapan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi untuk mengetahui kemampuan bakteri asam laktat hasil isolasi dari asinan rebung bambu tabah terhadap pH rendah dan garam empedu. Tahap pertama yaitu penentuan isolat BAL yang memiliki ketahanan terhadap pH rendah dengan media yang digunakan yaitu media MRSB pada pH 2, 3, 4 dan pH 6,2 sebagai kontrol. Kemudian diinkubasi di dalam *waterbath* selama 3 jam pada suhu 37°C. Percobaan tahap pertama dilakukan sebanyak tiga kali.

Hasil penelitian pada tahap pertama, kemudian dilanjutkan pada tahap ke dua yaitu ketahanan terhadap garam empedu. Pada tahap ini digunakan penambahan NaDC 0,3% dan tanpa penambahan NaDC sebagai kontrol dan diinkubasi selama 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit dan 24 jam pada suhu 37°C. Percobaan tahap kedua dilakukan sebanyak tiga kali. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan dibahas Secara Deskriptif.

Pelaksanaan Penelitian

Konfirmasi isolat BAL

Delapan puluh delapan isolat BAL hasil isolasi dari asinan rebung bambu tabah dilakukan konfirmasi isolat BAL terlebih dahulu untuk memastikan bahwa bakteri

yang akan digunakan pada pengujian kemampuan tumbuh pada pH rendah dan garam empedu sebagai probiotik merupakan bakteri asam laktat. Konfirmasi isolat BAL yang dilakukan adalah morfologi sel, sifat fisik koloni, pewarnaan Gram dan uji katalase.

Sifat fisik koloni diamati dengan metode makroskopik dengan melihat langsung koloni isolat bakteri yang tumbuh pada media yang meliputi bentuk, warna koloni, serta zona asam disekitar koloni yang muncul pada media MRSA yang ditambahkan BCP (bromocresol purple).

Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara: satu loop kultur isolat disebarkan pada gelas obyek. Selanjutnya difiksasi dengan dipanaskan diatas bunsen, isolat yang telah kering kemudian ditetaskan pewarna kristal violet di atas film pada gelas obyek selama 2 menit, kemudian dibilas dengan aquades lalu dikeringkan. Setelah itu, lapisan film kultur ditetesi dengan larutan lugol selama 1 menit, setelah itu dibilas kembali dengan aquades. Kemudian dicuci warnanya dengan menggunakan alkohol 95% selama 10-20 detik. Setelah dicuci sebentar, kemudian lapisan film kultur diwarnai dengan larutan safranin selama 10-20 detik. Setelah dibilas dengan aquadest dan dikeringkan, lapisan film bakteri diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali (Fardiaz, 1987).

Uji katalase dilakukan terhadap 88 isolat. satu ose kultur isolat segar ditetesi dengan H₂O₂ dengan konsentrasi 10% dan diamati gelembung gas yang terbentuk. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya gelembung gas oksigen yang dihasilkan dari degradasi H₂O₂ oleh enzim katalase, sedangkan pada hasil negatif tidak diikuti oleh terbentuknya gas (Hadioetomo, 1990).

Pembuatan media pH rendah

Pembuatan media diawali dengan menimbang semua bahan kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml dan

ditambahkan aquades. Kemudian di homogenkan dengan menggunakan stirrer. Pengaturan pH media dengan menambahkan HCl dan NaOH 0,1 kemudian diatur sesuai dengan pH yang diinginkan (2, 3, 4, 6,2). Selanjutnya dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi yang suhunya 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm (Hadioetomo, 1985).

Penyegaran isolat bakteri asam laktat

Sebanyak 50 µl bakteri asam laktat yang telah di isolasi dari rebung bambu tabah diambil dari kultur stok gliserol. Kemudian dimasukkan ke dalam 3 ml MRS *broth* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu diamati pertumbuhan bakteri asam laktat yang ditandai dengan meningkatnya kekeruhan pada media MRS *broth* (Sujaya *et al.*, 2008)

Viabilitas BAL pada media pH rendah

Isolat kultur BAL yang telah dilakukan penyegaran dan telah tumbuh kemudian diukur pertumbuhannya dengan spektrofotometer untuk menentukan pertumbuhan awal bakteri asam laktat tersebut. Selanjutnya isolat yang telah tumbuh disuspensikan sebanyak 100 µl ke dalam tabung reaksi yang masing-masing telah berisi 5 ml media MRS *broth* dengan pH 2, 3, 4 dan 6,2. Setelah itu diinkubasi selama 3 jam dalam waterbath pada suhu 37°C (Chou *et al.*, 1999).

Pertumbuhan BAL yang dinyatakan dengan nilai kekeruhan (optical density) pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 660_{nm} diukur pada jam ke-0 dan jam ke-3, nilai yang menunjukkan pertumbuhan populasi mencapai diatas 45% maka dinyatakan tahan terhadap pH rendah. Perhitungan viabilitas BAL yang tahan terhadap asam dengan menggunakan rumus (Zhang *et al.*, 2016):

Persentase viabilitas BAL % =

$$\frac{\text{Nilai OD akhir inkubasi} - \text{nilai OD awal inkubasi}}{\text{Nilai OD kontrol akhir inkubasi} - \text{nilai OD kontrol awal inkubasi}} \times 100\%$$

Viabilitas BAL pada media yang mengandung garam empedu

Sebanyak 50 µl bakteri asam laktat dari stok kultur disuspensikan ke dalam 3 ml MRSB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian sebanyak 100 µl suspensi ini diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi 5 ml MRSB yang ditambahkan NaDC (Sodium deoksikolat) 0,3% dan tanpa ditambahkan NaDC sebagai kontrol. Kemudian isolat BAL yang sudah diinokulasikan ke dalam media MRSB yang mengandung NaDC dan kontrol diinkubasi selama 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit dan 24 jam pada suhu 37°C di dalam waterbath. Perhitungan pertumbuhan BAL dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 660_{nm} yang diukur pada jam ke-0 dan jam setelah inkubasi. Penentuan viabilitas isolat BAL yaitu viabilitas pada pH rendah dan viabilitas pada medium yang disuplemen garam empedu (Gilliand *et al.*, 1984)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil konfirmasi isolat BAL

Semua isolat (88 isolat) terkonfirmasi sebagai BAL. Konfirmasi ini bertujuan untuk memastikan bahwa isolat yang akan digunakan merupakan isolat bakteri asam laktat. Konfirmasi isolat BAL ditunjukkan dengan sifat dari BAL itu sendiri yaitu Gram positif, dan katalase negatif. Konfirmasi isolat BAL yang dilakukan yaitu morfologi sel dan sifat fisik koloni, pewarnaan Gram dan uji katalase. Hasil konfirmasi semua isolat BAL (88 isolat) menunjukkan bahwa bakteri tersebut Gram positif dan katalase negatif, ini menandakan bahwa isolat tersebut merupakan bakteri asam laktat. Hasil penelitian Putri *et al.* (2012) juga melaporkan bahwa sebanyak 63 isolat hasil isolasi dari fermentasi kassava merupakan bakteri asam laktat dengan karakteristik Gram positif dan katalase negatif.

Morfologi sel dan sifat fisik koloni

Morfologi sel dilakukan secara mikroskopik sedangkan sifat fisik koloni dilakukan secara makroskopik dengan melihat langsung isolat yang tumbuh pada media agar meliputi warna, bentuk, tepi, permukaan serta elevasi. Isolat AR 3057, AR

3101, AR 6152 yang merupakan isolat terbaik dari 88 isolat asinan rebung bambu tabah memiliki warna kuning, bentuk koloni bulat, bentuk sel batang tepi entire dan permukaan halus, selain itu elevasi cembung Tabel 1.

Tabel 1. Morfologi sel dan sifat fisik koloni isolat BAL dari asinan rebung bambu tabah

Kode Isolat	Bentuk koloni	Bentuk sel	Elevasi	Tepian	Warna
AR 3057	Bulat	Batang	Cembung	Entire	Kuning
AR 3101	Bulat	Batang	Cembung	Eentire	Kuning
AR 6152	Bulat	Batang	Cembung	Entire	Kuning

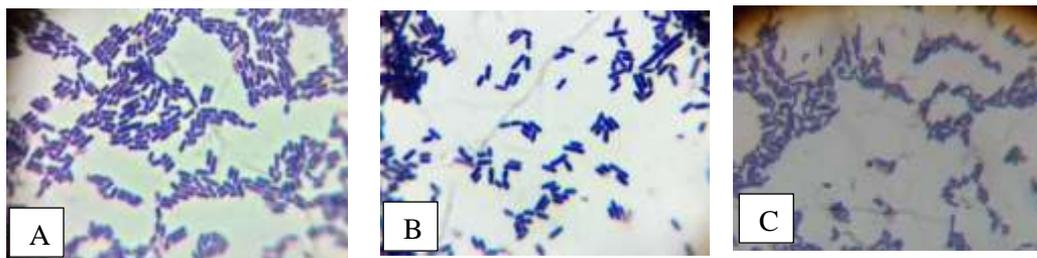
Uji pewarnaan Gram

Hasil uji pewarnaan Gram yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut merupakan bakteri Gram positif. Hasil uji pewarnaan Gram tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa bakteri isolat AR 3057, AR 3101 dan AR 6152 merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna kristal

violet. Bakteri Gram positif dapat menyerap warna ungu lugol dan tetap mempertahankan warnanya ketika dicuci alkohol karena terdapat asam teikoat yang terkandung dalam lapisan peptidoglikan. Sedangkan bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan zat pewarna kristal violet karena pori-pori pada sel tersebut mengembang dan membuat warna kristal violet keluar (Pelczar dan Chan, 2007)

Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram : (A) Isolat AR 3057; (B) Isolat AR 3101; (C) Isolat AR 6152



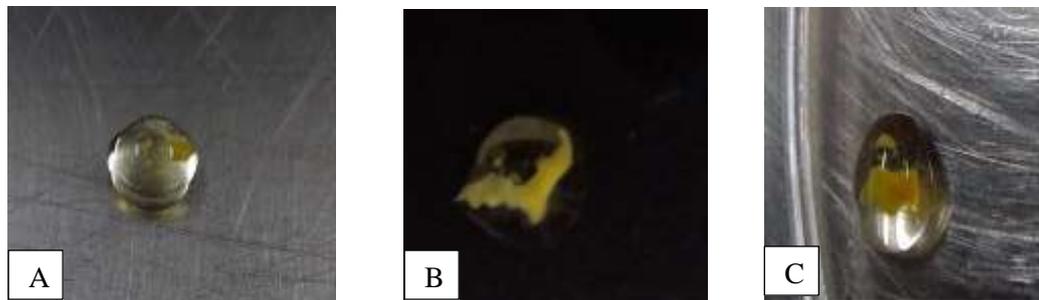
Uji katalase

Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat AR 3057, AR 3101 dan AR 6152 menghasilkan katalase negatif. Dimana ditunjukkan dengan tidak bereaksinya bakteri asam laktat terhadap H_2O_2 yang ditandai dengan tidak adanya gelembung pada cawan petri yang terdapat cairan H_2O_2 . Hasil uji katalase dapat dilihat pada Gambar 2.

Viabilitas BAL terhadap pH Rendah

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiga isolat dari 88 isolat BAL yang diisolasi dari asinan rebung bambu tabah memperlihatkan viabilitas yang baik setelah diinkubasi selama 3 jam, pada pH rendah. Isolat tersebut adalah AR 3057, AR 3101 dan AR 6152. Nilai pertumbuhan bakteri asam laktat pada OD_{660} dapat dilihat pada Tabel 2.

Gambar 2. Hasil Uji Katalase : (A) Isolat AR 3057; (B) Isolat AR 3101; (C) Isolat AR 6152

Tabel 2. Nilai pertumbuhan sel BAL pada OD₆₆₀ di media MRSB dengan pH rendah setelah inkubasi 3 jam

No	Kode Isolat	Media MRSB			
		pH 2,0	pH 3,0	pH 4,0	pH 6,2*
1	AR 3057	0,041	0,053	0,064	0,083
2	AR 3101	0,048	0,059	0,058	0,082
3	AR 6152	0,025	0,012	0,025	0,053

*medium kontrol

Pada medium kontrol (pH 6,2) isolat BAL dapat tumbuh dengan baik yang ditunjukkan dengan nilai OD yang lebih besar dibandingkan pertumbuhan pada medium dengan pH 2, 3, dan 4. Ketiga isolat yang dapat tumbuh pada pH 2 mempunyai ketahanan diatas 45% (hanya 3 isolat yg mampu bertahan) dengan ketahanannya sebesar $49,80\pm 0,002$, $59,18\pm 0,002$, dan $47,00\pm 0,009$ berturut-turut untuk isolat AR3057, AR3181, dan AR6152 (Tabel 3).

Menurut Hardianingsih *et al.* (2006) ketahanan BAL terhadap asam tidak sama antara satu spesies dengan spesies lain. Beberapa strain memiliki kondisi pertumbuhan yang berbeda-beda pada medium pH rendah ini disebabkan faktor

fisiologis dari masing-masing bakteri tersebut. Perbedaan ketahanan membran sel bakteri yang mengakibatkan kerusakan terjadi karena adanya penurunan pH ekstraseluler yang menyebabkan keragaman ketahanan sel tersebut. Hasil penelitian dari beberapa peneliti menunjukkan adanya isolat BAL yang tahan terhadap pH rendah seperti 29 isolat dari Tibatan Qula tradisional, beberapa diantaranya *L.casei* 1067 dan *L.casei* 1133 (Zhang *et al.*, 2016), 3 isolat BAL dari indigeneous kefir yaitu BAL kefir, *B.longum* Y-01, *L.acidophilus* Y-01 (Wiyana, 2011) dan 3 isolat BAL dari ampas kedelai yaitu A.23.4, A23.2, A.22.4 (Zulfidin *et al.*, 2018).

Tabel 3. Ketahanan isolat BAL terhadap pH rendah (%)

No	Kode Isolat	Media MRSB		
		pH 2	pH 3	pH4
1	AR 3057	$49,80\pm 0,002$	$63,45\pm 0,004$	$77,51\pm 0,001$
2	AR 3101	$59,18\pm 0,002$	$71,84\pm 0,003$	$71,02\pm 0,003$
3	AR 6152	$47,00\pm 0,009$	$28,00\pm 0,002$	$44,00\pm 0,001$

Keterangan : persentase = (Selisih OD akhir dan OD awal inkubasi/ Selisih OD kontrol akhir dan awal)x100%

Hasil uji ditetapkan berdasarkan rata-rata

pengukuran OD_{660nm} sebelum dan setelah

masa inkubasi selama 3 jam pada medium MRSB dengan pH yang berbeda. Ketahanan BAL sebanyak 88 isolat diantaranya memiliki sifat tahan terhadap lingkungan dengan pH 2-4, meskipun terjadi penurunan nilai pertumbuhan. Nilai presentase ketahanan isolat BAL terhadap pH rendah dapat dilihat pada Tabel 3.

Dari hasil penelitian yang dilakukan didapatkan 3 isolat yang ditumbuhkan pada medium pH rendah yang memiliki nilai pertumbuhan lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya yaitu isolat (AR 3057, AR 3101, AR 6152). Ketiga isolat tersebut mampu tumbuh pada medium pH rendah yang ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri yang tumbuh di dasar tabung reaksi dan kondisi media yang keruh. Isolat AR 3101 merupakan isolat terbaik dari 88 isolat lainnya yang mampu tumbuh pada medium pH rendah karena memiliki nilai presentase tertinggi dibandingkan dengan isolat lainnya yaitu sebesar 59,18%.

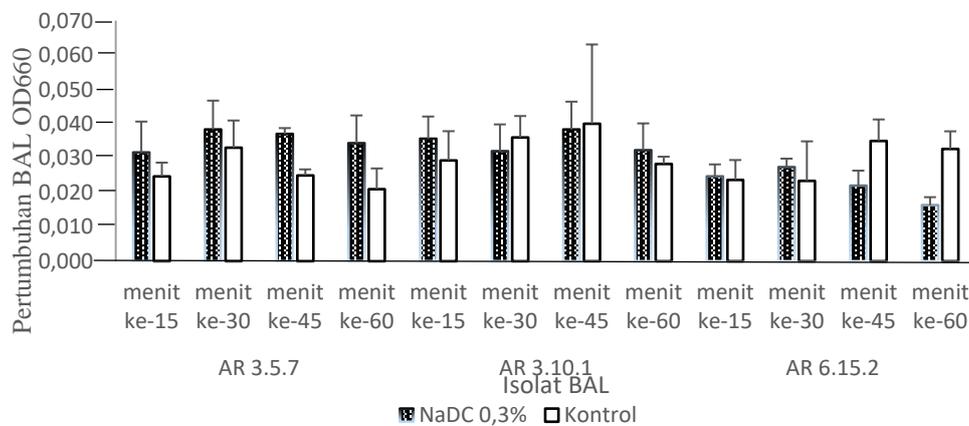
Bakteri yang tahan terhadap asam secara dinamis akan mengubah pH intraseluler seiring dengan penurunan pH ekstraseluler sehingga tidak menimbulkan gradien proton yang besar. Menurut Oh *et al.* (2000) toleransi terhadap pH yang berbeda khususnya pada pH rendah pada BAL

tergantung pada hidrogen positif (H^+) dan komposisi membran sitoplasma yang dipengaruhi oleh jenis bakteri, media pertumbuhan dan kondisi inkubasi. Kemampuan pertahanan bakteri tersebut disebabkan karena membran sel bakteri yang terdiri atas struktur lemak dua lapis. Apabila sel bakteri diberikan lingkungan asam maka membran sel tersebut akan mengalami kerusakan yang diakibatkan karena hilangnya komponen intraseluler bakteri seperti Mg, K, dan lemak sel, kerusakan ini akan menyebabkan bakteri tersebut lisis.

Viabilitas BAL terhadap Garam Empedu

Hasil pengujian pada pH rendah selanjutnya dilakukan pengujian pada garam empedu (NaDC) sebagai persyaratan kriteria bakteri probiotik. Bakteri probiotik harus mampu bertahan hidup sampai usus halus. Setelah berhasil melewati kondisi lingkungan asam lambung, probiotik akan berhadapan dengan tingginya kandungan asam-asam empedu sekunder di dalam usus halus.

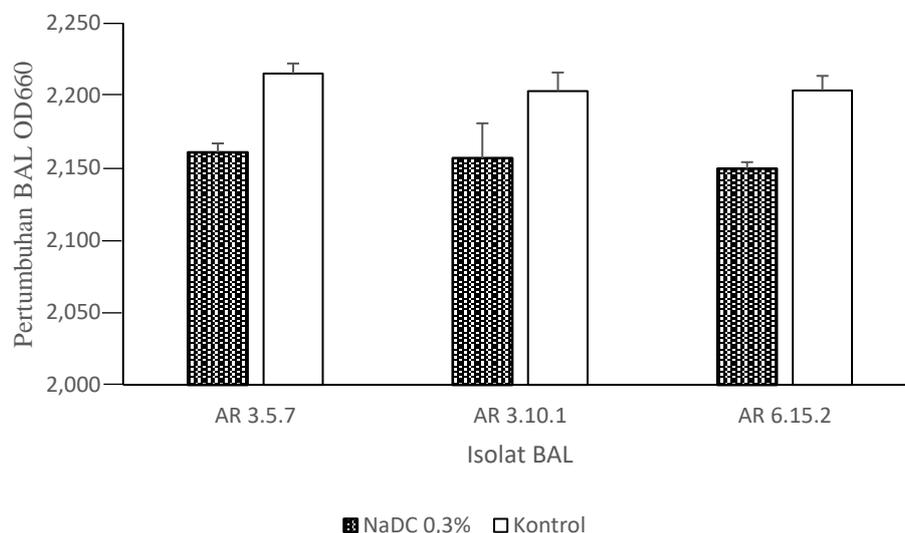
Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan isolat dalam media MRS *broth* yang telah ditambahkan garam empedu 0,3% selama 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit dan 24 jam.



Gambar 3. Viabilitas BAL asinan rebung bambu tabah terhadap garam empedu 0,3% pada menit ke-15, menit ke-30, menit ke-45, menit ke-60

Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat AR 3057, AR 3101 dan AR 6152 mampu bertahan pada kondisi medium yang ditambahkan NaDC 0,3% selama 15 menit, yang ditunjukkan dengan nilai pertumbuhan BAL pada media yang ditambahkan NaDC 0,3% lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Isolat AR 3057 mampu mempertahankan hidupnya pada media yang disuplemen NaDC sampai menit ke-60 yang dilihat dari nilai pertumbuhan BAL lebih tinggi dibandingkan media kontrol. Isolat AR 3101 mengalami penurunan pertumbuhan BAL pada menit ke-30 dan mengalami kenaikan

pertumbuhan pada menit ke-45 dan menurun kembali pada menit ke-60, ini menandakan bahwa isolat AR 3101 masih beradaptasi dengan media yang memiliki garam empedu 0,3%. Sedangkan isolat AR 6152 memiliki nilai pertumbuhan BAL pada medium yang ditambahkan NADC 0,3% mengalami peningkatan pada menit ke-30 dan menurun kembali pada menit ke-45 dan menit ke-60. Ketiga isolat tersebut kemudian dilihat pertumbuhannya kembali pada jam ke-24 untuk melihat nilai pertumbuhan BAL tersebut selama 24 jam (Gambar 4).



Gambar 2. Viabilitas BAL asinan rebung bambu tabah terhadap garam empedu 0,3% pada 24 jam.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat AR 3057, AR 3101 dan AR 6152 mampu bertahan pada kondisi medium yang ditambahkan NaDC selama 24 jam. Isolat AR 3057 memiliki nilai pertumbuhan BAL pada medium yang ditambah NaDC 0,3% sebesar 2,161 dan tanpa penambahan NaDC (kontrol) sebesar 2,215. Sedangkan isolat AR 3101 memiliki nilai pertumbuhan BAL pada medium yang ditambahkan NADC 0,3% sebesar 2,157 dan tanpa penambahan NaDC sebagai kontrol sebesar 2,203 begitupula dengan AR 6152 memiliki nilai pertumbuhan BAL sebesar 2,149 pada media yang

ditambahkan NaDC dan 2,203 pada media tanpa ditambahkan NaDC. Kemampuan isolat tersebut dalam mempertahankan hidupnya di dalam kondisi ekstrem yaitu pada penambahan NaDC dikarenakan peranan polisakarida sebagai salah satu penyusun dinding sel bakteri Gram positif.

Bakteri yang tahan terhadap garam empedu dikarenakan bakteri tersebut tidak mengalami permeabilitas seluler dan tidak mengalami kebocoran materi intraseluler akibat dari terkikisnya lipid oleh garam empedu sehingga bakteri mampu bertahan dan mengalami peningkatan populasi

(Susanti *et al.*, 2007). Selain itu dinding sel bakteri juga mempengaruhi dalam kemampuan ketahanan terhadap garam empedu. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel lebih tebal dibandingkan bakteri Gram negatif, sehingga memiliki kemampuan lebih tinggi dalam mempertahankan hidupnya pada kondisi lingkungan yang terpapar garam empedu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut AR 3057, AR 3101 dan AR 6152 mampu tumbuh pada medium yang mengandung NaDC dengan konsentrasi yang dikondisikan sama seperti beberapa hasil penelitian yang menunjukkan isolat BAL mampu bertahan pada kondisi yang diberikan garam empedu seperti isolat BAL 18 dan 48 (Menconi *et al.*, 2013), kemampuan ini merupakan salah satu syarat bakteri tersebut menjadi strain probiotik.

KESIMPULAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Dari 88 isolat bakteri asam laktat asinan rebung bambu tabah yang telah diuji terhadap pH rendah dan garam empedu sebagai kriteria kandidat probiotik didapat 3 isolat terbaik yaitu AR 3057, AR 3101 dan AR 6152. Isolat AR 3057 memiliki presentase ketahanan terhadap pH 2 sebesar 49,80% isolat AR 3101 sebesar 59,18% dan isolat AR 6152 sebesar 47%.
2. Pada uji ketahanan garam empedu ketiga isolat tersebut mampu bertahan hingga inkubasi 24 jam sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga isolat tersebut memenuhi persyaratan probiotik.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat

disarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperlukan identifikasi lanjut untuk mengetahui spesies dari ketiga isolat BAL tersebut yang berpotensi sebagai probiotik.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ketahanan bakteri asam laktat hasil isolasi dari asinan rebung bambu tabah terhadap bakteri patogen sebagai persyaratan kandidat bakteri probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Chou, L. S. & B. Weimer. 1999. Isolation and characterization of acid and bile tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. J. Dairy Sci. 62:23-31
- Fardiaz, S. 1987. Penuntun Praktek: Mikrobiologi Pangan. Lembaga Sumberdaya Informasi. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Gilliland, S. E., T. E. Stanley, and L. J. Bush. 1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. J. Dairy sci. 67:3045-3051
- Hadioetomo, R. S. 1985. Mikrobiologi dasar-dasar praktik. PT. Gramedia, Jakarta
- Hardiningsih, R., N. R. Napitupulu dan T. Yulinery. 2006. Isolasi dan uji resistensi beberapa isolat *Lactobacillus* pada pH rendah. Biodiversitas, Pusat Penelitian Biologi, LIPI, Bogor.
- Menconi, A., G. Kallapura., J. D. Latorre., M. J. Morgan., N. R. Pumford., B. M. Hargis and G. Tellez. 2014. Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria in a Commercial Probiotic Culture. Bioscience of Microbiota, Food and Health. 33(1):25-30

- Makinan, K., Berger, B., Bel-Rhlid, R., & Ananda, E. 2012. Science an in food product. *Journal of Biotechnology*, 162: 356-365
- Mourad, K. & K. N. Eddine. 2006. In vitro preselection criteria for probiotic *Lactobacillus plantarum* strains of fermented olives origin. *J. Probio. Prebio.* 1(1): 27-32
- Oh, S., S.H. Kim & R. W. Worobo. 2000. Characterization and purification of a bacteriosin produced by a potential probiotic culture, *Lactobacillus acidophilus* 30SC. *J. Dairy Sci.* 83:2747-2752
- Pelczar, M. J. & E. C. S. Chan. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Putri, Widya D.R., Haryadi, D.W. Marseno dan M.N. Cahyanto. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat amilolitik selama fermentasi growol, makanan tradisional Indonesia. *Jurnal Teknologi Pertanian* 13(1):52-60
- technology for teh mastership of probiotic application
- Susanti, I., R. W. Kusumaningtyas & F. Illaningtyas. 2007. Uji sifat probiotik bakteri asam laktat sebagai kandidat bahan pangan fungsional. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 18(2):89-95
- Wiyana, A. 2011. Karakteristik ketahanan bakteri asam laktat indigeneus kefir sebagai kandidat bakteri probiotik pada kondisi saluran pencernaan in vitro. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Zhang, B., Y. Wang., Z. Tan., Z. Li., Z. Jiao and Q. Huang. 2016. Screening of probiotic activities of *Lactobacilli* strains isolated from traditional Tobatan Qula, a raw yak milk cheese. *J.Anim. Aci.* 29(10):1490-1499
- Zuldin., E. Rossi dan A. ali. 2018. Viabilitas bakteri asam laktat yang diisolasi dari ampas susu kedelai terhadap asam klorida dan garam empedu. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau.* 5(1):1-12.