

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Allah menciptakan alam seisinya sebagai rahmat untuk kemaslahatan umat manusia. Manusia berhak memanfaatkan kekayaan alam dan meningkatkan kesejahteraan mereka, yaitu sebagai bentuk rasa syukur atas nikmat yang telah diberikan oleh Allah SWT. Firman Allah dalam Al-Qur'an surat Al-Baqarah ayat 29 sebagai berikut:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَّا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ  
سَبْعَ سَمَوَاتٍ ۗ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٢٩﴾

Artinya: *Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan dia Maha mengetahui segala sesuatu (Q.S. Al-Baqarah 2: 29).*

Ayat di atas menegaskan bahwa alam semesta beserta isinya diciptakan Allah SWT untuk manusia. Makhluk ciptaanNya tersebut terdiri dari berbagai macam jenis tumbuhan, hewan maupun mikroorganisme. Allah berfirman dalam surat Al-Baqarah ayat 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي ۚ أَن يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةٌ فَمَّا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِن رَّبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۗ يُضِلُّ بِهِ ۚ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ ۚ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ ۚ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: *Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik (Q.S. Al-Baqarah 2: 26).*

BAL merupakan bakteri gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk batang atau bulat, katalase negatif dan asam laktat merupakan sebagian besar produk akhir selama fermentasi karbohidrat (Axelsson dalam Salminen, 1998). BAL terdiri dari genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, karena memiliki lebih dari 50 spesies (Barrow and Weldham, 1993). BAL mempunyai kemampuan berfermentasi dan bersifat *anaerob*, penggunaan tradisional bakteri asam laktat terbanyak adalah pada konversi produk makanan fermentasi (Holzapfel *et al.*, 2001). Tidak semua BAL dapat digunakan sebagai probiotik. Kemampuan BAL menempel dan berkolonisasi pada saluran pencernaan merupakan faktor penting yang berkontribusi pada kelangsungan hidup BAL sehingga membantu menimbulkan efek yang positif bagi kesehatan. Kemampuan penempelan BAL adalah salah satu kriteria seleksi strain baru yang dapat digunakan sebagai probiotik (Morelli, 2000).

BAL digolongkan menjadi homofermentatif dan heterofermentatif berdasarkan hasil fermentasi gula. Bakteri homofermentatif memfermentasi gula menjadi asam laktat sebagai produk utama (>85%), sedangkan bakteri heterofermentatif selain menghasilkan asam laktat (sekitar 50%) juga menghasilkan asam asetat, etanol dan gas CO<sub>2</sub> dari fermentasi gula

(Brock, Madigan *and* Parker, 1994). Kisaran temperatur pertumbuhan untuk bakteri asam laktat biasanya 15 °C - 45 °C. Sedangkan suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri asam laktat pada suhu 30-37°C (Barrow *and* Weldham, 1993).

Beberapa strain BAL berpotensi sebagai probiotik karena kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Probiotik umumnya terdiri dari satu atau beberapa BAL misalnya *Lactobacillus* dan *Streptococcus*. Kedua genus tersebut seringkali digunakan sebagai probiotik karena merupakan mikroorganisme asli dalam ekosistem saluran pencernaan dan telah banyak dilaporkan memiliki sifat antagonis terhadap bakteri-bakteri patogen di dalam usus (Toit, *et al.*, 1998). Kelompok BAL merupakan salah satu kultur probiotik yang telah lama digunakan. Kebanyakan strainnya tidak patogen, bahkan beberapa strain telah mendapatkan status GRAS (*Generally Recognized As Safe*) dari FDA (Ngatirah dkk., 2000).

## **2.2 *Lactobacillus plantarum***

*Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu jenis BAL homofermentatif dengan temperatur optimal lebih rendah dari 37°C (Frazier dan Westhoff, 1998). *L. plantarum* dikenal sebagai bakteri pembentuk asam laktat. Selnya berbentuk batang (0,5-1,5 sd 1,0-10 µm) dan tidak bergerak (non motil), berwarna putih, opaque, konveks, mikroaerofil dan gram positif. Bakteri ini memiliki sifat katalase negatif, aerob atau fakultatif anaerob, mampu mencairkan gelatin, cepat mencerna protein, tidak mereduksi nitrat, toleran terhadap asam, dan mampu memproduksi asam laktat. Untuk pertumbuhannya

memerlukan kalsium pantotenat, niasin, tiamin, piridoksal dan piridoksamin, asam folat, serta vitamin B12. *L. plantarum* tumbuh pada pH 4-4,5 dan pada suhu 20-50<sup>0</sup>C (Buchannon *and* Gibbons, 1990).

*L. plantarum* bersifat homofermentatif dan tahan terhadap kadar asam yang cukup tinggi. *L. plantarum* dapat meningkatkan keasaman sebesar 1,5 sampai 2,0% pada substrat (Todorov,*et al.*, 2003). Pertumbuhan *L. plantarum* dapat menghambat kontaminasi dari mikroorganismenya patogen dan penghasil racun karena kemampuannya untuk menghasilkan asam laktat dan menurunkan pH substrat, selain itu *L. plantarum* dapat menghasilkan hidrogen peroksida yang dapat berfungsi sebagai antibakteri. *L. plantarum* juga mempunyai kemampuan untuk menghasilkan bakteriosin yang berfungsi sebagai zat antibiotik (Jenie dan Rini, 1995).

Bentuk sel *L. plantarum* dapat dilihat pada gambar sebagai berikut :



Gambar 2.1 *Lactobacillus plantarum* (Sneath, *et al.*, 1990).

Menurut Sneath, *et al.*, (1990), klasifikasi *L. plantarum* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Eubacteria
Divisi	: Protophyta
Klass	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Lactobacillaceae
Genus	: Lactobacillus
Spesies	: <i>Lactobacillus plantarum</i>

### 2.3 Probiotik

Probiotik tersusun dari kata *pro* dan *biotic* yang berarti "untuk kehidupan", disebut juga "bakteri bersahabat", "bakteri menguntungkan", "bakteri baik" atau "bakteri sehat" (Rahayuningsih, 2006). Konsep probiotik sudah dikenal sejak 2000 tahun lalu, namun baru awal abad ke 19 dibuktikan secara ilmiah oleh Elie Metchnikoff, seorang ilmuwan Rusia yang bekerja di Institut Pasteur, Paris. Metchnikoff mendapatkan bangsa Bulgaria yang mempunyai kebiasaan mengkonsumsi yoghurt (susu fermentasi) tetap sehat dalam usia lanjut (Ngatirah, dkk., 2000). Istilah probiotik pertama kali digunakan oleh Lily and Stillwell (1965) sebagai lawan dari antibiotik (Pusponegoro, 2007) dan didefinisikan sebagai zat (substansi) yang disekresi oleh bakteri dan mampu menstimulasi bakteri lain yang menguntungkan (Yulianto, 2005). Fuller (1989) mendefinisikan probiotik sebagai mikroorganisme hidup yang digunakan dalam

suplemen makanan untuk meningkatkan kesehatan dengan cara mempengaruhi secara positif keseimbangan mikroba usus.

Allah menciptakan segala sesuatu dalam kondisi seimbang, begitu juga dengan keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan harus dapat terjaga karena dapat memberikan efek positif terhadap kesehatan tubuh, firman Allah dalam Al-Qur'an surat Mulk ayat 3-4 :

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا ۗ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ ۗ فَأَرَجِعِ  
 الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾ ثُمَّ أَرْجِعِ الْبَصَرَ كَرَّتَيْنِ يَنقَلِبْ إِلَيْكَ الْبَصَرُ  
 خَاسِئًا وَهُوَ حَسِيرٌ ﴿٤﴾

Artinya: Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang, maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?. Kemudian pandanglah sekali lagi niscaya penglihatanmu akan kembali kepadamu dengan tidak menemukan sesuatu cacat dan penglihatanmu itupun dalam keadaan payah (Q.S. Mulk 67: 3-4).

Kemampuan organisme probiotik untuk dapat bertahan pada usus tergantung pada faktor kolonisasi yang dimiliki organel-organel yang mampu melindungi organisme probiotik dari mekanisme antibakteri pada usus. Selain mampu melewati mekanisme antibakteri, probiotik juga harus menghindari efek dari peristaltik, yang bertujuan mengeluarkan bakteri bersama makanan. Probiotik juga harus tahan terhadap garam empedu seperti jenis *Bifidobacteria* dinyatakan secara signifikan kurang tahan garam empedu dari pada jenis *Lactobacillus* (Survana dan Bobby, 2005).

Makanan yang mengandung mikroba probiotik untuk konsumsi manusia telah dipasarkan di Jepang sejak tahun 1920-an. Produk probiotik pertama menggunakan *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei* sebagai komponen dalam produk fermentasi. Dalam perkembangannya, jumlah spesies mikroba yang terlibat dalam produk probiotik meningkat dengan sangat pesat, tetapi makanan pembawa kultur probiotik yang utama tetap susu fermentasi dengan berbagai variasi produk pengolahannya (Havenaar, 1993).

Kemampuan mikroba probiotik bakteri asam laktat untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen disebabkan karena kemampuannya untuk memproduksi senyawa antimikroba seperti asam laktat, peroksida dan bakteriosin. Selain itu bakteri probiotik juga menekan bakteri patogen karena terjadinya kompetisi sisi penempelan, peningkatan produksi lendir/mukus usus dan kompetisi nutrisi (Salminen *and* Wright, 1993).

#### **2.4 Mikroflora Usus**

Mikroflora usus adalah mikroorganisme yang umum ditemukan hidup pada saluran pencernaan dan memberikan efek menguntungkan bagi inangnya. Flora normal pada usus manusia memiliki fungsi perlindungan yang penting. BAL menekan bakteri dan virus menstimulir daya tahan lokal dan sistemik serta merubah aktivitas metabolik mikroba dalam usus (Salminen *and* Wright, 1993).

Saluran pencernaan manusia dihuni oleh mikroflora berupa bakteri. Jenisnya mencapai lebih dari 300 spesies dengan jumlah lebih dari 100 triliun. Secara alami mikroflora saluran pencernaan dapat mencegah pertumbuhan berlebih bakteri patogen. Probiotik menambah jumlah mikroflora dalam usus

untuk meningkatkan kerja mikroflora normal sehingga meningkatkan fungsi pertahanan mukosa usus (Parves, *at al.*, 2006).

Menurut Husoda *et al.*, (1996), pada saluran pencernaan, pH merupakan faktor penting yang mendukung fungsi pencernaan. Perut mempunyai pH yang sangat rendah antara 2-4. kondisi ini penting untuk pencernaan dan membunuh bakteri patogen dalam makanan. Pada saluran pencernaan pH meningkat secara bertahap sampai pada usus besar. Bakteri asam laktat lebih menyukai lingkungan asam, sedangkan kondisi basa lebih disukai oleh bakteri putreaktif. Ada persaingan pada saluran pencernaan antara bakteri fermentatif dan putreaktif. Bakteri fermentatif menghasilkan asam organik untuk menjaga pH rendah yang mendukung pertumbuhan dan aktivitasnya. Bakteri putreaktif menghasilkan amonia untuk meningkatkan pH. Jika pH meningkat, bakteri putreaktif dan *Candida* dapat hidup dan menghambat pertumbuhan BAL yang dapat membuat gangguan pada pencernaan.

Penggunaan bakteri probiotik sebagai bahan pangan memberikan beberapa keuntungan pada sistem pencernaan. Salah satu keuntungan tersebut adalah membantu mengendalikan mikroorganisme patogen di dalam saluran pencernaan. Hasil beberapa penelitian mengungkapkan bahwa mengkonsumsi susu yang mengandung BAL berpengaruh terhadap mikroflora pada feses manusia maupun hewan percobaan. Hasil penelitian secara umum adalah bahwa mengkonsumsi probiotik menyebabkan peningkatan jumlah bakteri yang menguntungkan seperti laktobasili dan bifidobakteria, dan menekan jumlah bakteri usus yang berpotensi

sebagai patogen seperti bakteri koliform dan *enterobacteriaceae* (Husoda *et al.*, 1996).

## 2.5 Bakteri Patogen dalam Saluran Pencernaan

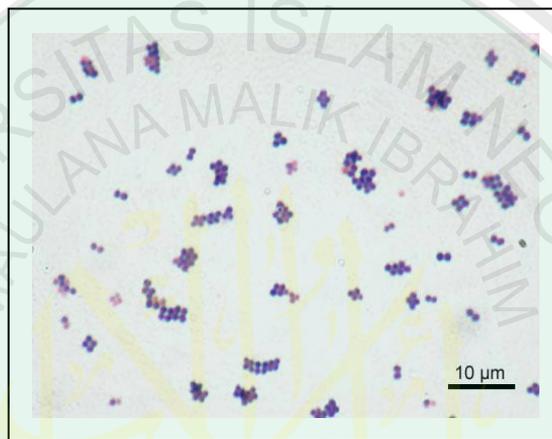
Menurut Bernett *et al.*, (1997), bakteri patogen merupakan kelompok bakteri parasit yang menimbulkan penyakit pada manusia, hewan dan tumbuhan. Beberapa bakteri patogen yang ada dalam saluran pencernaan manusia dan hewan adalah:

### 2.5.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif. *S. aureus* terdapat pada rongga hidung, kulit, tenggorokan, dan saluran pencernaan manusia dan hewan. Bahan makanan yang disiapkan menggunakan tangan, seperti penyiapan sayuran mentah untuk salad berpotensi terkontaminasi *S. aureus*. Jenis makanan lain yang sering terkontaminasi oleh *S. aureus* adalah daging dan produk daging, ayam, telur, salad (telur, tuna, ayam, kentang, dan makaroni), produk bakeri, sandwich, susu dan produk susu. Keracunan oleh *S. aureus* diakibatkan oleh enterotoksin yang tahan panas yang dihasilkan oleh bakteri tersebut (Bernett *et al.*, 1997).

*S. aureus* berbentuk bulat, tersusun dalam bentuk menggerombol yang tidak teratur seperti anggur. *S. aureus* bertambah dengan cepat pada beberapa tipe media dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. *S. aureus* cepat menjadi resisten terhadap beberapa antimikroba.

*S. aureus* menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. *S. aureus* tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi di bawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 20 - 35°C. Koloni pada media padat berbentuk bulat dan mengkilat (Holt, *et al.*, 1994).



Gambar 2.2 *Staphylococcus aureus* (Holt, *et al.*, 1994).

### 2.5.2 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan mikroflora alami yang terdapat pada saluran pencernaan manusia dan hewan. *E. coli* adalah bakteri gram negatif. *E. coli* dapat menimbulkan penyakit diare berdarah, pembengkakan dan kelainan ginjal, demam, kelainan syaraf, bahkan kematian. *E. coli* dapat dijumpai pada daging masak yang terkontaminasi dengan daging mentah. *E. coli* tidak dapat mengurangi asam sitrat dan garam asam sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan tidak menghasilkan pigmen, tetapi kadang-kadang menghasilkan pigmen berwarna kuning. *E. coli* ditularkan bersama air atau makanan yang terkontaminasi oleh feses (Bernett *et al.*, 1997).

*E. coli* berbentuk batang, tebal 0,5 $\mu$ m, panjang antara 1,0 - 3,0  $\mu$ m, bervariasi dari bentuk koloid sampai berbentuk seperti filamen yang panjang; tidak berbentuk spora, motil dan filamen perithin beberapa galur tidak memiliki flagella, bersifat gram negatif. *E. coli* bersifat aerob atau kualitatif anaerob, dapat tumbuh pada media buatan. Beberapa sifat *E. coli* antara lain pertumbuhan optimum pada suhu 37°C, dapat tumbuh pada suhu 15°C - 45°C, tumbuh baik pada pH 7,0 tetapi tumbuh juga pada pH yang lebih tinggi. *E. coli* tidak dapat mengurangi asam sitrat dan garam asam sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan tidak menghasilkan pigmen, tetapi kadang-kadang menghasilkan pigmen berwarna kuning (Holt, *et al.*, 1994).



Gambar 2.3 *Escherechia coli* (Holt, *et al.*, 1994).

### 2.5.3 *Salmonella typhi*

*Salmonella* adalah suatu genus bakteri enterobakteria gram negatif. *Salmonella* bersifat patogen pada manusia dan hewan lainnya, dan dapat menyebabkan demam enterik dan *gastroentritis* (radang pada lambung dan usus). Tipe atau *thypus* adalah penyakit infeksi bakteri pada usus halus dan terkadang

pada aliran darah yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* atau *Salmonella paratyphi* A, B dan C, selain ini dapat juga menyebabkan *gastroenteritis* (keracunan makanan) dan *septikemia* (darah mengalami keracunan dan tidak menyerang usus). Bakteri tersebut masuk melalui saluran pencernaan, setelah berkembangbiak kemudian menembus dinding usus menuju saluran limfa, masuk ke dalam pembuluh darah dalam waktu 24-72 jam. Kemudian dapat terjadi pembiakan di sistem *retikuloendothelial* (sistem yang sel-selnya bekerja untuk fagositosis benda asing) dan menyebar kembali ke pembuluh darah yang kemudian menimbulkan berbagai gejala klinis (Bernett *et al.*, 1997).

Menurut Holt, *et al.*, (1994), gejala demam *thypus* yang disebabkan oleh *S. typhi* meliputi demam, mual-mual, muntah dan kematian. *S. typhi* hanya menyerang manusia, dan tidak pada inang lain. Infeksi *Salmonella* dapat berakibat fatal kepada bayi, balita, ibu hamil dan kandungannya serta orang lanjut usia. Hal ini disebabkan karena kekebalan tubuh mereka yang menurun. Kontaminasi *Salmonella* dapat dicegah dengan mencuci tangan dan menjaga kebersihan makanan yang dikonsumsi.

Media yang digunakan untuk menumbuhkan *Salmonella* adalah media *Hektoen Enteric Agar* (HEA). Media lain yang dapat digunakan adalah *Salmonella shigella* agar (SSA), *bismuth sulfite* agar, *brilliant green* agar, dan *xylos lysine deoxycholate* (XLD) agar. HEA merupakan media selektif diferensial. Media ini tergolong selektif karena terdiri dari *bile salt* yang berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan beberapa gram negatif, sehingga diharapkan bakteri yang tumbuh hanya *Salmonella*. Media ini

digolongkan menjadi media diferensial karena dapat membedakan bakteri *Salmonella* dengan bakteri lainnya dengan cara memberikan tiga jenis karbohidrat pada media, yaitu laktosa, glukosa, dan salisin, dengan komposisi laktosa yang paling tinggi. *Salmonella* tidak dapat memfermentasi laktosa, sehingga asam yang dihasilkan hanya sedikit karena hanya berasal dari fermentasi glukosa saja. Hal ini menyebabkan koloni *Salmonella* akan berwarna hijau kebiruan karena asam yang dihasilkannya bereaksi dengan indikator yang ada pada media HEA, yaitu fuksin asam dan bromtimol *blue* (Holt, *et al.*, 1994).



Gambar 2.4 *Salmonella typhi* (Holt, *et al.*, 1994).

## 2.6 Bakteri Asam Laktat sebagai Probiotik

Bakteri probiotik adalah bakteri asam laktat dan *Bifidobacteria* secara alami terdapat pada saluran pencernaan manusia dan hewan serta makanan fermentasi. Hasil riset membuktikan bahwa bakteri probiotik bertahan hidup dalam saluran pencernaan setelah dikonsumsi. Bakteri ini membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, mencegah diare, sembelit, kanker, hipertensi,

menurunkan kolesterol, menormalkan komposisi bakteri saluran pencernaan serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Bakteri probiotik yang telah melalui uji klinis adalah *Lactobacillus casei* strain Shirota yang terdapat pada yakult, *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus acidophilus* (Wasposito, 2001).

Bakteri yang paling banyak digunakan sebagai probiotik adalah bakteri dari golongan *Lactobacillus* karena golongan bakteri ini memiliki hampir semua karakteristik yang diperlukan suatu bakteri untuk digunakan sebagai probiotik. *Lactobacillus* dapat menurunkan pH lingkungan usus dengan mengubah glukosa menjadi asam laktat. Kondisi seperti ini dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri patogen. Keistimewaan ini yang membuat bakteri golongan *Lactobacillus* menjadi agen untuk bermacam produk probiotik di seluruh dunia. Beberapa contoh yang telah dipasarkan adalah *Lactobacillus casei* strain Shirota yang diproduksi oleh suatu perusahaan di Jepang. Bakteri ini mampu berkoloni di dalam usus. *Lactobacillus rhamnosus* VTT E-97800 yang merupakan penelitian VTT di Finlandia, memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Candida* dan bakteri patogen lain dalam saluran pencernaan. *Lactobacillus reuteri* dihasilkan perusahaan Biogaia, Swedia. Jenis bakteri ini efektif melawan penyebab diare pada manusia dengan menghasilkan antibakteri *Reuterin* (Pusponegoro, 2007).

Allah menciptakan makhlukNya mempunyai fungsi dan tujuan, tidak satupun ciptaanNya yang sia-sia, termasuk BAL yang diciptakan oleh Allah dengan banyak manfaat, Allah berfirman dalam surat Shaad ayat 27 adalah sebagai berikut:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَطْلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۚ فَوَيْلٌ

لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ﴿٢٧﴾

Artinya: *Dan kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka (Q.S. Shaad 38: 27).*

Berdasarkan ayat di atas dapat dipahami bahwa Allah menciptakan makhlukNya di antara langit dan bumi tidaklah sia-sia, tetapi dengan hikmah yang nyata dan berguna bagi manusia apabila manusia memanfaatkan dengan sebaik-baiknya (Wardhana, 2004).

Dasar penelitian untuk mengetahui perkembangan probiotik adalah peran mereka untuk melindungi inang melawan kolonisasi oleh mikroorganisme non indigenus pada saluran pencernaan. Menurut Fuller (1989) dan Havenaar (1993), efek probiotik dari BAL dapat dibagi menjadi 3 mekanisme aksi yaitu:

1. Penekanan mikroorganisme pada saluran pencernaan, yaitu dengan memproduksi substansi antibakteria seperti asam laktat, asam asetat, karbondioksida, diasetil, asetaldehid, hidrogen peroksida dan bakteriosin yang merupakan protein yang meningkatkan aktifitas antimikrobial terhadap bakteri lain dengan kekerabatan yang dekat.
2. Perubahan metabolisme mikrobial pada saluran pencernaan:
  - a) Peningkatan aktifitas dari enzim yang penting seperti galaktosidase pada pengurangan laktosa yang tidak bisa dicerna pada orang yang mengalami *lactosa intolerance*.

b) Penurunan aktifitas dari beberapa enzim kolon seperti glucuronidase, glukosidase, nitroreduktase, azoreduktase dan steroid-7, denydroxylase yang diketahui mempunyai efek karsinogenik.

### 3. Stimulasi pada kekebalan tubuh

Beberapa laporan menunjukkan bahwa penggunaan *lactobacilli* dapat meningkatkan kekebalan tubuh dengan meningkatkan sirkulasi dan produksi antibodi alami dari tubuh, konsentrasi interferon gamma, aktifitas makrofag dan jumlah sel pembunuh alami. Pemasukan dari BAL sebagai anggota dari mikroflora usus pada mukosa dan organ lainnya merupakan langkah penting untuk meningkatkan mukosa normal dan kekebalan tubuh (Havenaar, 1993).

### 2.7 Karakteristik Probiotik

Probiotik harus tahan terhadap beberapa kondisi spesifik yang ada pada saluran pencernaan yaitu pH rendah (1,8-3,2) yang umum pada perut, konsentrasi garam empedu, menghasilkan substansi antimikrobia seperti asam laktat, hidrogen peroksida, bakteriosin dan lain sebagainya (Brizuela *et al*, 2001).

Kriteria ideal probiotik menurut Saxelin., (1991) adalah:

1) Tahan terhadap lingkungan asam dan garam empedu, 2) Dapat menempel pada mukosa saluran pencernaan makhluk hidup, 3) Mampu berkoloni pada usus, 4) Mampu memproduksi senyawa antibakteri patogen, 5) Mempunyai karakter tumbuh yang baik dan 6) Bermanfaat bagi kesehatan manusia. Schrezenmier (2004) mengatakan bahwa syarat probiotik yang baik adalah harus tetap dalam keadaan hidup dan aktif ketika mencapai saluran pencernaan, jumlah cukup guna menghasilkan efek kesehatan yang positif.

Menurut Haryanto (2005), beberapa kriteria yang harus dimiliki oleh mikroorganisme untuk dapat dimanfaatkan sebagai probiotik antara lain:

- a. Memiliki aktivitas antimikroba. Dalam hal ini probiotik dapat berperan sebagai antibiotik alami. Beberapa jenis BAL mampu membentuk asam-asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin. Senyawa-senyawa ini terutama bakteriosin dapat menyebabkan kematian pada bakteri lain.
- b. Resistensi terhadap seleksi saluran pencernaan seperti asam lambung, cairan empedu, dan getah pankreas. Apabila bakteri tidak memiliki karakteristik ini, maka bakteri tersebut akan mati sebelum mencapai usus.
- c. Mampu berkoloni dalam saluran pencernaan. Bakteri probiotik harus memiliki kemampuan untuk bersimbiosis dengan flora usus, sehingga dapat melakukan proses yang diinginkan dan tidak cepat terbuang melalui tinja. Mampu meningkatkan kemampuan penyerapan usus. Beberapa penyakit seperti diare pada anak-anak dapat terjadi karena kurangnya enzim laktase dalam tubuh, sehingga saluran pencernaan tidak dapat mencerna susu. BAL dapat menguraikan laktosa dalam susu yang dikonsumsi menjadi monosakarida glukosa dan galaktosa yang mudah dicerna.

### **2.7.1 Aktivitas Antimikroba BAL**

Bernett *et al.*, (1997) menyatakan bahwa terdapat dua hipotesa mengenai penurunan jumlah bakteri patogen dalam usus manusia. Dua hipotesa tersebut adalah (1) sel BAL mampu mengganti posisi penempelan bakteri patogen dan (2) komponen antimikroba yang dimiliki BAL menghambat bakteri patogen. Hipotesa ini didukung oleh banyak penelitian yang menunjukkan aktivitas

antimikroba yang dimiliki oleh galur-galur BAL dan terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen.

Sifat antimikroba adalah suatu kemampuan antagonistik suatu senyawa kimia untuk menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan. Menurut Frazier dan Westof (1998), efektifitas antimikroba dipengaruhi oleh berbagai faktor yaitu: (1) jenis, jumlah, umur dan latar belakang kehidupan mikroba, (2) konsentrasi zat antimikroba, (3) suhu dan waktu kontak, (4) sifat fisika-kimia substrat (pH, kadar air, tegangan permukaan, jenis dan jumlah zat terlarut dan senyawa lainnya).

Pelczar *et al.*, (1993) mengemukakan bahwa senyawa antimikroba dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuh mikroba dengan mekanisme berupa kerusakan dinding sel yang dapat mengakibatkan lisis, atau penghambatan sintesis komponennya. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga terjadi kebocoran zat nutrisi dari dalam sel dengan cara menghambat kerja enzim intraseluler.

### **2.7.2 Ketahanan BAL Terhadap Garam Empedu (*Bile salt*)**

Garam empedu adalah steroid yang digunakan untuk emulsifier lemak pada makanan sehingga usus mampu mencerna lemak dan menyerapnya melalui dinding usus. Empedu disekresikan dari liver, disimpan dalam kantung empedu dan dilewatkan pada saluran empedu menuju usus ketika makanan masuk. Kebanyakan garam empedu yang disekresikan pada bagian atas dari usus halus diserap dengan lemak dari makanan yang kemudian menjadi emulsi pada bagian bawah dari usus halus setiap harinya (Havenaar, 1993).

Asam empedu disintesa dalam hati dari kolesterol, menghasilkan senyawa yang disebut asam empedu primer. Asam empedu utama ini berkonjugasi dengan glisin atau taurin dan disekresikan ke dalam kantung empedu sebagai asam empedu terkonjugasi. Asam empedu di dalam kantung empedu dilepaskan ke dalam lumen duodenum dalam bentuk misel dengan asam lemak dan gliserol yang dihasilkan oleh pencernaan lipase pankreatik. Antara 5.500 sampai 35.500 mg asam empedu terkonjugasi disekresikan ke dalam usus kecil manusia setiap harinya (Corzo dan Gilliland, 1999).

Menurut Booth dan Kroll (1989), isolat klinis BAL mempunyai ketahanan yang berbeda terhadap garam empedu yang berhubungan dengan kerusakan terhadap membran luar sel bakteri. Hal ini disebabkan karena peningkatan aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase terhadap garam empedu, sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel. Bila permeabilitas sel meningkat maka banyak materi-materi intraseluler yang keluar dari dalam sel. Bila hal ini berlangsung terus-menerus akan menyebabkan lisis sel bakteri tersebut.

Gilliland *et al.*, 1984 menunjukkan bahwa laktobasili yang paling bersifat resisten terhadap garam empedu, terdapat pada bagian atas usus halus (jejunum). Hal ini juga ditunjukkan oleh Yu dan Tsen (1993) dan Drouault *et al.*, (1999), yang melaporkan bahwa jumlah BAL yang terdapat di jejunum lebih rendah dari pada di ileum, caecon dan kolon. Hal ini disebabkan konsentrasi garam empedu pada bagian jejunum paling tinggi dari pada ileum, karena lokasinya paling dekat bila garam empedu masuk ke dalam saluran usus.

### 2.7.3 Ketahanan BAL Terhadap Asam

Bakteri asam laktat adalah mikroorganisme yang dapat hidup pada kisaran pH yang luas. Toleransi terhadap asam merupakan salah satu syarat penting suatu isolat untuk dapat menjadi probiotik. Hal ini disebabkan bila isolat tersebut masuk ke dalam saluran pencernaan manusia, maka ia harus mampu bertahan dari pH asam lambung yaitu sekitar 3-5 (Kimoto, *et al.*, 1999).

Ketahanan terhadap asam lambung, berkaitan dengan sifat probiotik yang penting untuk bertahan hidup di dalam lambung manusia. Hasil sekresi lambung dikenal dengan istilah getah lambung. Getah lambung merupakan cairan jernih berwarna kuning pucat yang mengandung HCl 0,2-0,5% dengan pH sekitar 1 (bila lambung dalam kondisi benar-benar kosong). Getah lambung terdiri dari air (97%-99%), musin (lendir) serta garam anorganik, enzim pencernaan (pepsin serta renin) dan lipase (Mallory *et al.*, 1973).

Berrada *et al.*, (1991) melaporkan bahwa waktu yang diperlukan mulai saat bakteri masuk sampai keluar dari lambung sekitar 90 menit. Jadi galur yang diseleksi untuk digunakan sebagai probiotik harus mampu bertahan dalam keadaan asam lambung selama sedikitnya 90 menit. Menurut Bender dan Marquis (1987), ketahanan Laktobasili pada pH rendah terjadi karena (1) kemampuannya dalam mempertahankan pH internal lebih alkali dari pada pH eksternal. (2) mempunyai membran sel yang lebih tahan terhadap kebocoran sel akibat terpapar pH rendah. Menurut Hong *et al.*, (1999), bila sel bakteri terpapar pada kondisi yang sangat asam, maka membran sel dapat

mengalami kerusakan dan berakibat pada hilangnya komponen-komponen intraseluler, seperti Mg, K dan lemak dari sel.

Secara umum pertumbuhan optimum bakteri pada pH tertentu, tergantung pada spesies bakteri. Derajat keasaman dari medium atau pH ekstraseluler tidak secara langsung mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme sel, namun pH intraseluler atau sitoplasma yang mempengaruhi aktivitas seluler. Beberapa aktivitas metabolik pada *Streptococci*, *Lactococci*, dan bakteri asam laktat lainnya, ditemukan tergantung pada pH intraseluler, termasuk transpor asam amino, transpor peptida dan pembentukan DNA. Ketika pH intraseluler ada di bawah batas minimum, maka sel akan berhenti berfungsi atau mati (Nannen dan Hutkins, 1991).

Menurut Syafi'i (2009), proses pencernaan bakteri probiotik berawal dari proses pencernaan makanan yang bermula dari makanan masuk kedalam mulut dan lambung. Mikroba dalam usus halus dan usus besar turut serta menyempurnakan proses pencernaan. Sepanjang perjalanannya, bakteri mengalami berbagai hambatan. Pada saat memasuki lambung, sebagian besar bakteri mati oleh asam lambung (HCl). Hambatan berikutnya terjadi dalam usus halus, terutama usus dua belas jari (*duodenum*), pelepasan cairan empedu dan pankreas yang berguna untuk mencerna lemak, protein, serta gula, juga mematikan sejumlah bakteri, tetapi, pada ujung usus halus, yaitu *ileum* dan *jejunum*, terjadi proses penetralan isi usus oleh getah pencernaan. Kondisi ini, ditambah dengan lambatnya laju pergerakan isi usus, membuka kesempatan bagi bakteri yang bertahan untuk berkembangbiak.

Bakteri yang hidup di ujung usus halus, BAL bertugas memproduksi zat gizi esensial, seperti vitamin dan asam organik, untuk diserap dan dimanfaatkan oleh epitel dinding usus dan organ vital tubuh lainnya, seperti hati. Sedangkan bakteri patogen akan membentuk senyawa busuk yang didetoksifikasi dalam hati dan dikeluarkan melalui tinja dan urine. Bila jumlah senyawa busuk ini sangat banyak, berarti proses detoksifikasi tidak berjalan sempurna. Sebagian besar senyawa ini akan masuk ke dalam darah dan beredar ke seluruh tubuh. Kondisi ini dapat menimbulkan berbagai penyakit dan mempercepat proses penuaan (Syafi'i, 2009).

## **2.8 Antibakteri dari Bakteri Asam Laktat**

Efek antibakteri utama dari BAL disebabkan oleh produksi asam organik. BAL menghasilkan berbagai komponen antibakteri lainnya seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), karbon dioksida ( $CO_2$ ), diasetil dan bakteriosin (Ouwehand, 1998 dalam Yang, 2000).

### **2.8.1 Produksi Asam-asam Organik**

Asam-asam organik seperti asam laktat dan asam asetat diproduksi dari fermentasi karbohidrat. Berdasarkan reaksi fermentasi terhadap gula, BAL dibedakan menjadi golongan homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri homofermentatif mengubah glukosa menjadi asam laktat sebagai produk utama. Sedangkan bakteri heterofermentatif mengubah glukosa menjadi asam laktat,  $CO_2$ , etanol dan asam asetat (Parves, 2006).

Asam-asam organik yang dihasilkan oleh BAL dapat menyebabkan penurunan pH media sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Ostling, *et al.*, 1993). Pada kondisi yang normal sesungguhnya lambung sudah dalam keadaan asam karena adanya sekresi asam klorida (HCl). Kondisi pH lambung yang asam (kurang dari 4,5) dapat sebagai bakteriosida terutama bagi bakteri koliform (Sissons, 1990). Namun demikian penghambatan oleh keasaman lambung menjadi kurang efektif apabila laju aliran pakan berlangsung cepat (Jaeny and Coates, 1994).

### **2.8.2 Produksi Hidrogen Peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Selain asam organik, salah satu produk metabolisme BAL adalah hidrogen peroksida yang terbentuk dari oksidasi NADH (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide*) (Ballongue, 1993). Menurut Collins dan Aramahi (1990), bahwa kuantitas produksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oleh bakteri asam laktat sangat dipengaruhi oleh aktivitas enzim NADH<sub>2</sub> oleh oksidase dan besarnya stimulasi dari FAD (*Flavin Adenine Dinucleotide*).

Pada kondisi aerob, BAL mampu memproduksi hidrogen peroksida melalui transport aktif dengan bantuan enzim flavin. Hidrogen peroksida dapat merusak susunan membran lipid dan meningkatkan permeabilitas membran. Hal ini merupakan efek bakterisida dengan cara mengoksidasi sel bakteri dan menyebabkan kerusakan asam nukleat dan protein sel (Ray, 2001).

Hidrogen peroksida tidak bersifat antimikroba secara molekul, namun lebih pada menghasilkan produk yang sangat reaktif seperti superoksid oksigen (SO). Superoksid oksigen merupakan energi tertinggi dari oksigen. Ion ini merupakan bentuk yang paling reaktif dari oksigen dan merupakan racun bagi makhluk hidup. SO dihasilkan secara kimia atau biokimia baik secara spontan atau dengan sistem enzim yang spesifik. Reaksi ini secara umum ada pada sistem enzim *lactoperoksidase* dan *myeloperoksidase*. Sistem ini ada secara alami pada susu, madu, air liur, dan sel hidup termasuk sel darah putih (fagosit). Pada sel ini ada keseimbangan metabolik antara pembentukan hidrogen peroksida dan katalase. Apabila keseimbangan tersebut terganggu hidrogen peroksida dinetralkan oleh glutathion peroksidase. Ketika fagosit mengenali mikroorganisme, sistem peroksidase aktif dan dihasilkan SO. Karena tingkat racun dari SO yang tinggi, maka sel fagosit mampu membunuh mikroorganisme (Davidson dan Branen, 1993).

Hidrogen peroksida dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan berbagai cara yaitu melalui pengaruh oksidasi yang kuat terhadap sel bakteri atau melalui pemecahan struktur dasar molekul-molekul asam nukleat atau protein sel. Aktivitas antimikroba  $H_2O_2$  secara langsung diduga melibatkan sistem laktoperoksida-thiocianat hidrogen peroksida. Sistem ini menunjukkan aktivitas pada spektrum yang luas secara *in vitro* tetapi tidak selalu efektif bila terjadi di dalam usus (Brashears, *et al.*, 1998).

Enzim laktoperoksidase merupakan bagian dari mekanisme kekebalan alami dan dijumpai dalam jumlah banyak pada susu. Hidrogen peroksida mengkatalisis oksidasi thiosianat menjadi hipothiosianat yang mengoksidasi dalam beberapa kelompok amino dan kelompok thiol dari enzim-enzim esensial untuk metabolisme bakteri. Sistem laktoperoksidase juga dapat merusak membran sitoplasmik dari bakteri gram positif tetapi dinding kelompok bakteri ini lebih dapat membentengi terhadap aksi laktoperoksidase bila dibandingkan dengan kelompok bakteri gram negatif. Sehingga pengaruh hidrogen peroksida dari BAL terhadap bakteri gram positif hanya sebagai bakteriostatik saja (Vandevoorde, *et. al.*, 1994).

### **2.8.3 Produksi Bakteriosin**

Bakteriosin adalah senyawa protein khusus yang mempunyai aktivitas bakteriosida dan aktif hanya pada spesies bakteri yang memiliki hubungan dekat dengan bakteri penghasil bakteriosin tersebut. Ada dua tipe bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri. Bakteriosin tipe pertama hanya efektif dalam menghambat bakteri-bakteri yang memiliki hubungan dekat saja dan tipe kedua adalah bakteriosin yang efektif terhadap bakteri gram positif. Namun demikian beberapa penelitian yang lain melaporkan bakteriosin tidak hanya mampu menghambat bakteri gram positif saja tetapi juga terhadap bakteri gram negatif (Gilliland, 1991).

Bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL dapat berupa protein atau kompleks protein (agregat protein, protein lipokarbohidrat, glikoprotein dan lain-lain) yang aktif secara hayati berpengaruh bakterisidal khususnya terhadap bakteri gram positif dan yang berkerabat dekat dengan spesies bakteri penghasilnya. Bakteriosin merupakan suatu kelompok yang heterogen dengan berat molekul, sifat fisik, kimia, sensitivitas, spektrum aktivitas antimikroba serta cara kerja yang bervariasi (De Vuyst dan Vandamme, 1994).

Axelsson, *et al.*, (1990) menemukan anti bakteri baru yang diproduksi oleh *L. plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides* dapat menghambat pertumbuhan sebagian besar bakteri gram positif dan beberapa strain bakteri gram negatif. Kemampuan bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL telah banyak dilaporkan dapat menghambat berbagai bakteri patogen baik pada saluran pencernaan maupun pada bahan pangan (Chateau, *et al.*, 1993).