

# ISOLASI, IDENTIFIKASI, DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI DADIH SUSU KERBAU

Rofiq Sunaryanto, Bambang Marwoto

Balai Pengkajian Bioteknologi BPP Teknologi

Gd. 630 Kawasan PUSPIPTEK Serpong Tangerang Banten 15314

Phone/Fax.021-7560208

E-mail : [rofigsn@biotek.bppt.go.id](mailto:rofigsn@biotek.bppt.go.id)

## Abstract

Dadih is one of the traditional fermented milk products of West Sumatera. Dadih contain a lot of lactic acid bacteria that acts as a coagulant and preservative. Some lactic acid bacteria also act as a probiotic agent because of characteristics that are resistant to acidic conditions. Some of the main requirements of microbes that can be used as probiotic microbes were resistant to low pH, bile salts, able to colonize, and having antimicrobial activity. Each species of the genus *Lactobacillus* have different characteristics. This characteristic are influenced by the environment in which the bacteria live. Isolation, identification and characterization of lactic acid bacteria derived from buffalo milk were done. The results of isolated lactic acid bacteria was *Lactobacillus plantarum*. The characterization of *Lactobacillus plantarum* indicated that these isolates were able to survive in a concentration of medium containing 0.5% bile salts, resistant to acidic media until pH 2, have antimicrobial activity (inhibit *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*).

**Kata kunci** : dadih, *Lactobacillus plantarum*, probiotic, bakteri asam laktat.

## 1. PENDAHULUAN

Dadih merupakan produk susu kerbau fermentasi yang berasal dari Sumatera Barat yang merupakan bahan pangan tradisional (Suroño *et al.* 2008). Dadih merupakan produk susu kerbau yang difermentasikan secara alami dalam wadah bambu pada suhu kamar selama 24-48 jam. Pato (2008) menyatakan bahwa mikroorganisme dadih diperkirakan berasal dari daun pisang yang digunakan sebagai penutup tabung bambu dan berasal dari susu kerbau itu sendiri. Proses fermentasi ini melibatkan sejumlah bakteri Gram-positif seperti *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus cereus*, dan *Streptococcus uberis*, serta bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli* dan *Klebsiella* sp. Dadih juga mengandung mikroba asam laktat seperti *Lactobacillus plantarum* yang termasuk dalam mikroba probiotik (Usmiati *et al.* 2011). Dibandingkan dengan dadih susu sapi dan susu kambing, dadih susu kerbau memiliki kandungan protein dan lemak yang tinggi (Sunarlim, 2009). Disamping itu tekstur dadih susu kerbau memiliki keunggulan lebih kompak dan padat serta tekstur halus dibandingkan dengan dadih susu sapi dan kambing.

Probiotik didefinisikan sebagai organisme yang memberikan kontribusi terhadap keseimbangan mikroba dalam usus. Ljungh dan Wadstrom (2006) menyatakan bahwa probiotik akan efektif bila mampu bertahan dengan baik dalam kondisi lingkungan seperti di dalam lambung yaitu kondisi lingkungan pH rendah dan tidak rusak oleh enzim-enzim yang dihasilkan oleh lambung. *Lactobacillus* merupakan salah satu genus bakteri asam laktat yang paling banyak dijumpai dalam saluran gastro intestinal, baik pada manusia maupun hewan. Pada usus halus, jumlahnya dapat mencapai  $10^6$ - $10^7$  sel  $g^{-1}$ . Sedangkan pada usus besar jumlahnya berkisar antara  $10^{10}$ - $10^{11}$  sel  $g^{-1}$  (Fuller, 1992). Clemente (2012) menyatakan bahwa syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestin dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin. Syarat lain yang perlu dimiliki oleh bakteri probiotik adalah kemampuannya menghasilkan substansi antimikrobia sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik. Berbagai jenis substansi antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri probiotik adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan diperkirakan juga bakteriosin yaitu protein atau polipeptida yang memiliki sifat anti bakteri (Suskovic *et al.* 2010).

*Lactobacillus* merupakan bakteri yang berbentuk batang, non-motile, Gram-positif, dan bersifat negatif pada uji katalase dan oksidase. *Lactobacillus* banyak terdapat dalam makanan fermentasi, susu, keju dan beberapa *Lactobacillus* ditemukan di buah-buahan. *Lactobacillus* sering disebut juga kelompok bakteri asam laktat, hal ini disebabkan kemampuannya dalam mengubah laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat, Sheeladevi dan Ramanathan (2011). Kebanyakan dari bakteri ini umum dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Produksi asam laktatnya membuat lingkungannya bersifat asam dan mengganggu pertumbuhan beberapa bakteri merugikan (Nair dan Surendran, 2005). Salah satu bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan bertindak sebagai probiotik adalah *Lactobacillus plantarum*. Disamping kemampuannya dapat hidup dalam kondisi asam yang rendah, *Lactobacillus plantarum* mampu menghasilkan antimikroba bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan mikroba patogen. Menurut Afriani (2010) *Lactobacillus plantarum* banyak terdapat dalam dadih susu kerbau. Kandungan nutrisi yang tinggi dalam dadih susu kerbau, menjadikan medium yang baik untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Dengan demikian menjadi hal yang menarik untuk diteliti lebih lanjut potensi bakteri asam laktat yang terkandung dalam dadih susu kerbau untuk dijadikan kandidat probiotik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri asam laktat khususnya *Lactobacillus plantarum* dari dadih susu kerbau yang dapat dimanfaatkan sebagai kandidat probiotik dan mendapatkan karakteristik isolat terpilih.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Susu kerbau yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Payakumbuh Padang Sumatera Barat. Sampel susu diencerkan  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-8}$  dengan larutan NaCl 0,85% kemudian diambil 0,2 mL dari suspensi contoh pada pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-8}$  dan dipindahkan kedalam cawan petri steril, selanjutnya dituangkan medium GYP (Glukose Yeast Pepton) yang ditambahkan 1% (b/v)  $\text{CaCO}_3$  dan diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 2 hari. Adapun komposisi media GYP yang dipakai adalah sebagai berikut: glukosa 1%(b/v), yeast ekstrak 1%(b/v), dan peptone 0,5%(b/v). Koloni yang tumbuh terpisah dan membentuk zona bening dipindahkan ke media MRS agar miring. Isolat kandidat *Lactobacillus* yang telah murni disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  dalam ruang dingin sampai akan digunakan untuk uji selanjutnya.

### 2.2. Identifikasi Isolat *Lactobacillus*

Identifikasi isolat bakteri asam laktat dilakukan berdasarkan karakteristik fenotip dan genotip. Identifikasi secara fenotip dilakukan berdasarkan morfologi, biokimia dan fisiologi, dan identifikasi secara genotip berdasarkan analisis molekular menggunakan 16S rRNA. Pengamatan morfologi merujuk pada Cappucino & Sherman (2001) meliputi bentuk, warna koloni, pewarnaan gram, dan motilitas yang tumbuh terpisah pada medium GYP- $\text{CaCO}_3$ . Uji biokimia meliputi katalase, pembentukan asam dari berbagai sumber karbon seperti arabinosa, cellobiose, laktosa, manitol, melibiosa, salicin, sorbitol, sukrosa, raffinosa, trehalosa dengan konsentrasi masing-masing sumber karbon 1% .

### 2.3. Identifikasi Isolat *Lactobacillus* dengan 16S rRNA.

Identifikasi berdasarkan genotip, isolat ditumbuhkan pada MRS broth pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Selanjutnya 1,5 mL kaldu fermentasi disentrifuse  $10.000 \times g$  selama 5 menit pada suhu kamar dan dipisahkan padatnya. DNA diisolasi dengan menggunakan FastPrep, kit khusus untuk isolasi DNA. Sampel dilisis menggunakan *lysing matrix kit* dan dihomogenasi menggunakan FastPrep selama 40 detik pada 4500 rpm. Amplifikasi DNA dikerjakan menggunakan PCR dengan primers 9F dan 1541R. PCR yang mengandung primer 9F dan 1541R ditambahkan ke dalam larutan DNA, selanjutnya dipurifikasi menggunakan kit ekstraksi Gel/DNA. Terhadap gen 16S rRNA yang diperoleh selanjutnya dilakukan sekuen DNA menggunakan Dye<sup>®</sup> terminator V 3.1 *cycle sequencing kit*. Peralatan DNA sekuen yang digunakan adalah ABI 300 *genetic analyzer*. Selanjutnya, sekuen yang diperoleh dibandingkan dengan database yang tersedia dalam NCBI Blast (*Basic Local Alignment Search Tool*) menggunakan BLAST *search engine*(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

### 2.4. Uji Ketahanan Terhadap pH Rendah

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan 1% kultur berumur 24 jam kedalam media MRS broth yang sebelumnya telah dilakukan pengaturan pH masing-masing pH 3,0; 2,5; 2,0. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$ . Pada akhir inkubasi dilakukan perhitungan jumlah bakteri dengan metode angka lempeng total (*plate count*) pada media MRS agar.

## 2.5. Uji Kemampuan Tumbuh Pada Garam Empedu

Pengujian dilakukan dengan menginokulasikan 1% kultur berumur 24 jam ke dalam 5 mL media MRS broth dengan penambahan garam empedu dengan konsentrasi 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% dan 0,5%. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada awal dan akhir inkubasi dilakukan perhitungan jumlah bakteri dengan metode angka lempeng total (*plate count*) pada MRS agar.

## 2.6. Uji Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba secara kualitatif diuji menggunakan metode difusi sumur. Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Enterococcus faecalis*. Sebanyak 0,1 µL mikroba uji dipipetkan nutrient agar yang telah disterilisasi dan telah didinginkan sampai dengan suhu 40°C, selanjutnya dihomogenkan dan dituangkan ke dalam cawan petri. Selanjutnya ditunggu sampai nutrient agar benar-benar memadat. Setelah dingin dibuat sumur dengan diameter kurang lebih 0,5 cm dan dimasukkan ke ruang dingin selama 4 jam. Selanjutnya ditempatkan dalam suhu kamar dan diinokulasikan 0,1 µL *Lactobacillus plantarum* ke dalam sumur agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hari dan didinginkan kembali pada suhu 4°C selama 12 jam. Aktivitas antimikroba ditunjukkan adanya daerah bening disepertan sumur agar.

Untuk mengetahui aktivitas antimikroba secara kuantitatif maka dilakukan uji kontak antara

mikroba uji dengan isolat *Lactobacillus* dalam medium susu yang telah difermentasikan. Dalam medium susu fermentasi diinokulasikan mikroba uji beberapa tetes, selanjutnya dihitung jumlah mikroba uji dalam medium susu fermentasi (sebagai jam ke-0). Selanjutnya pada jam ke-7 dihitung kembali jumlah penurunan mikroba uji. Prosentase kematian bakteri uji dihitung sebagai jumlah sel awal (jam ke-0) dikurangi jumlah sel hidup sisa pada jam ke-6 dibagi dengan jumlah sel awal (jam ke-0).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi *Lactobacillus* dilakukan dengan menggunakan media GYP (glukosa-yeast ekstrak-pepton) dengan penambahan 1% CaCO<sub>3</sub>. Sifat basa yang dimiliki oleh kalsium karbonat akan menetralkan dan melokalisasi produksi asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Penampakan koloni yang dibentuk oleh bakteri asam laktat berupa koloni bundar berwarna putih dengan bentuk elips dan bersifat anaerob fakultatif dengan zona bening yang terbentuk disekeliling koloni. Secara mikroskopik morfologi bakteri berbentuk batang. Dari hasil isolasi, diperoleh 5 isolat bakteri asam laktat yang selanjutnya dilakukan karakterisasi fenotipnya. Hasil pengamatan secara morfologi menunjukkan uji katalase, pewarnaan gram, dan bentuk sel bakteri semua isolat menunjukkan sifat katalase negatif, pewarnaan Gram-positif, dan bentuk sel bakteri berbentuk batang. Data hasil identifikasi fenotip selengkapnya disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik biokimia isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dadih susu kerbau.

Karakteristik	DH1	DH2	DH3	DH4	DH5
Bentuk koloni (visual)	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Bentuk sel bakteri (mikroskopik)	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Warna koloni	Putih susu				
Pewarnaan gram	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
Oksidase	-	-	-	-	-
Katalase	-	-	-	-	-
Motilitas	-	-	-	-	-
Spora	-	-	-	-	-
Fermentasi gula:					
Arabinosa	-	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+
Laktosa	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+	+
Melibiosa	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+
Sukrosa	+	+	+	+	+
Raffinos	+	+	+	+	+
Trehalosa	+	+	+	+	+

Isolat yang diduga sebagai *Lactobacillus* dengan memenuhi kriteria mempunyai sifat katalase negatif, pewarnaan Gram-positif, nonmotil, dan bentuk sel batang. Pemilihan ini berdasarkan Buchanan (1974) dalam *Bergey's manual of determinative bacteriology* yang menyatakan bahwa *Lactobacillus* mempunyai sifat katalase negatif dan Gram-positif dengan bentuk morfologi basil atau coccobasil. Dari kelima isolat yang diuji, pembentukan asam hasil fermentasi gula hanya isolat DH1 yang tidak dapat menggunakan gula arabinosa. Hal ini mengindikasikan bahwa DH1 diduga adalah *Lactobacillus plantarum*. Hal ini diperkuat oleh hasil identifikasi secara genotip yang menunjukkan bahwa isolat DH1 adalah *Lactobacillus plantarum* dengan tingkat kemiripan sebesar 100% (request ID 6GRRW8KZ01R) dengan *Lactobacillus plantarum* strain IMAU70089.

Selanjutnya dari kelima isolat yang diperoleh dikarakterisasi uji ketahanan pada pH rendah. Uji ini merupakan salah satu ketentuan yang harus dipenuhi untuk mendapatkan mikroba sebagai kandidat probiotik. Hasil Uji ketahanan pada pH rendah disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil pengamatan untuk uji ketahanan terhadap pH rendah

	Kode	pH 7 (CFU/mL <sup>-1</sup> )	pH 3 (CFU/mL <sup>-1</sup> )	pH 2,5 (CFU/mL <sup>-1</sup> )	pH 2 (CFU/mL <sup>-1</sup> )
1	DH1	5,2 10 <sup>9</sup>	1,5 10 <sup>7</sup>	1,5 10 <sup>4</sup>	-
2	DH2*	3,0 10 <sup>10</sup>	1,4 10 <sup>7</sup>	2,0 10 <sup>2</sup>	5 10 <sup>1</sup>
3	DH3	1,5 10 <sup>5</sup>	1,2 10 <sup>6</sup>	-	-
4	DH4	1,6 10 <sup>7</sup>	1,4 10 <sup>6</sup>	-	-
5	DH5	5,0 10 <sup>6</sup>	1,3 10 <sup>6</sup>	-	-

Keterangan:\* = isolat terpilih untuk dikarakterisasi

Tabel 2 terlihat bahwa isolat *Lactobacillus plantarum* mempunyai ketahanan pH rendah yang cukup besar meskipun penurunan jumlah koloni sangat tajam. Hal ini sesuai dengan pernyataan Olejnik *et al.* (2005) yang mengatakan bahwa bakteri asam laktat terutama *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* termasuk bakteri yang mampu bertahan hidup pada kondisi asam. Olejnik *et al.* (2005) mendapatkan 3 isolat *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. helveticus* yang tahan asam hingga pH 3,0 yang diisolasi dari beberapa makanan tradisional. Ketiga isolat ini terjadi penurunan viabilitas sampai dengan 30% pada kondisi pH 3 selama 7 jam.

Dibandingkan dengan *Lactobacillus* yang ditemukan oleh Olejnik *et al.* (2005), kelima isolat yang berhasil diisolasi masih lebih tahan terhadap pH rendah. Dari kelima isolat yang diuji, isolat DH2 menunjukkan viabilitas paling tinggi terhadap kondisi pH rendah dibandingkan dengan isolat lainnya. Rata-rata isolat DH3, DH4, dan DH5

hanya dapat bertahan pada pH 3 dengan jumlah sel sekitar 10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup>.

Dari hasil uji ketahanan pH rendah maka isolat DH2 dipilih untuk dikarakterisasi lebih lanjut. Salah satu syarat strain bakteri yang dapat digunakan sebagai probiotik adalah strain yang mempunyai kemampuan beradaptasi dalam kondisi seperti di dalam saluran pencernaan. Kandidat probiotik harus tahan terhadap garam empedu dan kondisi pH lambung yaitu pada pH 2,0 (Sahadeva *et al.* 2011). Tahap selanjutnya isolat DH2 diuji ketahanannya terhadap garam empedu. Hasil uji ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap garam empedu dalam beberapa konsentrasi disajikan dalam Tabel 3. *Lactobacillus plantarum* ini memiliki daya tahan terhadap garam empedu yang cukup tinggi, terbukti sampai dengan konsentrasi garam empedu 0,5%, terdapat 1000 koloni bakteri masih dapat bertahan hidup.

Tabel 3. Hasil pengamatan uji ketahanan terhadap garam empedu.

Jenis Bakteri	K=0 (CFU/mL)	K=0,1% (CFU/mL)	K=0,2% (CFU/mL)	K=0,3% (CFU/mL)	K=0,4% (CFU/mL)	K=0,5% (CFU/mL)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	7,7 10 <sup>8</sup>	7,5 10 <sup>5</sup>	9,4 10 <sup>3</sup>	5,3 10 <sup>3</sup>	1,5 10 <sup>3</sup>	1,0 10 <sup>3</sup>

Keterangan :

K= konsentrasi garam empedu (% b/v)

Garam empedu mampu menembus dan bereaksi pada sisi membran sitoplasma yang bersifat lipofilik, sehingga dapat menyebabkan terjadinya kerusakan membrane sel. Hal ini yang menyebabkan bakterisidal bagi mikroorganisme kemensal dalam tubuh manusia. *Lactobacillus* memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dalam konsentrasi garam empedu yang tinggi. Singhal *et al.*(2009) mendapatkan isolat *Lactobacillus plantarum* CM 25 dan *Lactobacillus casei subsp. casei* CM 34 yang mampu bertahan dalam konsentrasi garam empedu sodium glycocholate and sodium taurocholate sampai dengan 0,3% dan mampu bertahan sampai dengan pH 2. Sivram PL dan Vishwanath (2012) mendapatkan isolat *Lactobacillus* sp. dari sampel keju putih. Isolat tersebut mampu bertahan pada konsentrasi garam empedu sampai dengan konsentrasi 2% dan mampu bertahan pada pH 2. Menurut Sivram PL dan Vishwanath (2012) bahwa salah satu syarat mikroba dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah mampu bertahan pada konsentrasi garam empedu paling tidak 0,3% dan pH 2. Hal ini disebabkan bahwa kondisi dalam saluran pencernaan manusia mengandung garam empedu rata-rata 0,3% dan dengan tingkat keasaman pH 2 – pH 3. Dengan demikian isolat *Lactobacillus plantarum* yang diisolasi dari dadih

susu kerbau ini berpotensi untuk dapat dimanfaatkan sebagai agensia probiotik.

Untuk mengetahui kemampuan kandidat probiotik dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen maka dilakukan uji kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen khususnya bakteri yang ada dalam saluran pencernaan. Uji ini dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif, uji dilakukan dengan metode difusi sumur, dan secara kuantitatif uji dilakukan dengan metode uji kontak. Hasil percobaan uji kualitatif aktivitas antimikroba *Lactobacillus plantarum* terhadap mikroba uji disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antimikroba *Lactobacillus plantarum* terhadap mikroba uji dengan metode difusi sumur.

No	Mikroba uji	Diameter zona bening (mm)
1	<i>Escherichia coli</i>	13,75
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	16,75
3	<i>Enterococcus faecalis</i>	15,4

Tabel 4. menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* mampu menghambat *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Enterococcus faecalis*. Namun demikian aktivitas daya hambat terhadap ketiga bakteri uji berbeda. Terlihat daya hambat *Lactobacillus plantarum* terhadap *Staphylococcus aureus* lebih besar dibandingkan *Escherichia coli* dan *Enterococcus faecalis*. Dilihat dari kemampuan menghambat pertumbuhan ketiga bakteri uji tersebut, *Lactobacillus plantarum* lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif dibandingkan Gram-negatif, terlihat daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Enterococcus faecalis* yang merupakan bakteri Gram-positif jauh lebih besar dibandingkan *Escherichia coli* yang tergolong bakteri Gram-negatif.

Untuk mengetahui sifat antibakteri *Lactobacillus plantarum* secara kuantitatif maka dilakukan uji kontak antara bakteri uji dengan *Lactobacillus plantarum*. Hasil uji kuantitatif *Lactobacillus plantarum* terhadap bakteri uji disajikan dalam Tabel 5. Hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* lebih efektif menghambat *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan *Enterococcus faecalis* dan *Escherichia coli*. *Lactobacillus plantarum* mampu menyebabkan penurunan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* sebanyak 33,3%, penurunan jumlah koloni *Enterococcus faecalis* sebanyak 27,27% dan jumlah penurunan koloni *Escherichia coli* sebanyak 23,07%. Mallesha et al. (2010) telah berhasil mendapatkan beberapa isolat *Lactobacillus* dari beberapa makanan

fermentasi yang mampu menghambat kuat bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Khosro et al.(2012) memperoleh isolat *Lactobacillus plantarum* dari sedimen laut yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, dan *Shigella boydii*. Menurut Khosro et al.(2012); Wagih et al. (2012) *Lactobacillus plantarum* mampu menghasilkan plantaricin yaitu bakteriocin yang dapat bertindak sebagai antibakteri dan antifungi. Seperti diketahui bahwa bakteriocin telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan pengawet makanan.

Tabel 5. Hasil uji kontak antara *Lactobacillus plantarum* dengan bakteri uji setelah 7 jam.

Bakteri uji	Jumlah koloni pada jam ke-0 (CFU/mL)	Jumlah koloni setelah kontak selama 7 jam. (CFU/mL)	Prosentase kematian
<i>Escherichia coli</i>	1,3 10 <sup>8</sup>	1,0 10 <sup>8</sup>	23,07%
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,5 10 <sup>8</sup>	1,0 10 <sup>8</sup>	33,3%
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,1 10 <sup>8</sup>	8,0 10 <sup>7</sup>	27,27%

Dari hasil karakterisasi isolat DH2 yang teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* terbukti memiliki karakteristik yang unggul dan memenuhi kriteria sebagai agent probiotik yang mampu bertahan hidup dalam kondisi asam sampai dengan pH 2, dan adanya garam empedu (*bile salt*) pada konsentrasi 0,5% (b/v) seperti halnya kondisi dalam lambung dan saluran pencernaan, serta memiliki daya hambat terhadap beberapa bakteri Gram-positif dan Gram-negatif.

#### 4. KESIMPULAN

Dari hasil percobaan yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa;

- Telah diperoleh lima isolat *Lactobacillus* DH1, DH2, DH3, DH3, dan DH5 sebagai kandidat probiotik yang diisolasi dari dadih susu kerbau.
- Hasil identifikasi secara fenotip dan secara molekuler menggunakan 16S rRNA, isolat DH2 teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* dan memiliki karakteristik yang dapat digunakan sebagai kandidat probiotik.
- Isolat DH2 mampu bertahan hidup sampai dengan pH 2, konsentrasi garam empedu sampai dengan 0,5% (b/v), dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam saluran pencernaan seperti *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* dan *Escherichia coli*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriani. 2009. Pengaruh Penggunaan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Kadar Asam dan Nilai pH Dadih Susu Sapi *J Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan* 8(6): 279-285.
- Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. 1974. "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8<sup>th</sup> edition". The William & Wilkin Company/Baltimore. USA
- Cappucino, J.G., dan Sherman, N. 2001. Microbiology. A Laboratory Manual. Sixth Edition. Rockland Community College. New York. 419p.
- Clemente, A. 2012. Probiotics and Prebiotics: An Update from the World Gastrointestinal Organization (WGO). *Eur Food Res Rev.* 2(1): 24-28
- Fuller, R. 1992. Probiotics: The scientific Basis. Ed. Fuller R. London: Chapman and Hall.
- Khosro, I., Majid, M.R., Pahlaviani, K., Massiha, A. 2012. Isolation of *Lactobacillus* Species from Sediments of Caspian Sea for Bacteriocin Production. *2nd International Conference on Biomedical Engineering and Technology/PCBEE vol. 34. IACSIT Press, Singapore*
- Ljungh, A., Wadstrom, T. 2006. Lactic acid bacteria as probiotics. *Curr Issues Intest Microbiol.* 7(2):73-89.
- Mallesha., Shylaja, R., Selvakumar, D., , J.H. 2010. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw and Fermented Products and Their Antibacterial Activity. *Rec Res Sci Tech* 2(6):42-46
- Nair, P.S., dan Surendran, P.K. 2005. Biochemical Characterization Of Lactic Acid Bacteria Isolated From Fish And Prawn. *J Culture Collections.*4:48-52.
- Olejnik, A., Lewandowska, M., Obarska, M., Grajek W. 2005. Tolerance Of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Strains to Low pH, Bile Salts And Digestive Enzymes. *Electronic Journal Polish Agricultural University.*Vol.8.issue 1. <http://www.ejpau.media.pl/volume8/issue1/art-05.html>.
- Pato, U. 2008. Potensi Bakteri Asam Laktat yang diisolasi dari Dadih untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker. *J Natur Indonesia* (5)2:162-166
- Sahadeva, R.P.K., Leong, S.F., Chua, K. H., Tan, C.H., Chan, H.Y., Tong, E.V., Wong, S.Y.W., Chan, H.K. 2011. Survival of commercial probiotic strains to pH and bile. *Int Food Res J* 18(4): 1515-1522.
- Singhal, K., Joshi, H., Chaudhary, B.L. 2009. Bile and Acid Tolerance Ability of Probiotic *Lactobacillus* Strains. *J global Pharma Tech* 2(12):17-25
- Sivram, P.L., Vishwanath, P.P. 2012. Assessment of Probiotic Potential of *Lactobacillus* sp. Isolated from Cheese and Preparation of Probiotic Ice Cream. *IJRAP* 3(4), Jul-Aug. [www.ijrap.net](http://www.ijrap.net).
- Sheeladevi, A., Ramanathan, N. 2011. Lactic Acid Production Using Lactic Acid Bacteria under Optimized Conditions. *Inter J Pharm Biol Arch* 2(6):1686-1691
- Sunarlim, R. 2009. Potensi *lactobacillus* sp. asal dari dadih sebagai starter pada pembuatan susu fermentasi khas Indonesia. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian* (5): 69-76.
- Surono, I.S., Sishigaki, T., Endaryanto, A.P. 2008. Indonesia Biodiversity from Microes to Herbal aas Potential Functional Foods. *J of Agriculture Shinshu University.* 44(1):23-27
- Suskovic, J., Kos, B., Beganovic., Pavunc, A.L., Habjanic, K., Matosic, S. 2010. Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria, *Food Technol. Biotechnol.* 48 (3) 296-307.
- Usmiati, S., Broto, W., Setiyanto, H. 2011. Karakteristik Dadih Susu Sapi yang Menggunakan Starter Bakteri Proiotik. *Indonesia Journal of Animal and Veterinary Science.*16(2): 140-152
- Wagih., El-Shouny, W., Abo-Kamar, A., El-Shanshoury AE.,Ragy, S. 2012. Production of Plantaricin by *Lactobacillus plantarum* sr18. *J Microbiol Biotechnol Food Sci.* 1(6):1488-1504