

AKTIVITAS PROBIOTIK BAKTERI *Enterococcus lactis* SA8 ASAL SUSU KERBAU SUMBAWA (*Bubalus bubalis*)

PROBIOTIC ACTIVITY OF Enterococcus lactis SA8 BACTERIA FROM SUMBAWA BUFFALO MILK (Bubalus bubalis)

Deni Harmoko¹⁾ Rizka Kusuma Ningrum¹⁾ Andra Alvianto Umbu Pati¹⁾

¹⁾Program studi S1 Mikrobiologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Maarif Hasyim Latif

Email: deni.harmoko@dosen.umaha.ac.id

ABSTRACT

The most important quality of lactic acid bacteria as probiotics used for additives is tolerance to bile salts and low pH, which allows bacteria to survive, grow, and provide therapeutic effects in the digestive tract. Probiotics are living microorganisms that can provide optimal health effects when consumed in certain amounts, even exceeding general nutrition. Lactic acid bacteria are probiotic bacteria that can provide good health benefits when consumed regularly. The growth and production of lactic acid in LAB are influenced by pH and bile salts, this ability distinguishes between species of lactic acid bacteria. LAB must have The main physiological requirements of probiotic bacteria are their resistance and tolerance to low pH and bile salts. This study aims to test E. lactis SA8 bacteria from Sumbawa Buffalo milk to determine their probiotic activity through tests on pH resistance and their ability to live in bile salts. E. lactis SA8 bacteria have probiotic activity, which is indicated by their ability to withstand low pH, and the results of bile salt testing show the highest viability at a concentration of 0.3% with a density of 9.8×10^7 CFU/mL, which is a sign of probiotic bacteria.

Keywords: Probiotics, lactic acid bacteria, *Enterococcus lactis* SA8, pH and bile salt tests

PENDAHULUAN

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang dapat memberikan efek kesehatan secara optimal bila dikonsumsi dalam jumlah tertentu, bahkan dapat melebihi nutrisi pada umumnya (Gajjar *et al*, 2019). Bakteri asam laktat merupakan jenis bakteri probiotik, yang dapat memberikan manfaat baik bagi kesehatan bila dikonsumsi secara teratur. Salah satu kriteria yang harus dipenuhi oleh bakteri probiotik diantaranya dapat bertahan dalam kondisi pH yang sangat rendah, dikarenakan bakteri probiotik akan memasuki lambung (Bawole *et al*, 2018).

Kualitas terpenting bakteri asam laktat sebagai probiotik yang digunakan untuk bahan tambahan adalah toleransi terhadap garam empedu dan pH rendah, yang memungkinkan bakteri bertahan, berkembang, dan

memberikan efek terapeutiknya di saluran pencernaan (Przerwa *et al*, 2021).

Pengaruh probiotik dalam kesehatan telah banyak dibuktikan, diantaranya dapat menstimulasi sel imun, yang ditandai dengan respon sel imun semakin meningkat, menurunkan kadar karsinogenik, menstabilkan kadar kolestrol di dalam darah, serta memperbaiki toleransi terhadap laktosa, keseluruhan ini memberi efek positif terhadap inangnya (Silaban *et al*, 2020).

Mengonsumsi probiotik secara rutin, dapat mempengaruhi komposisi microbiota pada usus, yang dapat menurunkan dan mencegah munculnya penyakit Alzheimer. Selain itu, probiotik juga dapat meningkatkan diversitas mikroba baik yang berada di dalam tubuh, sehingga berperan dalam mengubah metabolit yang dapat menurunkan terjadinya

peradangan. Kelebihan lain dari bakteri probiotik yaitu, memiliki kemampuan antagonistik terhadap bakteri enterik, sehingga mampu mempertahankan jumlah sel hidup yang berada dalam saluran pencernaan (Asnita & Meryandini, 2018). Kestabilan bakteri probiotik di dalam tubuh menunjukkan ketahanan yang baik terhadap pengaruh lingkungan di sistem pencernaan (Utami, 2013).

Pertumbuhan serta produksi asam laktat pada BAL dipengaruhi oleh pH dan garam empedu, kemampuan ini yang membedakan antar spesies bakteri asam laktat. Syarat fisiologis utama yang harus dimiliki BAL sebagai bakteri probiotik yaitu ketahanan serta toleransinya terhadap pH rendah dan garam empedu. Hal ini dikarenakan untuk sampai di usus besar, bakteri probiotik akan melewati lambung yang memiliki kondisi asam (Okfrianti *et al*, 2018).

Aktivitas probiotik dari bakteri asam laktat jenis *E. lactis* SA8 asal susu Kerbau Sumbawa masih belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan menguji bakteri *E. lactis* SA8 asal susu Kerbau Sumbawa untuk mengetahui aktivitas probiotiknya melalui uji terhadap ketahanan pH dan kemampuan hidupnya dalam garam empedu.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya. Parameter yang diuji yaitu ketahanan terhadap pH dan garam empedu.

Uji Ketahanan pH

Pengujian bakteri terhadap ketahanan pH rendah dilakukan dengan cara mempersiapkan kultur stok sebanyak 50 µl kultur, dan diinokulasi ke dalam 5 ml MRSB, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Berikutnya 100 µl suspensi bakteri dimasukkan ke dalam 900 µl MRSB yang telah

diatur pH nya (pH 2, 3, 4, dan 5) serta untuk kontrol menggunakan pH 6,5. Selanjutnya diinkubasi pada *water bath* dengan suhu 37°C selama 4 jam. Kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 7000 rpm, dan supernatan dibuang. Pelet sel dicuci dengan 300 µL normal salin, lalu divortex dan disentrifugasi pada 7000 rpm selama 5 menit. Setelah itu, menambahkan 300 µL normal salin pada pelet sel, dan 50 µL diambil dan diinokulasikan pada 5 ml MRSB pH 7, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Seluruh tahapan dilakukan 3 kali pengulangan, sesuai dengan jumlah pengaturan pH. Selanjutnya dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) menggunakan *spektrofotometer* dengan panjang gelombang 660 nm, dan berlaku ketentuan $OD < 0,1$ maka bakteri dikategorikan tidak tahan terhadap pH rendah, dan $OD \geq 0,1$ maka dikategorikan tahan terhadap pH rendah (Agestiawan *et al*, 2014).

Uji Ketahanan Garam Empedu

Pengujian bakteri terhadap ketahanan garam empedu dilakukan melalui metode TPC, diawali dengan menyetarakan densitas sel bakteri *E. lactis* SA8 hingga 10^8 CFU/mL, kemudian menumbuhkannya kedalam MRSB yang telah ditambahkan 0,3%, 1%, 2%, dan 5% oxgall, diinkubasi pada suhu 25-30°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, dari masing-masing media dengan variasi kadar garam diambil sebanyak 1 ml dan diinokulasikan pada media MRSA, masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan, setelah itu diinkubasi kembali. Pada akhir inkubasi dilakukan perhitungan jumlah total (Rahmiati dan Simanjuntak, 2019).

Analisis Data

Data hasil pengujian dianalisis menggunakan *One Way Anova* pada software SPSS 16.0. Kemampuan bakteri pada tiap perlakuan konsentrasi berbeda diuji menggunakan uji Tukey, dan dianalisis statistik pada tingkat kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bakteri *E. lactis* SA8 dapat dikategorikan tahan terhadap kondisi pH rendah, hal ini ditunjukkan dengan nilai OD $\geq 0,1$ pada tiap perlakuan dengan menggunakan pH 5, 4, 3, dan 2. Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil pengukuran nilai absorbansi, diketahui bahwa jumlah sel pada tiap konsentrasi pH yang berbeda secara keseluruhan hampir mendekati nilai kontrol. Kontrol digunakan sebagai pembanding bahwasannya tidak terdapat perubahan densitas sel secara signifikan, yang dipengaruhi oleh konsentrasi pH asam (Tabel 1).

Isolat BAL yang menunjukkan sifat tahan terhadap pH rendah memiliki nilai OD $\geq 0,1$ (Agestiawan *et al*, 2014). Berdasarkan hal ini, bakteri *E. lactis* SA8 dapat digolongkan sebagai bakteri tahan terhadap pH rendah yang ditunjukkan dengan nilai OD $> 1,5$ dari tiap pengujian pH, yang merupakan karakteristik dari bakteri probiotik. Diketahui terdapat penurunan nilai OD pada tiap perlakuan uji. Pengujian menggunakan pH 5 memiliki OD tertinggi yaitu 2,114, dan pH 2 dengan nilai OD terendah yaitu 1,682. Hal ini dikarenakan banyak sel *E. lactis* SA8 yang menyesuaikan pada lingkungan yang sangat asam (pH 2). Berdasarkan hasil penelitian ini, diperoleh kesimpulan bahwa kondisi ideal yang baik untuk pertumbuhan *E. lactis* SA8 yaitu pada kondisi pH 5 dengan nilai OD paling tinggi, bahkan lebih tinggi dari nilai OD pada kontrol.

Pertumbuhan bakteri semakin berkurang sebanding dengan penurunan pH. Hal ini diakibatkan oleh adanya kerusakan yang terjadi pada struktur sel bakteri akibat rendahnya pH, sehingga menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan bakteri terganggu (Utami *et al*, 2019). Penurunan nilai pH dapat terjadi seiring bertambahnya waktu penyimpanan (Pangestu *et al*, 2021).

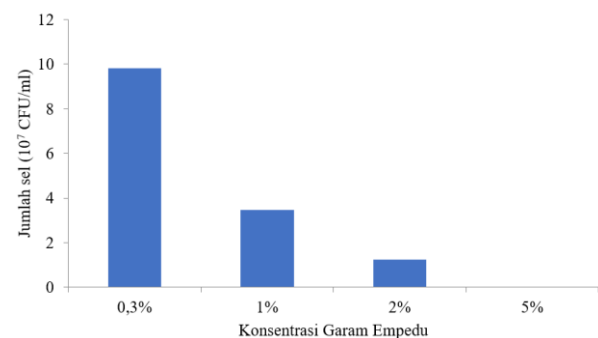
Tabel 1. Nilai Absorbansi Ketahanan Isolat Bakteri *E. lactis* SA8 terhadap pH Rendah

| Konsentrasi pH | Optical Density |
|------------------|------------------|
| pH 6,5 (Kontrol) | 1,974 \pm 0,17 |
| pH 2 | 1,682 \pm 0,10 |
| pH 3 | 1,819 \pm 0,12 |
| pH 4 | 1,875 \pm 0,12 |
| pH 5 | 2,114 \pm 0,20 |

Keterangan:

Nilai OD \pm standar deviasi nilai absorbansi bakteri *E. lactis* SA8 dengan rata-rata 3 kali pengulangan

Bakteri asam laktat umumnya memiliki ketahanan terhadap pH yang rendah, sebagai syarat suatu BAL dapat dijadikan probiotik maka BAL tersebut harus memiliki ketahanan terhadap pH rendah. Alasan ini dikarenakan lambung memiliki nilai keasaman pH 2-4, kondisi asam tersebut dipengaruhi oleh adanya produksi HCl yang terdapat pada lambung (Bawole *et al*, 2018).



Gambar 1. Toleransi *E. lactis* SA8 terhadap konsentrasi garam empedu

Hasil pengujian ketahanan terhadap garam empedu menunjukkan bahwa isolat bakteri *E. lactis* SA8 tahan terhadap konsentrasi 0,3% - 2% garam empedu. Viabilitas tertinggi pada konsentrasi 0,3% dengan densitas $9,8 \times 10^7$ CFU/mL. Sedangkan pada konsentrasi 1% dan 2% masing-masing dengan densitas sel yaitu $3,4 \times 10^7$ CFU/mL dan $1,2 \times 10^7$ CFU/mL. Pada konsentrasi 5% isolat bakteri *E. lactis* SA8 tidak menunjukkan adanya aktivitas pertumbuhan (Gambar 1). Menurut Felix dkk 2014, mikroba yang dapat tumbuh dalam media MRSA yang telah

ditambah oxgall dengan konsentrasi 0,3%, dinyatakan sebagai mikroba yang memiliki ketahanan terhadap garam empedu.

Metabolisme probiotik di dalam usus besar manusia, secara tidak langsung dapat berperan terhadap kesehatan manusia. Probiotik yang dikonsumsi akan melewati beberapa organ saluran pencernaan, antara lain lambung, usus halus hingga sampai ke usus besar, yang mana masing-masing dari organ tersebut memiliki kondisi yang berbeda. Konsentrasi kandungan garam empedu pada saluran usus berkisar 0,3% (b/v), sehingga pemilihan kandidat probiotik harus memenuhi syarat fisiologis terhadap konsentrasi tersebut. (Asnita & Meryandini, 2018).

Ketahanan bakteri terhadap garam empedu berpengaruh terhadap aktivitas metabolisme bakteri pada usus halus. Bakteri asam laktat dapat dikategorikan sebagai probiotik bila dapat bertahan hidup di dalam saluran pencernaan terutama usus yang memiliki konsentrasi empedu berkisar 0,3% hingga 0,5%. Ketahanan BAL dalam garam empedu dipengaruhi oleh adanya peptidoglikan yang melindungi sel terhadap kerusakan (Fahmi *et al*, 2023).

Struktur amphipatik pada garam empedu dapat melarutkan lipid, sehingga hal ini menjadi faktor penghambat pada pertumbuhan bakteri, dikarenakan substansi sel yang mengandung lipid dapat pecah akibat garam empedu tersebut (Felix *et al*, 2024). Kemampuan BAL dalam mendekongugasi garam empedu, dipengaruhi oleh adanya produksi enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH), yang memiliki manfaat sebagai pertahanan BAL terhadap keasaman intraseluler akibat garam empedu yang terkonjugasi (Febrina *et al*, 2019).

Beberapa manfaat kesehatan berasal dari BAL yang digunakan sebagai probiotik antara lain mampu menurunkan gangguan peradangan pada usus, menstabilkan adanya respon alergi dari lingkungan, mengendalikan aktivitas bakteri patogen, memperkaya kandungan gizi

(Suryani & Gaffar, 2024). Penggunaan bakteri yang bermanfaat (probiotik) untuk mengendalikan atau menghambat bakteri patogen melalui proses kompetitif merupakan strategi pengendalian penyakit yang lebih efisien (Widigdo *et al*, 2021).

Probiotik bermanfaat dalam mencegah penyakit gastrointestinal, dan memodulasi mikrobioma manusia. Makanan yang difermentasi oleh strain bakteri probiotik tertentu menunjukkan adanya manfaat kesehatan bagi manusia (Ibrahim *et al*, 2023). Bakteri probiotik, seperti *Bacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, dan beberapa ragi, merupakan kandidat kultur terbaik untuk meningkatkan proses fermentasi, serta meningkatkan kesehatan pencernaan yang dapat digunakan sebagai suplemen makanan fungsional penting (Tawab *et al*, 2023).

Toleransi asam dan garam empedu merupakan sifat penting bagi mikroorganisme probiotik yang membantu mereka bertahan hidup melalui saluran gastrointestinal. *E. faecium* dan *L. lactis* dalam kondisi gastrointestinal menunjukkan kemampuan bertahan hidup dalam kondisi asam dan basa. *L. lactis* lebih sensitif terhadap kondisi asam dan garam empedu, melalui viabilitas sel yang menurun dengan cepat dibandingkan dengan *E. faecium* (Dowdell *et al*, 2020).

Strain *E. faecium* dilaporkan memiliki sifat probiotik dan memberikan efek kesehatan yang positif. Strain *E. lactis* juga dilaporkan aman dan memiliki sifat probiotik. Bakteri *Enterococcus* merupakan mikroflora asli yang menghuni saluran cerna manusia dan memiliki manfaat yang berbeda dalam industri susu. Strain *Enterococcus* dapat bertahan hidup dalam kondisi ekstrem, yaitu pada pH 2 (Tawab *et al*, 2023).

Enterococcus lactis SA8 menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *Salmonella* Typhi, sensitif terhadap antibiotik cefazolin, serta tidak memiliki aktivitas hemolisis (Harmoko *et al*, 2022).

KESIMPULAN

Bakteri *E. lactis* SA8 memiliki aktivitas probiotik, yang ditunjukkan adanya ketahanan terhadap pH rendah, dan hasil pengujian garam empedu menunjukkan viabilitas tertinggi pada konsentrasi 0,3% dengan densitas $9,8 \times 10^7$ CFU/ mL, yang merupakan tanda dari bakteri probiotik. *E. lactis* SA8 juga memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *B. cereus*, *E. coli*, dan *Salmonella* Typhi, sensitif terhadap antibiotik cefazolin, serta tidak memiliki aktivitas hemolisis, yang merupakan standar dalam pemilihan kandidat sebagai bakteri probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agestiawan, I.G.A.M., Swastini, D.A., Ramona, Y., 2014. Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Kimchi Terhadap pH Rendah 22–27. <https://doi.org/10.5205/jurnal.farmasiudayana.3.2.22-27>
- Asnita, D., Meryandini, A., 2018. Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik dari Susu Kuda Bima. Sumberd. Hayati 9, 49–54. <https://doi.org/10.29244/jsdh.9.2.49-54>
- Bawole, K. V., Umboh, S.D., Tallei, T.E., 2018. Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kubis Merah (*Brassica oleracea* L.) Pada pH 3. J. MIPA 7, 20. <https://doi.org/10.35799/jm.7.2.2018.20624>
- Dowdell, P., Chankhamhaengdecha, S., Panbangred, W., Janvilisri, T., Aroonnuan, A., 2020. Probiotic Activity of *Enterococcus faecium* and *Lactococcus lactis* Isolated from Thai Fermented Sausages and Their Protective Effect Against *Clostridium difficile*. Probiotics Antimicrob. Proteins 12, 641–648. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09536-7>
- Fahmi, A., Syukur, S., Chaidir, Z., Melia, S., 2023. Isolation and molecular characterization of probiotic from Sidamanik green tea (*Camellia sinensis*) fermentation. Biodiversitas 24, 4277–4288. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240809>
- Febrina, N.N.T., Bahri, S., Rasmi, D.A.C., 2019. Susu Segar Kambing Etawa Yang Difermentasi Dalam Bambu Betung (*Dendrocalamus Asper*) Dan Bambu Tali (*Gigantochloa Apus*) Sebagai Probiotik Bakteri Asam Laktat. J. Pijar Mipa 14, 89–94. <https://doi.org/10.29303/jpm.v14i1.1054>
- Felix, Chandra, R., Fachrial, E., 2024. Potensi Probiotik Isolat Dnh 16 Dalam Menurunkan Kadar Kolesterol Secara in Vitro. J. Kesehat. Masy. 8, 101–112. <https://doi.org/10.31004/prepotif.v8i1.21342>
- Gajjar, P., Patel, P., Rathod, Z., Patel, B. V., 2019. Isolation , Characterization and Identification of Probiotic Bacteria From Fruits and Vegetables 11–23.
- Harmoko, D., Ardyati, T., Jatmiko, Y.D., 2022. Isolation and Screening of Lactic Acid Bacteria From Sumbawa Buffalo Milk (*Bubalus bubalis*) as Potential Starter Cultures. J. Exp. Life Sci. 12, 88–97.
- Ibrahim, S.A., Yeboah, P.J., Ayivi, R.D., Eddin, A.S., Wijemanna, N.D., Paidari, S., Bakhshayesh, R. V., 2023. A review and comparative perspective on health benefits of probiotic and fermented foods. Int. J. Food Sci. Technol. 58, 4948–4964. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16619>
- Okfrianti, Y., Darwis, D., Pravita, A., 2018. Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Plantarum* C410LI dan *Lactobacillus Rossiae* LS6 yang Diisolasi dari Lemea Rejang terhadap Suhu, pH dan Garam Empedu Berpotensi sebagai Prebiotik. J.

- Ilmu dan Teknol. Kesehat. 6, 49–58.
<https://doi.org/10.32668/jitek.v6i1.108>
- Pangestu, A.D., Kurniawan, K., Supriyadi, S.,
2021. Pengaruh Variasi Suhu dan Lama
Penyimpanan terhadap Viabilitas
Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Nilai
pH Yoghurt. *Borneo J. Med. Lab.
Technol.* 3, 231–236.
<https://doi.org/10.33084/bjmlt.v3i2.2169>
- Przerwa, F., Kukowka, A., Kotrych, K., Uzar,
I., 2021. Probiotics in the treatment of
gastrointestinal diseases. *Herba
Polonica.* <https://doi.org/10.2478/hepo-2021-0012>
- Rahmiati, Simanjuntak, H.A., 2019.
Kemampuan Bakteri Asam Laktat dalam
Menghambat *Salmonella thypii*. *J.
Jeumpa* 6, 257–264.
<https://doi.org/10.34007/jns.v1i3.25>
- Silaban, B.J.S., Nurhayati, L., Hartanti, A.W.,
2020. Viabilitas Probiotik *Lactobacillus
acidophilus* DLBSD102 Setelah
Mikroenkapsulasi. *J. Sains Nat.* 10, 6.
<https://doi.org/10.31938/jsn.v10i1.266>
- Suryani, E.M., Gaffar, A., 2024. Isolasi Dan
Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari
Susu Kuda Bima (*Equus sp.*) Yang
Berpotensi Sebagai Probiotik. *J. Ilm.
Biosaintropis* 9, 102–108.
<https://doi.org/10.33474/e-jbst.v9i2.561>
- Tawab, F.I.A., Abd Elkadr, M.H., Sultan,
A.M., Hamed, E.O., El-Zayat, A.S.,
Ahmed, M.N., 2023. Probiotic potentials
of lactic acid bacteria isolated from
Egyptian fermented food. *Sci. Rep.* 13,
1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43752-0>
- Utami, F., 2013. Pengaruh Suhu Terhadap
Daya Tahan Hidup Bakteri pada Sediaan
Probiotik, Repository UINHH.
- Utami, L.S., Syukur, S., Jamsari, 2019. Isolasi
bakteri probiotik penghasil protease dan
laktase dari fermentasi kakao varietas
hijau. *Chem. Prog* 5, 109–114.
<https://doi.org/10.35799/cp.5.2.2012.775>
- Widigdo, B., Yuhana, M., Iswantari, A.,
Madonsa, C., Sapitri, I.D., Wardiatno,
Y., Hakim, A.A., Nazar, F., 2021. The
impact of nitrifying probiotic to
population growth of pathogenic
bacteria, *Vibrio sp.*, and toxic nitrogen
gasses in marine shrimp culture media
under laboratory condition. *J.
Pengelolaan Sumberd. Alam dan
Lingkung.* 11, 130–140.
<https://doi.org/10.29244/jpsl.11.1.130-140>