

AKTIVITAS PROBIOTIK ISOLAT DNH 16 YANG DIISOLASI DARI DALI NI HORBO

Vicky¹, Nabila Yasmin¹, Naomi Sianturi¹, Edy Fachrial^{2,3*}

¹Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi dan Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi Klinis, Universitas Prima Indonesia, Medan

²Laboratorium Basic Science, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Medan

³Program Studi Doktor Ilmu Kimia, Program Pasca Sarjana, Universitas Riau

*Penulis korespondensi, e-mail: fachrial_edy@yahoo.co.id

Abstrak. Dali Ni Horbo merupakan makanan tradisional khas batak yang difermentasi dari susu kerbau mengandung bakteri asam laktat bersifat probiotik yang dapat memberikan dampak positif terhadap kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi probiotik isolat DNH 16 yang meliputi aktivitas antimikroba, toleransi terhadap asam dan garam empedu. Aktivitas antimikroba dilakukan terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram. Toleransi terhadap asam dan garam empedu dilakukan dengan menentukan pertumbuhan isolat pada media MRS Broth pH3 dan MRS Broth dengan 0,3 % garam empedu berturut – turut pada λ 600 nm. Hasil penelitian menunjukkan isolat DNH 16 berbentuk basil, katalase negatif, heterofermentatif. Aktifitas antimikroba dari isolat DNH 16 yaitu 4,6mm. Viabilitas pertumbuhan terhadap asam yaitu 91,6 %, viabilitas pertumbuhan terhadap garam empedu yaitu 66,5%. Hasil menunjukkan bahwa isolat DNH 16 berpotensi sebagai bakteri probiotik.

Kata kunci : Bakteri Asam Laktat, Probiotik, Dali Ni Horbo.

1.

PENDAHULUAN

Menurut FAO/WHO, probiotik adalah organisme yang dapat memberikan manfaat bagi inang jika diberikan dalam jumlah yang tepat (Manguntungi et al., 2020). Bakteri probiotik dapat bertahan hidup pada beberapa tahap pengolahan, penyimpanan, serta dapat bertahan hidup pada sistem pencernaan seperti asam lambung, saliva, asam empedu, atau stabil terhadap pH lambung. Bakteri probiotik juga mampu bereproduksi secara nontoksik &

nonpatogen (Sunaryanto & Marwoto, 2013). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa probiotik mampu mengurangi gangguan pencernaan akibat tubuh tidak dapat mencerna laktosa, meningkatkan kesehatan usus, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, dan memiliki efek antihipertensi, antioksidan, penurun kolesterol, dan antidiabetes (Widiayanti, 2018) Bakteri Asam Laktat dibagi menjadi empat genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan

Streptococcus. Bakteri asam laktat dengan aktivitas probiotik berperan dalam mengatur sistem pencernaan digunakan sebagai probiotik karena sebagian besar strainnya bersifat non-patogen. Bahkan beberapa strainnya telah dinyatakan aman dan diakui secara umum (GRAS) oleh Food and Drug Administration (FDA). Manfaatnya banyak di bidang pangan terutama dalam pengolahan fermentasi. Dali Ni Horbo (Sumatera Utara) merupakan makanan tradisional yang difermentasi berbahan dasar susu kerbau (Detha et al., 2020). Dali Ni Horbo dibuat dengan cara memanaskan susu menggunakan api kecil hingga mendidih, setelah itu ditambah getah pepaya (papain) sampai terjadi gumpalan. Gumpalan tersebut diletakkan ke cetakan untuk membuat Dali Ni Horbo (Hasan et al., 2020) Penelitian pada Dali Ni Horbo sebelumnya mengungkapkan isolasi, karakterisasi dan aktivitas bakteri asam laktat seperti uji sensitifitas antibiotik terhadap bakteri patogen. Hasil karakterisasi peneliti sebelumnya mengungkapkan uji katalase negatif dan tipe fermentasi heterofermentatif (Hasan et al., 2020) Pada kali ini peneliti telah melakukan penelitian mengenai karakterisasi probiotik DNH 16 yaitu aktivitas antimikroba, toleransi terhadap asam dan garam empedu. dengan mengangkat judul “Aktivitas Probiotik Isolat DNH 16 yang diisolasi dari Dali Ni Horbo”

2. METODE PENELITIAN

Isolat Bakteri yang dianalisa adalah isolat DNH 16 yang merupakan koleksi laboratorium Biologi Molekuler Universitas Prima Indonesia yang sebelumnya bakteri tersebut telah diisolasi dari Dali Ni Horbo.

Karakterisasi Biokimia

Pewarnaan gram dilakukan untuk melihat bentuk dari suatu kelompok

bakteri. Dengan cara dilakukan penambahan kristal violet dan larutan iodine diatas objek glass kemudian dibilas menggunakan alkohol 96% lalu ditambahkan safranin, kemudian dilakukan interpretasi morfologi bakteri asam laktat diamati wujud koloninya (Smith & Hussey, 2005). Uji Katalase dilakukan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada isolat bakteri dengan menambahkan H₂O₂ (Hidrogen Peroksida) 3%. Bakteri asam laktat menunjukkan reaksi tidak ada pembentukan gas oksigen atau gelembung yang dinamakan katalase negatif (Detha et al., 2019) Tipe fermentasi dilakukan untuk menguji penggolongan bakteri asam laktat heterofermentatif atau homofermentatif. Isolat tersebut dikultur dimedia MRS Broth kedalam tabung durham. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Ismail et al., 2017)

Aktivitas Antimikroba terhadap Bakteri Patogen

Aktivitas Antimikroba dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan menggunakan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri indikator. Secara ringkas dijelaskan sebagai berikut. Konsentrasi kultur isolat *Staphylococcus aureus* diatur dengan $\lambda = 600\text{nm}$ menjadi absorbansi 0,1 dalam NaCl fisiologis kemudian kultur tersebut di swab ke media Nutrient Agar menggunakan kapas steril. Cakram kertas steril dicelupkan kedalam kultur isolat DNH 16 yang sebelumnya telah diinkubasi selama 18 jam, kemudian ditempelkan ke media Nutrient Agar yang telah diswab dengan *Staphylococcus aureus*. Cakram kloramfenikol (30 μg) digunakan sebagai kontrol positif. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang muncul disekitar cakram diukur menggunakan jangka sorong (Hasan et al., 2020)

Toleransi terhadap asam

Isolat DNH 16 dikultur dalam 2 tabung MRS Broth pH normal dan MRS Broth pH 3 dilakukan inkubasi selama 4 jam, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada λ = 600nm. Viabilitas pertumbuhan isolat ditentukan dengan rumus, sebagai berikut.

$$\% \text{Pertumbuhan} = \frac{\text{Pertumbuhan pada pH 3}}{\text{Pertumbuhan pada kontrol}} \times 100 \% \text{ (Li et al., 2020)}$$

Toleransi terhadap garam empedu

Isolat DNH 16 dikultur dalam 2 tabung MRS Broth yang ditambahkan 0,3% garam empedu dan tanpa garam empedu dilakukan inkubasi selama 4 jam, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada λ = 600nm. Viabilitas pertumbuhan isolat ditentukan dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{Pertumbuhan} = \frac{\text{Pertumbuhan pada garam empedu}}{\text{Pertumbuhan pada kontrol}} \times 100 \% \text{ (Li et al., 2020)}$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Biokimia

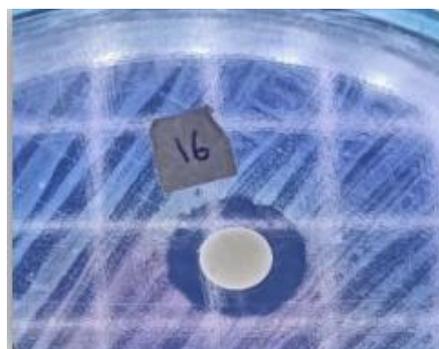
Pewarnaan gram Isolat DNH 16 menunjukkan hasil morfologi berbentuk basil, Uji katalase Isolat DNH 16 menunjukkan hasil katalase negatif tidak adanya gelembung udara, karena saat diberikan H2O2 tidak terjadi pemecahan pada bakteri sehingga tidak terbentuk O2 pada bakteri tersebut. Uji tipe fermentasi Isolat DNH 16 menunjukkan hasil heterofermentatif ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Biokimia

Kode	Pewarnaan Gram	Uji Katalase	Tipe Fermentasi
DNH 16	Basil	Negatif	Heterofermentatif

Aktivitas Antimikroba terhadap Bakteri Patogen

Isolat DNH 16 menunjukkan aktivitas zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 4,6 mm. Isolat bakteri asam laktat dikatakan mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain apabila diameter zona hambat atau zona bening yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 1 mm (Hariani, 2013)



Berdasarkan gambar diatas, dapat kita lihat bahwa ada zona bening. Terbentuknya zona bening menunjukkan hambatan pada aktivitas bakteri

patogen. (Fachrial & Harmileni, 2018). Hasil penelitian dari (Rasyid et al., 2021) menyatakan aktivitas zona hambat terhadap bakteri

Staphylococcus aureus sebesar 9,2 mm yang diisolasi dari blondo sebagai minuman probiotik. Berdasarkan tipe fermentasi bakteri asam laktat menghasilkan senyawa antimikroba yang berbeda. tipe homofermentatif menghasilkan asam laktat. Tipe heterofermentatif menghasilkan bakteriosin, asam asetat (CH₃COOH), karbondioksida (CO₂), hidrogen peroksida (H₂O₂) dan alkohol. Hidrogen peroksida mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghancurkan enzim dan mengubah sifat protein. Bakteriosin merupakan protein yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain (Rusmana et al., 2012) Mekanisme kerja dari bakteriosin diperoleh dari bakteri gram positif yang dapat menghambat bakteri patogen. Dimanfaatkan sebagai antibiotik dan memperpanjang masa simpan makanan karena senyawa ini tidak memiliki efek samping dan tidak toksin untuk dikonsumsi. Senyawa ini sangat mudah

dicerna oleh enzim enzim yang ada di saluran pencernaan (Mastuti, 2022). Menurut (Kim et al., 2011) mengatakan bakteriosin mampu digunakan sebagai antibiotik alami karena mampu menghambat bakteri patogen salah satunya *Staphylococcus aureus*. Kemampuan bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena adanya asam organik dalam jumlah tinggi mampu menembus membran bakteri yang menyebabkan anion asam lemah dan senyawa antimikroba lainnya menumpuk di sitoplasma *Staphylococcus aureus* (Rasyid et al., 2021)

Toleransi Asam dan Garam Empedu
Isolat DNH 16 memiliki kemampuan toleransi terhadap asam dan garam empedu yang ditunjukkan dengan viabilitas pertumbuhan yang cukup tinggi yaitu asam 91,6 % dan viabilitas garam empedu yaitu 66,5 % yang ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 3. Toleransi terhadap asam

Kode	Absorbansi pH 3	Absorbansi pH normal	% Pertumbuhan
DNH 16	0,120	0,131	91,6%

Tabel 4. Toleransi terhadap garam empedu

Kode	Absorbansi 0,3 % garam empedu	Absorbansi tanpa garam empedu	% Pertumbuhan
DNH 16	1,252	1,880	66,5%

Konsentrasi 0,3% garam empedu merupakan karakteristik yang dimiliki bakteri probiotik sebagai persyaratan untuk bisa melewati saluran pencernaan dan sampai di kolon (Emmawati et al., 2015) Menurut (Priadi et al., 2020) Garam empedu merupakan senyawa amphipatik, yang memiliki sifat polar (hidrofilik) dan non polar (hidrofobik) yang menyebabkan garam empedu dapat memecahkan lemak. Jenis bakteri yang lolos uji ketahanan hidup pada kondisi asam dan garam empedu tinggi

adalah *L. plantarum* dan *Ln. mesenteroides*. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan ketahanan asam dan garam empedu antar jenis dan antar asal isolat bakteri pada jenis yang sama. Menurut (Guo et al., 2015) yang menyatakan perbedaan daya tahan disebabkan oleh adanya perbedaan jenis dan galur spesifik serta faktor kondisi lingkungan asal bakteri juga berpengaruh terhadap daya tahan tersebut.

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakterisasi isolat DNH 16 gram staining berbentuk basil katalase negatif ,heterofermentatif. Aktifitas antimikroba isolat DNH 16 yaitu 4,6 mm. Viabilitas pertumbuhan isolat pada

uji toleransi terhadap asam yaitu 91,6%. Viabilitas pertumbuhan isolat pada uji toleransi terhadap garam empedu yaitu 66,5% Hasil menunjukkan bahwa isolat DNH 16 berpotensi sebagai bakteri probiotik.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Detha, A., Datta, F. U., Beribe, E., Foeh, N., & Ndaong, N. (2019). KARAKTERISTIK BAKTERI ASAM LAKTAT YANG DIISOLASI DARI SUSU KUDA SUMBA (Characteristics of Lactic Acid Bacteria from Sumba Mares Milk). *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1), 85–92. <https://doi.org/10.35508/jkv.v7i1.08>
- Detha, A., Jo, M. G., Foeh, N., Ndaong, N., & Datta, F. U. (2020). Karakteristik Antimikroba Bakteri Asam Laktat Susu Kuda Sumba Terhadap Bakteri Salmonella Typhimurium. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 21(1), 50–56. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2020.021.01.6>
- Emmawati, A., Laksmi, B. S., Nuraida, L., & Syah, D. (2015). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolates from Mandai Function as Probiotic. *Jurnal Agritech*, 35(02), 146.
- Fachrial, E., & Harmileni, H. (2018). Isolasi Dan Aktivitas Anti Mikroba Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Nira Kelapa Sawit. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan)*, 5(1), 51. <https://doi.org/10.31289/biolink.v5i1.1707>
- Guo, C. F., Zhang, S., Yuan, Y. H., Yue, T. L., & Li, J. Y. (2015). Comparison of lactobacilli isolated from Chinese suan-tsai and koumiss for their probiotic and functional properties. *Journal of Functional Foods*, 12, 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.11.029>
- Hariani, L. (2013). PRODUKSI BAKTERIOSIN OLEH Lactobacillus plantarum DJ3 DAN APLIKASINYA SEBAGAI PENGAWET DAGING. *EL-Hayah*, 4(1), 17–26. <https://doi.org/10.18860/elha.v4i1.2617>
- Hasan, M., Nasution, B., Ramadhani, S., & Fachrial, E. (2020). Isolation , Characterization and Antibacterial Activities of Lactic Acid Bacteria Isolated From Batak 's Special Food " Dali Ni Horbo " Isolasi , Karakterisasi dan Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Makanan Khas Batak " Dali Ni. 18(April), 1–11.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani. (2017). Isolation, Characterization And Antimicrobial Activity Of Lactic Acid Bacteria From The Fermented Cacao Seed (Theobroma cacao L.). *Bioleuser*, 1(2), 45–53.
- Kim, J. R., Isolat, S. D., Kakao, F., Syukur, S., Purwati, E., Ibrahim, S., Doktor, P., & Kimia, J. (2011). Potensi BAL dalam Menghasilkan Bakteriocin sebagai Antimikroba dan Pengukuran Berat Molekulnya Dengan SDS-PAGE dari Isolat Fermentasi Kakao. *J Ris Kim*, 4(2), 94–100.

- Li, M., Wang, Y., Cui, H., Li, Y., Sun, Y., & Qiu, H. J. (2020). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated From the Gastrointestinal Tract of a Wild Boar as Potential Probiotics. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(February), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00049>
- Manguntungi, B., Sari, A. P., Chaidir, R. R. A., Islam, I., Vanggy, L. R., Sufiyanti, N., Al-Fateeh, M. F., Whatin, U. F., Pratiwi, I. D., & Kusuma, W. D. (2020). Isolasi, Karakterisasi, dan Aktivitas Antibakteri BAL Indigenous dari Sarang Lebah *Trigona* spp. Asal Kabupaten Sumbawa. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 8(1), 13–18. <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2020.008.01.03>
- Mastuti, S. (2022). Potensi Bakteriosin pada Bakteri Asam Laktat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), 25–30. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v11i1.650>
- Priadi, G., Setiyoningrum, F., Afiati, F., Irzaldi, R., & Lisdiyanti, P. (2020). Studi in Vitro Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Dari Makanan Fermentasi Indonesia. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 31(1), 21–28. <https://doi.org/10.6066/jtip.2020.31.1.21>
- Rasyid, B., Sandi, K. M., Sudarmanto, I. G., & Karta, I. W. (2021). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Blondo Virgin Coconut Oil terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biomedika*, 13(1), 56–67. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11070>
- Rusmana, I., Suwanto, A., & Nisa Rachmania Mubarik, dan. (2012). Senyawa Antimikroba Yang Dihasilkan Oleh Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. *Jurnal Akuatika*, III(2), 135–145.
- Smith, A. C., & Hussey, M. A. (2005). Gram stain protocols. *American Society for Microbiology*, 1(September 2005), 14.
- Sunaryanto, R., & Marwoto, B. (2013). Isolasi, Identifikasi, Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Dadih Susu Kerbau. *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia*, 14(3), 228–233. <https://doi.org/10.29122/jsti.v14i3.931>
- Widiyanti, S. (2018). *Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Lactobacillus plantarum Asal Dangke sebagai Antihiperqlikemia pada Mencit (Musmusculus) ICR Jantan*. <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/13221>