

Uji Fisiologis Probiotik *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang Telah Dienkapsulasi dengan Menggunakan *Spray Dryer* untuk Menurunkan Kolesterol

Physiological test of *Lactobacillus* sp. Mar 8 probiotic which encapsulated by using spray dryer to reduce cholesterol

TITIN YULINERY[♥], EKO YULIANTO, NOVIK NURHIDAYAT

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor 16002.

Diterima: 8 September 2005. Disetujui: 7 Januari 2006.

ABSTRACT

The research on physiology test of *Lactobacillus* sp. Mar 8 probiotic which encapsulated by using spray dryer to reduce cholesterol has been conducted. The aim of the research was to know the influence of encapsulation process on the *Lactobacillus* cells to its activities on binding cholesterol, the ability to grow of the bacteria on lower pH 1-6 and the growth on Na-taurocholate at 17 mM concentration. The Emulator used was skimmed milk with 5% and 10% in concentration. The result showed that the bacteria used skimmed milk with 10% concentration was remain stable in growing ability such as growing on GYP medium in lower pH (1-6), growing on sodium taurocholate in 17 mM concentration, and the ability on binding cholesterol. So, encapsulated *Lactobacillus* can be used as probiotic agent to reduce cholesterol.

© 2006 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: probiotik, *Lactobacillus* sp. Mar 8, encapsulation.

PENDAHULUAN

Lactobacillus spp. merupakan salah satu kelompok mikrobia bermanfaat yang banyak di jumpai di Indonesia dengan keanekaragaman yang tinggi, namun potensi ini belum terungkap dengan baik. *Lactobacillus* berpotensi sebagai penghasil bahan bioaktif. Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi LIPI Bogor telah mengoleksi *Lactobacillus* dari berbagai sumber. Salah satunya yaitu *Lactobacillus* sp. Mar 8 merupakan probiotik terpilih sebagai penurun kolesterol. Probiotik ini selanjutnya akan dikembangkan dalam bentuk sediaan padat yang dapat diaplikasikan dalam industri makanan, minuman, dan farmasi.

Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme non patogen, yang jika dikonsumsi memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya (Schrezenmeir dan de Vrese, 2001). Senyawa-senyawa racun yang dihasilkan dari metabolisme protein dan lemak, serta hasil pemecahan enzim tertentu menjadi semakin berkurang bila bakteri probiotik mulai menjalankan perannya dalam meningkatkan kesehatan. Berbagai senyawa hasil metabolismenya seperti asam laktat, H₂O₂, bakteriosin yang bersifat antimikroba dan berbagai enzim yang dimilikinya seperti laktase (membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa) serta bile salt hydrolase (membantu menurunkan kolesterol) serta adanya aktivitas antikarsinogenik dan stimulasi imun sistem (Nagao *et al.*, 2000; Usman dan

Hosono, 1999; Matar *et al.*, 2001; Horie *et al.*, 2002)

Syarat probiotik adalah tidak patogen, toleran terhadap asam dan garam empedu, mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanannya serta memiliki kemampuan memberi efek kesehatan yang sudah terbukti (Shortt, 1999). *Lactobacillus* sebagai probiotik alternatif penurun kolesterol memiliki kemampuan bertahan terhadap garam empedu, kondisi asam, mampu menghambat bakteri patogen, tahan terhadap antibiotik dan dapat mengikat kolesterol dengan menempel pada epitel dinding saluran pencernaan (Hood dan Zottola, 1998).

Penelitian Napitupulu *et al.* (2003) menunjukkan bahwa *Lactobacillus* sp. Mar 8 relatif lebih tepat guna sebagai probiotik penurun kolesterol dilihat dari daya ikat kolesterol dan ketahanan terhadap garam empedu (Na-taurokolat). Penelitian secara *in vivo* menunjukkan bahwa pemberian suspensi probiotik *Lactobacillus* sp. Mar 8 dapat menurunkan kolesterol pada hari ke-28 (Kurniawati, 2003), terjadi penurunan *Low Density Lipoprotein* (LDL) kolesterol dan tidak terjadi penurunan *High Density Lipoprotein* (HDL) kolesterol (Yulinery *et al.*, 2004).

Dalam bidang industri, penggunaan agensia probiotik saat ini telah mengalami peningkatan. Produk yang dihasilkan dapat ditampilkan dalam produk cair ataupun semi padat, contohnya pada produk *acidophilus milk*, kefir, yogurt dan koumiss (Anonim, 1977). Berbagai teknologi pemrosesan makanan telah banyak ditemukan dan diaplikasikan, salah satunya teknik *spray drying* yang merupakan teknik enkapsulasi. Enkapsulasi adalah pembentukan kapsul yang menyelubungi probiotik dari kondisi lingkungan yang ekstrim. Teknik ini banyak diaplikasikan pada bidang industri bahan pangan karena mampu mengawetkan makanan relatif lebih lama sehingga

♥ Alamat korespondensi:
Jl.Ir. H.Juanda 18 Bogor 16002
Tel. +62-251-324006. Fax.: +62-251-325854
e-mail: noviknur@yahoo.com

mengurangi resiko kerusakan bahan makanan oleh mikroba (Victor dan Heldman, 2001). Penggunaan *spray drying* tidak terbatas pada bahan pangan saja tetapi dapat diaplikasikan pada sel bakteri dalam rangka pembentukan kapsul untuk perlindungan dari kondisi yang ekstrim (Frazier dan Westhoff, 1998). Efisiensi pengeringan dengan *spray dryer* dipengaruhi oleh karakteristik emulsi seperti viskositas dan stabilitas emulsi. Beberapa emulsi yang telah berhasil digunakan dalam pembuatan produk probiotik *Lactobacillus* dalam bentuk cair adalah lemak susu untuk proses pembuatan keju menggunakan enkapsulasi *L. paracasei*. Proses pembuatan keju menggunakan krim susu untuk enkapsulasi *B. bifidum*. Karagenan dan *locus bean gum* untuk bioenkapsulasi *L. lactis* pada pembuatan keju (Anonim, 2003).

Susu skim merupakan salah satu emulsi, berupa serbuk kering yang dihasilkan dari proses pengeringan susu yang tidak mengandung lemak dan telah dipasteurisasi. Susu skim tidak mengandung air sehingga dapat disimpan selama tiga tahun. Susu ini mengandung laktosa, protein susu, dan mineral pada proporsi yang relatif sama. Produk ini harus disimpan dalam suhu dingin, kering dan harus dijauhkan dari air selama masa penyimpanan. Berbagai proses industri susu skim dapat digunakan. Keterlibatan susu skim pada bidang pangan yaitu pada pembuatan roti untuk meningkatkan rasa, produk susu fermentasi, pembuatan es krim, produk daging, beberapa produk sereal, pengemulsi atau sebagai bahan pengganti telur pada berbagai macam produk, dan sebagainya.

Teknik *drying* menghasilkan lapisan enkapsulasi kecil dan seragam yang berisi bakteri probiotik sehat. Chandramouli *et al.* (2003) menyatakan bahwa enkapsulasi dapat meningkatkan viabilitas bakteri probiotik dibandingkan dengan sel bebas tanpa enkapsulasi. Enkapsulasi dikatakan berhasil jika bahan yang dienkapsulasi tetap memiliki sifat-sifat fisiologis yang sama dibandingkan dengan sebelum dienkapsulasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan *spray dryer* dalam proses enkapsulasi serta untuk mengetahui komposisi susu skim yang paling baik, sebagai bahan enkapsulasi sel *Lactobacillus* sp. Mar 8 terhadap sifat fisiologis sel *Lactobacillus* sp. Mar. 8 dalam kemampuannya mengikat kolesterol, mampu bertahan terhadap asam lambung dan asam empedu.

BAHAN DAN METODE

Isolat yang digunakan. Isolat yang digunakan adalah *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang diisolasi dari buah markisa tanah karo Medan dan diperbanyak dengan media GYP dengan komposisi dalam 1 liter yaitu bactoagar 20 g, glukosa 10 g (Merck), yeast ekstrak 10 g (Difco), bacto pepton 5g (Pronadisa), beef ekstrak 2g (Difco), Na-asetat.H₂O 1,4g (Merck), tween 80 0,5g (Merck), CaCO₃ 0,075 g/mL (Merck), dan salt solution 5 mL (komposisi salt solution: MgSO₄.7H₂O 0,1g (Merck); MnSO₄.4H₂O 0,1g (Merck); FeSO₄.7H₂O 0,1g (Merck); NaCl 0,1g (Merck); dilarutkan dalam akuades sebanyak 50 mL).

Penanaman isolat di media susu skim. Satu ose isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 diinokulasikan ke 5 mL susu skim konsentrasi 5% dan 10% lalu diinkubasi selama 24 jam. Seluruh media susu skim yang telah diinokulasi dan diinkubasi selama 24 jam dipindahkan lagi ke dalam media susu skim 5% dan 10% yang volumenya 45 mL dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Biakan yang volumenya 50 mL tersebut dipindahkan lagi ke dalam media susu skim

yang volumenya 450 mL dan dilanjutkan dengan inkubasi selama 24 jam. Perlakuan ini dilakukan pengulangan sebanyak dua kali,

Enkapsulasi sel *Lactobacillus* sp. Mar 8. Media susu skim disimpan dalam kotak dingin yang telah diberi biang es. Setiap konsentrasi susu skim dimasukkan dalam mesin mini *spray-dryer* Buchii 190. Hasil proses enkapsulasi tiap sampel disimpan dalam plastik yang tahan panas dan kemudian di tutup dengan menggunakan *zipper hot* (hasil enkapsulasi dibagi sebanyak tiga buah), sehingga hasil enkapsulasi diharapkan tetap steril dan tidak berhubungan dengan udara luar.

Uji sifat fisiologis. Sifat fisiologis yang akan diuji dilakukan setelah proses enkapsulasi selesai meliputi kemampuan untuk mengikat kolesterol dan kemampuan tumbuh sel pada pH 1-6 dan di bawah pengaruh garam empedu Na-taurokolat pada konsentrasi 17 mM,

Uji pertumbuhan pada pH rendah (pH 1-6). Isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 ditanam dalam media cair GYP dan diinkubasi selama 24 jam. Sebanyak 1 mL isolat *Lactobacillus* Mar 8 dimasukkan ke tabung eppendorf kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dan supernatan yang diperoleh dibuang dan diganti dengan media cair GYP pH 2,5 (pH diatur dengan cara menambahkan asam asetat pekat atau NaOH dan dilihat tingkat keasamannya dengan menggunakan pH meter) lalu diinkubasi selama 24 jam. Untuk mengetahui jumlah populasi sel setelah 24 jam, 1,25 mL isolat pH 2,5 dimasukkan ke dalam tabung eppendorf, sebanyak 25 mL dari tabung eppendorf kemudian dibuat pengenceran hingga 10⁻⁵ lalu ditumbuhkan pada media GYP agar yang telah diatur pHnya dari 1-6.

Uji pertumbuhan di bawah pengaruh garam empedu (Na-taurokolat). Dari perlakuan kemampuan tumbuh pada pH rendah di atas, diambil bakteri yang mampu tumbuh pada media GYP terhadap pH yang paling rendah. Isolat tersebut dipanen dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dibuang dan diganti dengan media cair GYP+Na-taurokolat 17 mM sebanyak 1,25 mL lalu dihomogenkan dengan vortex. Suspensi diambil sebanyak 0,25 mL dan diinokulasi ke media dan diinkubasi selama 24 jam.

Uji kemampuan daya ikat kolesterol. Kemampuan mengikat kolesterol diukur secara spektroskopi berdasarkan metode *Human Cholesterol Liquicolour*.

Pembuatan larutan standar kolesterol. Larutan standar kolesterol dibuat dengan cara kolesterol dilarutkan dalam etanol 60% dan dibuat hingga konsentrasi 0, 2, 4, dan 20 mg/mL. Dari kolesterol yang telah diatur diambil 0,01 mL dan ditambahkan reagen *cholesterol liquicolour* 1 mL ke dalam tiap-tiap 0,01 mL kolesterol tersebut kemudian dibiarkan selama 10 menit dan diukur OD-nya dengan menggunakan spektrofotometer (*Shimadzu*) pada panjang gelombang 500 nm.

Penumbuhan *Lactobacillus* Mar 8 dalam media kolesterol 20 mg/mL. *Lactobacillus* Mar 8 yang telah dienkapsulasi ditanam pada media GYP. Isolat yang tumbuh pada agar miring kemudian dipindahkan ke dalam media cair GYP 2 mL sebanyak satu ose dan diinkubasi 24 jam (OD sel sama dengan 0,50 ± 0,02 pada panjang gelombang 600 nm). Kultur yang diinkubasi selama 24 jam diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf lalu disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dibuang dan diganti dengan larutan kolesterol yang konsentrasinya 20 mg/mL. Suspensi sel dan kolesterol diratakan dengan vortex dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar.

Pengukuran kadar kolesterol. Untuk memisahkan kolesterol dari sel bakteri pada suspensi maka perlu dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit. Untuk mengukur kolesterolnya 0,01 mL supernatan direaksikan dengan reagen *cholesterol/liquicolour* 1 mL dan didiamkan selama 10 menit, setelah itu diukur OD-nya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Penurunan OD menunjukkan banyaknya kolesterol yang mampu diikat oleh sel bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan tumbuh pada pH rendah (pH 1-6)

Tabel 1. menunjukkan semua isolat yang diperoleh setelah dienkapsulasi dan ditumbuhkan pada media GPY dengan pH 2,5 diketahui tidak mampu tumbuh pada pH di bawah 3, namun tumbuh pada media dengan pH lebih tinggi dari 3. Pertumbuhan pada media GYP pH 3 ditunjukkan melalui OD pertumbuhan sangat rendah yaitu berkisar antara 0,067-0,071. Keadaan ini mirip dengan pertumbuhan isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 sebelum dienkapsulasi (Gunawan, 2003). Kurniawati (2003) dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 telah dilakukan uji *bioassay*-nya pada tikus putih, ternyata hasilnya sangat signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol. Strain tersebut mampu melewati barrier alami berupa asam lambung yang memiliki pH mencapai 3 dan akhirnya mencapai ileum kemudian aktif melakukan reduksi jumlah kolesterol tubuh. Dari keadaan ini diduga isolat yang diperoleh setelah enkapsulasi masih memiliki kemampuan yang sama dengan isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang belum mengalami enkapsulasi.

Isolat-isolat yang diperoleh mampu tumbuh di awal pertumbuhan karena isolat-isolat tersebut mampu mempertahankan keasaman sitoplasmanya, sehingga semua protein dan enzim yang berada di dalamnya dapat tetap bekerja secara optimal. Gunawan (2003) menyatakan bahwa isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 dapat memenuhi syarat sebagai probiotik karena kemampuannya tumbuh pada pH rendah. *Lactobacillus* lebih unggul dari bakteri asam laktat lainnya dalam menurunkan pH, dan hidup optimum pada pH 6,5 (Tagg, 1976). Dengan bertambahnya waktu inkubasi, sel akan terus membutuhkan nutrisi untuk tumbuh. Nutrien diperoleh dari lingkungan, dalam hal ini berasal dari media. Adanya ion hidrogen dalam media dapat menghambat transport nutrisi.

Tabel 1. Kemampuan tumbuh pada media GYP asam dengan menggunakan metode *Minimum Inhibition Concentration*.

Perlakuan	Nilai OD					
	pH 1	pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6
Mar. 8	-	-	+	(0,255)	(0,733)	(0,998)
Mar. 8 5%,5°C	-	-	+	(0,213)	(0,693)	(0,904)
Mar. 8 5%,30°C	-	-	+	(0,253)	(0,732)	(0,887)
Mar. 8 10%,5°C	-	-	+	(0,110)	(0,168)	(0,655)
Mar. 8 10%,30°C	-	-	+	(0,239)	(0,711)	(0,788)

Keterangan: + = ada indikasi tumbuh; - = tidak mampu tumbuh; (a%,b°C) = dienkapsulasi dengan menggunakan konsentrasi susu skim sebanyak a% dan disimpan pada suhu b°C.

Pada Tabel 1. terlihat bahwa *Lactobacillus* sp. Mar 8 tidak mampu tumbuh pada pH di bawah pH 3. Terlihat bahwa kemampuan bakteri asam laktat beradaptasi dengan pH berbeda-beda setiap jenisnya. Surono (2003) dalam penelitiannya mengatakan bahwa bakteri asam laktat yang diisolasi dari dadih, toleran terhadap pH rendah yaitu pada pH 2 dan pH 3. Hal ini disebabkan pada awal pertumbuhan sel masih mampu melakukan transport aktif pengeluaran proton, sehingga nutrisi masih dapat ditransport, akan tetapi dengan waktu inkubasi berlangsung terus, jumlah pengeluaran proton dan pemasukan proton menjadi tidak seimbang. Proton yang terdapat di dalam media cukup besar dan keadaan ini terus menekan bakteri untuk bertahan. Winarno dan Fardiaz (1984) mengatakan enzim yang dihasilkan oleh aktivitas mikroba akan mempercepat reaksi oksidasi-reduksi, sehingga terjadi perubahan pH larutan. Jumlah konsentrasi ion hidrogen yang besar akan mengganggu membran plasma dalam mentranspor nutrisi akibatnya proses untuk menghasilkan energi berjalan lambat. Proses energi untuk mentranspor aktif pengeluaran elektron dari dalam sel masih tersedia pada awal pertumbuhan tetapi dengan transport nutrisi yang lambat menyebabkan energi yang dihasilkan menjadi lambat pula. Akibatnya makin lama akan terjadi akumulasi ion hidrogen di dalam sel. Jika di dalam sel banyak terdapat ion hidrogen mengakibatkan terjadi penghambatan kerja enzim dan dapat menimbulkan denaturasi protein. Kejadian ini tidak terjadi pada pH di atas 3. Hal ini disebabkan, pada pH di atas 3 penghambatan kerja membran plasma oleh ion hidrogen tidak terjadi sehingga proses penghasilan energi untuk tumbuh dan transport ion hidrogen tetap tersedia. Akibatnya sel akan mampu terus tumbuh

Kemampuan tumbuh di bawah pengaruh garam empedu

Pada Tabel 2. terlihat bahwa isolat bakteri yang langsung diinokulasikan pada media GYP yang telah diperkaya dengan Na-taurokolat mampu tumbuh dengan baik. Bakteri yang telah diberi perlakuan pH rendah terlebih dahulu tidak mampu tumbuh. Keadaan ini disebabkan karena bakteri ditumbuhkan pada kondisi asam selama 24 jam telah mengalami kematian secara keseluruhan. Bakteri yang mampu tumbuh pada perlakuan yang langsung diinokulasi disebabkan adanya aktivitas enzim *bile salt hidrolase* (BSH). Enzim BSH dihasilkan oleh *Lactobacillus* sp. Asam empedu dapat berikatan dengan garam sodium ataupun potassium yang terdapat dalam *alkaline hepatic bile* (Seeley *et al.* 2000). Sodium taurokolat yang bereaksi dengan BSH membentuk asam cholat melalui dekonjugasi asam empedu yaitu pemisahan ikatan ester penyusun sodium-taurokolat (Surono, 2002).

Tabel 2. Perbandingan kemampuan tumbuh *Lactobacillus* Mar 8 pada media GYP+Na-taurokolat.

Perlakuan konsentrasi susu dan penyimpanan	Transmitant kontrol	Dengan perlakuan pH rendah terlebih dahulu	Transmitant (GYP+Na-taurokolat tanpa perlakuan pH)
Mar 8 5%,5°C	22,8	-	24,2
Mar 8 5%,30°C	23,8	-	23,9
Mar 8 10%,5°C	24,5	-	23,4
Mar 8 10%,30°C	25,6	-	23,5

Nilai transmittansi yang tertera merupakan hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer setelah disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit yang berfungsi untuk melihat perubahan konsentrasi sodium taurokolat pada media yang telah diinokulasi dengan bakteri yang telah ditumbuhkan selama 24 jam. Dari nilai transmittansi yang diperoleh, isolat dengan kode Mar 8 5%, 5°C dan Mar 5%, 30°C menunjukkan perbedaan dengan kontrol, tetapi nilainya lebih besar dari nilai rata-rata kontrol yang memiliki nilai transmittansi sebesar 22,8 dan 23,8. Hal ini berarti bahwa isolat yang telah dienkapsulasi dengan menggunakan susu skim 5% baik itu yang disimpan pada suhu 5°C maupun 30°C selama dua minggu tidak memiliki kemampuan untuk menggunakan asam empedu, hal ini diduga karena isolat ini tidak memiliki enzim BSH yang bekerja sebagai faktor anti kolesterol sehingga menghambat pembentukan kolesterol. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 perlakuan Mar. 8 5%, 5°C dan Mar. 8 5%, 30°C kehilangan kemampuan untuk mensintesis enzim BSH. Kemungkinan lain diduga akibat terjadinya kerusakan DNA pada waktu proses enkapsulasi akibat panas berlebihan, sehingga setelah ditumbuhkan kembali dalam media tidak mampu mensintesis enzim BSH. DNA yang mengkode sintesis enzim BSH tidak dapat diperbaiki oleh sel. Young *et al* (1993) menyimpulkan bahwa bahan penyalut untuk *spray drying* akan mempengaruhi produk yang dihasilkan dan tergantung pada sifat fisika dan kimia emulsi pembawa bakteri tersebut, kondisi pengeringan dan *spray drying* yang digunakan. Di samping hal di atas, penambahan Na-taurokolat dengan konsentrasi yang tinggi ke dalam media pertumbuhan *Lactobacillus* akan mempengaruhi pertumbuhannya sehingga semakin kecil toleransi dan daya tahan isolat tersebut. Hosono (2002) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa konsentrasi 12 mM sodium taurokolat merupakan perlakuan yang optimal untuk pertumbuhan *Lactobacillus*. Perlakuan menggunakan 10% susu skim pada penyimpanan suhu 5°C maupun 30°C menunjukkan nilai transmittansi lebih rendah dari kontrol yakni 23,4 dan 23,5. Hal ini berarti isolat yang dienkapsulasi dengan konsentrasi susu skim sebanyak 10% mampu menggunakan asam empedu dalam metabolisme sel.

Reduksi asam empedu merupakan salah satu faktor yang mampu menurunkan kolesterol. Senyawa pembentuk asam empedu adalah kolesterol. Kolesterol tubuh dibuang melalui dua jalur utama yaitu dengan cara mengubah kolesterol menjadi asam empedu dan melalui katabolisme menjadi hormon-hormon steroid maupun pembentukan *neutral sterol* seperti koestanon dan coprosterol. Perubahan kolesterol ke asam empedu merupakan perubahan yang bersifat siklis, karena perubahan kolesterol menjadi asam empedu akan diserap kembali oleh hati dan diubah menjadi kolesterol, akibatnya konsentrasi kolesterol dalam tubuh tidak akan berkurang. Seeley *et al.* (2000) mengatakan bahwa asam empedu bentuk sekunder yang terbentuk berupa asam deoksikolat ataupun litokolat tidak dapat diserap kembali oleh hati. Brook dan Marshall (1996) mengatakan bahwa garam empedu yang tidak diserap akan dikeluarkan bersama feses, sedangkan Muray *et al.* (1999) mengatakan bahwa asam empedu yang terkonjugasi pada taurin atau glisin, keduanya bercampur dengan getah pankreas dan di dalam ileum asam empedu berikatan dengan garam sodium ataupun potassium, kembali diserap lagi, akhirnya dibawa ke hati.

Selama jumlah asam empedu masih terdapat dalam jumlah yang tetap, maka kolesterol yang terdapat di dalam tubuh tidak akan digunakan. Satu-satunya cara mereduksi

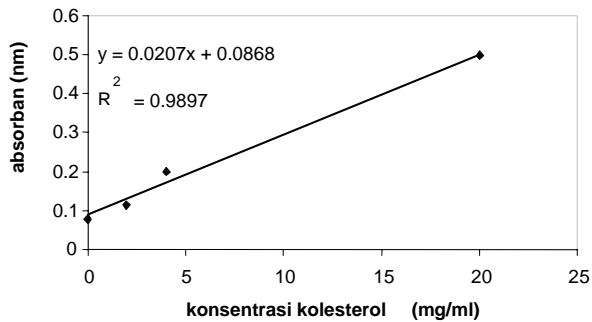
kolesterol adalah dengan memanfaatkan sistem homeostatis tubuh. Jumlah kolesterol akan berkurang jika asam empedu dapat dikurangi dari dalam tubuh yaitu dengan memanfaatkan bakteri yang mampu menggunakan asam empedu yang dilepaskan ke dalam ileum. Usman dan Hosono (1999) menyatakan bahwa bakteri probiotik dapat menurunkan kadar kolesterol, kemampuan ini berasal dari zat antikolesterol yang dihasilkan oleh bakteri yang menghambat kerja enzim pembentuk kolesterol, pengurangan kolesterol juga terjadi karena selama pertumbuhan bakteri menyerap sejumlah kolesterol ke dalam selnya. Jika jumlah asam empedu dapat dikurangi maka kolesterol yang ada dalam tubuh akan digunakan untuk mensintesis kolesterol, hingga jumlahnya kembali seperti sebelum direduksi. Dengan semakin banyaknya bakteri yang mampu menggunakan asam empedu maka akan semakin memberikan manfaat yang besar dalam menurunkan kolesterol, karena kolesterol akan digunakan untuk menjaga konsentrasi asam empedu agar terdapat dalam jumlah yang konstan.

Daya ikat kolesterol

Dari Gambar 1. kurva standar $y = 0,0207x + 0,0868$ didapatkan konsentrasi daya ikat kolesterol. Tabel 3. menunjukkan bahwa konsentrasi kolesterol dapat dikurangi oleh semua kultur bakteri. Hasil perubahan kolesterol setelah diinkubasi selama 24 jam bervariasi berkisar dari 6,12 mg/mL hingga 7,98 mg/mL. Dari data tidak dapat dikatakan kultur yang memiliki daya ikat kolesterol terbaik karena jumlah populasi awal sel yang berbeda untuk tiap kultur. Perbedaan ini dapat dilihat melalui nilai absorbansi isolat yang telah diinkubasi selama 24 jam. Semua isolat memiliki kemampuan untuk mengikat kolesterol. Taranto *et al.* (2000) mengatakan bahwa *Lactobacillus reuteri* dengan dosis rendahpun (10^4 sel/mL) efektif mencegah hiperkolesterolemia, total kolesterol menurun sampai 22%. Jumlah total kolesterol yang dapat direduksi oleh isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 adalah 33,4-37,4 mg/mL, hal ini disebabkan karena ketebalan peptidoglikan penyusun dinding selnya. Peptidoglikan penyusun dinding selnya mampu menyerap radikal bebas, mengikat kolesterol dan senyawa karsinogenik. Bila dibandingkan dengan sebelum enkapsulasi, Gunawan (2003) dalam penelitiannya mengatakan bahwa 3 isolat *Lactobacillus* sp. menunjukkan aktivitas pengikatan kolesterol dengan tingkat reduksi kolesterolnya 32,73-38,18 mg/mL.

Tabel 3. Kemampuan daya ikat kolesterol oleh *Lactobacillus* Mar 8 dengan perlakuan penyimpanan yang berbeda.

Perlakuan	Absorban (OD) populasi awal	Total kolesterol pada panjang gelombang 500 nm (absorban) = Y	x	Perubahan kolesterol setelah inkubasi 24 jam (mg/mL)	Reduksi kolesterol (mg/mL)
Kontrol	–	0,3065	10,61	0,00	0,00
Mar 8 (5,5)	1,184	0,1797	4,49	6,12	33,4
Mar 8 (5,30)	0,464	0,1492	3,02	7,59	33,6
Mar 8 (10, 5)	0,652	0,1511	3,11	7,5	36,4
Mar 8 (10,30)	0,900	0,1412	2,63	7,98	37,4
Mar 8	–	0,1479	2,95	7,66	36,8



Gambar 1. Kurva standar kolesterol.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat diambil kesimpulan yakni penyalut susu skim dengan konsentrasi 10% dan disimpan pada suhu 30°C lebih mampu mempertahankan kemampuan fisiologis *Lactobacillus* sp. Mar 8, yaitu mampu tumbuh pada media GYP yang telah diperkaya dengan medium sodium taurokolat dengan konsentrasinya 17 mM. Kemampuan tumbuh *Lactobacillus* sp. Mar 8 pada media GYP dengan pH rendah di bawah pH 6 dan juga kemampuan untuk mengikat kolesterol masih tetap dimiliki sehingga dapat digunakan sebagai agensia probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1997. *Fundamental of Food Engineering*. 2th ed. London: The AVI Publication Co. Inc.
- Anonim. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Yogyakarta: Dua Warna.
- Brook, G. D. C. and J. N. Marshall. 1996. *Essential Endocrinology*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science.
- Chandramouli, V., K. Kailasapathy, P. Peiris, and M. Jones. 2003. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric condition. *Journal of Microbiological Methods* 56: 27-35
- Frazier, W.C and D.C. Westhoff. 1998. *Food Microbiology*. 4th ed. New York: Mc Graw Hill Inc.
- Gunawan. 2003. *Uji Kemampuan Probiosis Isolat Lactobacillus Strain Lokal dan Analisis Asam Organik Yang dihasilkan Dalam Menurunkan Kadar Kolesterol*. [Skripsi]. Purwokerto: Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman.
- Hood, S.K. and E.A. Zottola. 1998. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survey and adherence to human intestinal cells. *Journal of Food Science* 53: 1514-1516.
- Horie, M., A. Ishiyama, Y. Fujihira-ueki, J. Sillanpaa, T.K. Korhonen, and T. Toba. 2002. Inhibition of the adherence of *Escherichia coli* strains to basement membrane by *Lactobacillus crispatus* an S-layer. *Journal of Applied Microbiology* 92 (3): 396-403.
- Hosono, A. 2002. Present Statust of fermented milk product and their impact on human health. *Symposium on Biotechnology of Probiotik for Human Health*. Jakarta: BPPT.
- Kurniawati, Y. 2003. *Pengaruh Pemberian Lactobacillus terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih*. Bogor: Jurusan Biokimia FMIPA IPB.
- Matar, C., J.C. Valdez, M. Medina, M. Rachid, and G. Perdigon. 2001. Immunomodulating effects of milks fermented by *Lactobacillus helveticus* and its non-proteolitics varian. *Journal of Dairy Research* 68 (4): 601-609.
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwell. 1999. *Biokimia Harper*. Edisi ke-24. Jakarta: EGC.
- Nagao, F., M. Nakayama, T. Muto and K. Okumura. 2000. Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain shirota on the immune system in healthy human subjects. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 64 (12): 2706-2708.
- Napitupulu, R.N.R., T. Yulinery, R. Hardiningsih, E. Kasim, dan N. Nurhidayat. 2003. Daya ikat kolesterol dan produksi asam organik isolat *Lactobacillus* terseleksi untuk penurunan kolesterol. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*. Bandung, 29-30 Agustus 2003.
- Schrezenmeir, J. and M. de Vrese. 2001. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73 (suppl): 361S-364S
- Seeley, R.R., D.S. Trent and T. Philip. 2000. *Anatomy and Physiology*. 7th ed. New York: McGraw-Hill Co.
- Shortt C. 1999. The probiotic century: historical and current perspectives. *Review on Trend Food Science and Technology* 10: 411-417.
- Surono, I.S. 2002. Efek Probiotik Minuman Fermentasi Dadih dari Sumatera Barat. *Symposium on Biotechnology of Probiotics for Human Health*. Jakarta: BPPT.
- Surono, I.S. 2003. In Vitro probiotic properties of indigenous dadih lactic acid bacteria. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 16 (5): 726-731.
- Tagg, J.R., 1976. Bacteriocins of gram positive bacteria. *Bacteriology Review* 40: 722-756.
- Taronto, M.P., M. Medici, G. Perdigon, A.P. Ruiz-Holgado, and G.F. Valdez. 2000. Effect of *Lactobacillus reuteri* on the prevention of hypercholesterolemia in mice. *Journal of Dairy Science* 83: 401-403
- Usman and A. Hosono. 1999. Bile tolerance, taurocholate deconjugation and binding of cholesterol by *Lactobacillus gasseri* strains. *Journal of Dairy Science* 82: 243-248
- Victor, R.P. and D.R. Heldman. 2001. *Introduction to Food Engineering*. 3rd ed. London: Academic Press.
- Winarno, F.G. dan S. Fardiaz. 1984. *Biofermentasi dan Biosintesa Protein*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Young, S.L., X. Sarda, and M. Rosenberg. 1993. Microencapsulating properties of whey proteins with carbohydrate. *Journal of Dairy Science* 76: 2878-2885.
- Yulinery, T., R.N.R. Napitupulu, R. Hardiningsih, E. Kasim, E. Triana, dan N. Nurhidayat. 2004. Aktivitas *Lactobacillus* sp. sebagai galur probiotik terhadap kadar HDL dan LDL tikus putih hiperkolesterolemia. *Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*. Semarang. 27-28 Agustus 2004.