

KARAKTERISASI *Lactobacillus plantarum* LP-01 dan *Lactobacillus acidophilus* LA-01 DENGAN PARAMETER TOLERANSI TERHADAP LISOZIM, CAIRAN LAMBUNG SERTA GARAM EMPEDU & PENGUJIAN AKTIVITAS ENZIM *Bile Salt Hidrolase*

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Sidang Sarjana
Program Studi Teknologi Pangan

Oleh :

Khairunnasa Wzdjanul Wahyu

143020191



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS PASUNDAN
BANDUNG
2019**

KARAKTERISASI *Lactobacillus plantarum* LP-01 dan *Lactobacillus acidophilus* LA-01 DENGAN PARAMETER TOLERANSI TERHADAP LISOZIM, CAIRAN LAMBUNG SERTA GARAM EMPEDU & PENGUJIAN AKTIVITAS ENZIM *Bile Salt Hidrolase*

Diajukan untuk memenuhi Syarat Sidang Sarjana
Program Studi Teknologi Pangan

Oleh :

Khairunnasa Wizdjanul Wahyu

143020191

Menyetujui

Pembimbing I

Pembimbing II

(Dr. Ir. H Dede Zainal Arief, M. Sc.)

(Istiyati Inayah, S.Si., M.Si.)

DAFTAR ISI

Daftar isi	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
ABSTRAK	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2. Identifikasi Masalah.....	3
1.3. Maksud dan Tujuan.....	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.5. Kerangka Pemikiran.....	4
1.6. Hipotesis.....	8
1.7. Waktu dan Tempat	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1. Probiotik.....	10
2.2. <i>Lactobacillus Plantarum</i>	12
2.3. <i>Lactobacillus Acidophilus</i>	14
2.4. Enzim <i>Bile Salt Hidrolase</i>	15
2.5. Lisozim.....	21
2.6. Cairan Lambung.....	21
2.7. Garam Empedu.....	23
III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN	27
3.1. Bahan Penelitian.....	27
3.2. Alat Penelitian.....	27
3.3 Metode Penelitian.....	27
3.4 Deskripsi Penelitian	29
3.4.1 Pengujian Toleransi BAL pada Kondisi Saluran Pencernaan.....	29

3.4.1.1 Toleransi Bakteri terhadap Lisozim.....	29
3.4.1.2 Toleransi Bakteri terhadap Cairan Lambung	30
3.4.1.3 Toleransi Bakteri terhadap Garam Empedu.....	31
3.4.2 Pengujian Aktivitas Enzim <i>Bile Salt Hidrolase</i>	32
3.4.2.1 Kualitatif.....	32
3.5. Pengolahan Data.....	32
3.5.1 Toleransi Bakteri Terhadap Lisozim.....	32
3.5.2 Toleransi Bakteri Terhadap Cairan Lambung	33
3.5.3 Toleransi Bakteri Terhadap Garam Empedu.....	33
3.5.4 Aktivitas Enzim <i>Bile Salt Hidrolase</i>	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	40
4.1. Penelitian Utama	40
4.1.1 Pengujian Toleransi BAL pada Kondisi Saluran Pencernaan.....	40
4.1.1.1 Toleransi Bakteri Terhadap Lisozim.....	40
4.1.1.2 Toleransi Bakteri Terhadap Cairan Lambung.....	43
4.1.1.3 Toleransi Bakteri Terhadap Garam Empedu.....	48
4.1.2 Pengujian Aktivitas Enzim <i>Bile Salt Hydrolase</i>	52
V. KESIMPULAN DAN SARAN	57
5.1. Kesimpulan	57
5.2. Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN.....	64

DAFTAR TABEL

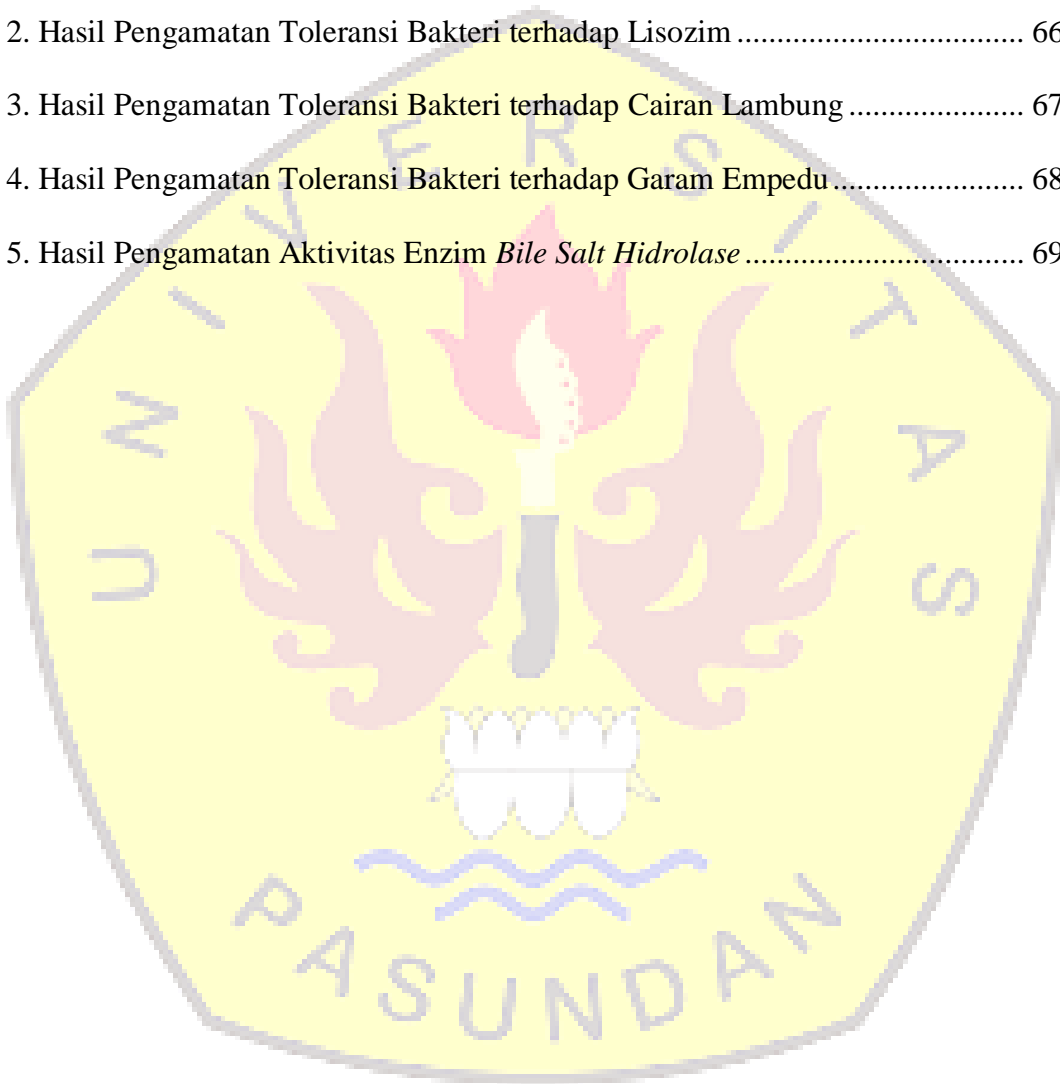
Tabel	Halaman
1. <i>Lactobacillus Plantarum</i> Terhadap Asam	22
2. <i>Lactobacillus Plantarum</i> Terhadap Garam Empedu.....	25
3. Hasil Pengujian Bakteri Terhadap Lisozim	32
4. Hasil Pengujian Bakteri Terhadap Cairan Lambung	33
5. Hasil Pengujian Bakteri Terhadap Garam Empedu	33
6. Hasil Pengujian Bakteri Terhadap Enzim BSH Kualitatif	34
7. Hasil Pengujian Toleransi Bakteri terhadap Lisozim	40
8. Hasil Pengujian Toleransi Bakteri terhadap Cairan Lambung	44
9. Hasil Pengujian Toleransi Bakteri terhadap Garam Empedu	48
10. Hasil Pengujian Aktivitas Enzim <i>Bile Salt Hydrolase</i>	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Lactobacillus Plantarum</i>	13
2. Kurva Pertumbuhan <i>L.Plantarum</i>	14
3. <i>Lactobacillus Acidophilus</i>	15
4. Diagram Alir Pembuatan Simulasi Cairan Ludah	34
5. Diagram Alir Penelitian Penelitian Toleransi Bakteri Terhadap Lisozim	35
6. Diagram Alir Pembuatan Simulasi Cairan Lambung.....	36
7. Diagram Alir Penelitian Toleransi Bakteri Terhadap Cairan Lambung.....	37
8. Diagram Alir Penelitian Toleransi Bakteri Terhadap Garam Empedu.....	38
9. Diagram Alir Penelitian Aktivitas Enzim BSH (Kualitatif).....	39
10. Kurva Perubahan Jumlah Sel pada Simulasi Cairan Ludah	41
11. Kurva Perubahan Jumlah Sel pada Simulasi Cairan Lambung.....	44
12. Kurva Perubahan Jumlah Sel pada Simulasi Garam Empedu	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kebutuhan Bahan & Alat	65
2. Hasil Pengamatan Toleransi Bakteri terhadap Lisozim	66
3. Hasil Pengamatan Toleransi Bakteri terhadap Cairan Lambung	67
4. Hasil Pengamatan Toleransi Bakteri terhadap Garam Empedu	68
5. Hasil Pengamatan Aktivitas Enzim <i>Bile Salt Hidrolase</i>	69



ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik bakteri *Lactobacillus plantarum* (LP-01) dan *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) dengan parameter toleransi terhadap lisozim, cairan lambung serta garam empedu & pengujian aktivitas enzim *bile salt hidrolase*. Metode yang dilakukan dalam pengujian toleransi bakteri terhadap lisozim dengan inokulasi bakteri pada simulasi cairan ludah yang mengandung lisozim, setelah itu diinkubasi lalu dilakukan perhitungan dengan metode TPC (*total plate count*), pengujian toleransi bakteri terhadap cairan lambung dilakukan dengan cara inokulasi bakteri pada simulasi cairan lambung yang mengandung pepsin, larutan fisiologis dan HCl pekat, setelah itu diinkubasi lalu dilakukan perhitungan dengan metode TPC (*total plate count*) sedangkan pengujian toleransi bakteri terhadap garam empedu dilakukan dengan cara inokulasi bakteri pada media yang ditambahkan garam empedu, setelah itu diinkubasi lalu dilakukan perhitungan dengan metode TPC (*total plate count*) dan untuk pengujian aktivitas enzim *bile salt hidrolase* dilakukan dengan mengamati zona pengendapan yang terbentuk disekitar koloni pada media MRSA yang mengandung TDCA. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* (LP-01) dan *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) toleransi terhadap lisozim, asam lambung dan garam empedu, toleransi terhadap lisozim dengan % toleransi untuk *Lactobacillus plantarum* (LP-01) 85,90% dan *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) sebesar 84,18%, toleransi terhadap cairan lambung untuk *Lactobacillus plantarum* (LP-01) 96,29% dan *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) sebesar 96,18% dan toleransi terhadap garam empedu untuk *Lactobacillus plantarum* (LP-01) 96,49% dan *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) sebesar 96,03% dan untuk hasil pengujian aktivitas enzim *bile salt hidrolase* menunjukkan *Lactobacillus plantarum* (LP-01) dan *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) memiliki aktivitas enzim *bile salt hidrolase*.

Kata Kunci : Karakterisasi, *Lactobacillus plantarum* (LP-01), *Lactobacillus acidophilus* (LA-01), Probiotik

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the characterization of *Lactobacillus plantarum* (LP-01) and *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) against tolerance parameters for lysozyme, gastric juice and bile salts & the test of bile salt hydrolase enzyme activity. The method carried out in testing bacterial tolerance of lysozyme of bacterial inoculation into saliva simulation containing lysozyme, after which it was incubated performed calculations using the TPC method (total plate count), bacterial tolerance testing for gastric juice was carried out by isolating bacteria into the simulation of gastric juice containing pepsin, steril saline solution and HCl, after it was incubated the calculation was carried out using the TPC method (total plate count), while the bacterial tolerance test for bile salts was carried out by inoculating bacteria into the media added with bile salt, after which it was incubated then the calculation was done using the TPC method (total plate count) while the test of enzyme bile salt hidrolase activity was carried out by observing the deposition zone around the colony in MRSA media containing TDCA. The result showed that *Lactobacillus plantarum* (LP-01) and *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) tolerance of lysozyme, gastric juice, and bile salt, tolerance to lysozyme with % for *Lactobacillus plantarum* (LP-01) 85,90% and *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) at 84,18%, tolerance of gastric juice for *Lactobacillus plantarum* (LP-01) 96,29% and *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) at 96,18% and tolerance of bile salts for *Lactobacillus plantarum* (LP-01) 96,49% and *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) at 96,03% and the result of enzyme bile salt hidrolase activity showed that *Lactobacillus plantarum* (LP-01) and *Lactobacillus acidophilus* (LA-01) has enzyme activity of bile salt hidrolase.

Keywords : Characterization, *Lactobacillus plantarum* (LP-01), *Lactobacillus acidophilus* (LA-01), Probiotics

I PENDAHULUAN

Bab I menguraikan mengenai 1.1. Latar Belakang, 1.2. Identifikasi Masalah, 1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian, 1.4. Manfaat Penelitian, 1.5. Kerangka Pemikiran, 1.6. Hipotesis Penelitian, dan 1.7. Tempat dan Waktu.

1.1. Latar Belakang

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang bila dikonsumsi memberikan efek menguntungkan dengan memperbaiki sifat mikroflora indigenous (Fuller, 1999). Selanjutnya definisi probiotik berkembang menjadi makanan suplemen berupa mikroba hidup yang memiliki keuntungan kepada manusia khususnya dalam keseimbangan mikroflora usus (Shortt, 1999). Probiotik sangat penting bagi tubuh dengan peranan fisiologis yang penting dalam menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan. Kusumawati (2002) menyatakan beberapa pengaruh positif probiotik terhadap kesehatan yaitu diantaranya dapat meningkatkan ketahanan terhadap penyakit infeksi terutama infeksi usus dan diare, mempengaruhi respon imun, dan memudahkan sistem pencernaan dalam tubuh. Menurut Shortt (1999). *Lactobacillus* merupakan bakteri asam laktat yang mempunyai potensi sebagai probiotik.

Lactobacillus plantarum memiliki sifat antagonis terhadap mikroorganisme penyebab kerusakan makanan seperti *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, dan Gram negatif (Buckle et al., 1987). *Lactobacillus plantarum* bersifat toleran terhadap garam, memproduksi asam dengan cepat dan memiliki pH ultimat 5,3 hingga 5,6 (Buckle et al., 1987). Fermentasi dari *Lactobacillus plantarum* bersifat homofermentatif sehingga tidak menghasilkan gas (Buckle et al., 1987)

Lactobacillus acidophilus mampu memproduksi asam laktat sebagai produk utama dari metabolisme fermentasi dan menggunakan laktosa sebagai sumber karbon utama dalam memproduksi energi. *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, dan bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang asam pada pH 4-5 atau dibawahnya pada suhu berkisar 25-35°C. *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir. Bakteri ini secara alamiah dapat ditemukan pada organ-organ tertentu pada manusia dan hewan, terutama di mulut, saluran pencernaan, dan vagina.

Klasifikasi Bakteri Asam Laktat Pot et al. (1994) menyatakan bahwa semula bakteri asam laktat diklasifikasikan menjadi 4 genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*. Klasifikasi ini didasarkan pada ciri morfologi, tipe fermentasi, kemampuan tumbuh pada suhu yang berbeda, serta toleransi terhadap asam dan basa. Klasifikasi terbaru membagi genus *Lactobacillus* menjadi *Lactobacillus* dan *Carnobacterium*.

Kemampuan BAL dalam probiotik selain dipengaruhi oleh strainnya juga dipengaruhi oleh jumlah populasinya. Hal ini berdasarkan pada fakta bahwa bakteri akan mampu menjalankan fungsinya apabila sudah memenuhi jumlah populasi minimal (quorum). Evanikastri (2003) mengatakan bahwa syarat bakteri asam laktat untuk bersifat sebagai probiotik yaitu: (1) tahan terhadap asam, terutama asam lambung yang memiliki pH antar 1,5-2,0 sewaktu tidak makan dan pH 4,0-5,0 sehabis makan, sehingga mampu bertahan dan hidup lama ketika melalui lambung dan usus, (2) stabil terhadap garam empedu dan mampu bertahan

hidup selama berada pada bagian usus kecil. Empedu disekresikan ke dalam usus untuk membantu absorpsi lemak dan asam empedu yang terkonjugasi dan diserap dari usus kecil, (3) memproduksi senyawa antimikroba seperti asam laktat, hidrogen peroksida dan bakteriosin, (4) mampu menempel pada sel usus manusia, faktor penempelan oleh probiotik merupakan syarat untuk pengkolonisasi, aktivitas antagonis terhadap patogen, pengaturan sistem daya tahan tubuh dan mempercepat penyembuhan infeksi, (5) tumbuh baik dan berkembang dalam saluran pencernaan, dan (6) aman digunakan.

Penelitian kali ini adalah untuk menguji ketahanan bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* dalam saluran cerna dan mengetahui aktivitas enzim *Bile Salt Hydrolase*

1.2. Identifikasi Masalah

1. Apakah Bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* dapat tahan dalam saluran pencernaan ?
2. Apakah bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* memiliki aktivitas enzim *Bile Salt Hydrolase*?

1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah melakukan kajian mengenai ketahanan bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* dalam saluran cerna serta kajian terhadap aktivitas enzim *Bile Salt Hydrolase*

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya tahan bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* dalam saluran cerna dan aktivitas enzim *Bile Salt Hydrolase*

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian tersebut adalah :

1. Memberikan informasi mengenai daya tahan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* dalam saluran cerna.
2. Memberikan pengetahuan tentang aktivitas enzim *Bile Salt Hydrolase*
3. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi pengetahuan baru tentang ketahanan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* dalam saluran cerna serta mengetahui aktivitas enzim *Bile Salt Hydrolase* dan dapat menjadi pemacu motivasi untuk penelitian berikutnya.

1.5. Kerangka Pemikiran

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang bila dikonsumsi memberikan efek menguntungkan dengan memperbaiki sifat mikroflora indigenous (Fuller, 1999). Produk probiotik adalah makanan yang mengandung bakteri asam laktat dalam keadaan hidup dan memiliki pengaruh menguntungkan bagi kesehatan melalui peningkatan keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan (Fuller 1992). *Lactobacillus* merupakan bakteri asam laktat yang mempunyai potensi sebagai probiotik.

Pemberian *Lactobacillus* untuk menurunkan kadar kolesterol dapat melalui beberapa mekanisme. Menurut (Lee et al, 2009), terdapat beberapa mekanisme

penurunan kolesterol oleh aktivitas BAL. Mekanisme pertama yaitu produk hasil fermentasi oleh BAL menghambat sintesis kolesterol sehingga menurunkan produksi kolesterol. Mekanisme kedua adalah melalui pembuangan garam empedu melalui feses, di mana garam empedu yang terdekonjugasi tidak diserap oleh usus dan lebih mudah terbuang dari saluran pencernaan dibandingkan dengan garam empedu yang terkonjugasi. Hal ini mengakibatkan semakin banyak kolesterol yang dibutuhkan untuk mensintesis garam empedu lagi sehingga akan menurunkan kadar kolesterol. Mekanisme ketiga adalah kemampuan BAL untuk mengikat kolesterol sehingga mencegah penyerapan kolesterol kembali ke hati (Lee, et al, 2009). Beberapa jenis BAL memiliki dinding sel yang mampu mengikat kolesterol dalam usus halus sebelum kolesterol diserap oleh tubuh (Surono, 2004).

Kemampuan BAL dalam memetabolisme kolesterol selain dipengaruhi oleh strainnya juga dipengaruhi oleh populasinya. Hal ini berdasarkan pada fakta bahwa bakteri akan mampu menjalankan fungsinya apabila sudah memenuhi jumlah populasi minimal (*quorum*). Oleh karena itu *L.plantarum* dan *L.acidophilus* harus mampu memenuhi syarat bakteri asam laktat sebagai probiotik

Berdasarkan penelitian Khanifah (2012) kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* yang ditandai dengan meningkatnya nilai densitas (kekeruhan) dalam medium MRS broth sejalan dengan meningkatnya lama waktu inkubasi pada suhu 37°C. Yuliana (2007) menyatakan bahwa untuk bakteri asam laktat fase logaritmik biasanya dicapai pada inkubasi 18 – 24 jam tergantung media dan jenis BAL.

Widyastuti et al., (1992), menambahkan pertumbuhan yang optimum dari beberapa bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, dan *L. lactis*) dicapai pada waktu inkubasi jam ke-18.

Ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap lisozim, cara kerja enzim lisozim ialah melisis dinding sel bakteri seperti menghidrolisis jenis asam N-asetilglukosamin dan N-acetylmuramic pada peptidoglikan, sehingga dengan hilangnya dinding sel, bakteri akan mati (Paulsen dkk., 2003)

Ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap pH asam, uji ketahanan asam dalam penelitian Khanifah (2012) dilakukan terhadap pH 2, 3 dan 4. Hasil ketahanan *Lactobacillus plantarum* menunjukkan bahwa jumlah bakteri asam laktat yang hidup, yaitu dengan rata-rata pada pH 2 sebesar $4,3 \cdot 10^7$ CFU/ml, pH 3 sebesar $3,8 \cdot 10^9$ CFU/ml dan pada pH 4 sebesar $2,7 \cdot 10^{10}$ CFU/ml. Jumlah inokulum awal yang ditambahkan pada jam ke nol adalah 10^9 CFU/ml, menurut Raccach et al., (1979) dalam Rostini (2007), starter bakteri asam laktat yang digunakan untuk uji probiotik sebanyak 10^8 sampai 10^9 CFU/ml. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada pH 2 jumlah sel bakteri *Lactobacillus plantarum* yang hidup mengalami penurunan 2 log (penurunan sebesar 10^{-2}), pada pH 3 tidak mengalami penurunan dari jumlah sel bakteri yang hidup dan pada pH 4 jumlah sel bakteri *Lactobacillus plantarum* yang hidup mengalami kenaikan sebesar 1 log (10^1) (Khanifah 2012)

Ketahanan *Lactobacillus plantarum* terhadap garam empedu, usus halus dan kolon mengandung asam empedu yang relative tinggi dan dapat menghambat

pertumbuhan atau bahkan membunuh sebagian besar bakteri. Bakteri asam laktat yang akan diuji potensi probiotik harus mampu tumbuh pada 0,3%-0,5% agar oxgall (Wahyudi dan Samsundari, 2008). Berdasarkan hasil penelitian Khanifah (2012) dengan rata-rata jumlah bakteri yang tumbuh sebesar $1,2 \cdot 10^9$ CFU/ml dan mengalami kenaikan 1 log (10^1) karena jumlah inokulum awal yang ditambahkan pada jam ke nol adalah $1 \cdot 10^8$ CFU/ml. Jumlah *Lactobacillus plantarum* yang hidup pada garam empedu 0,3% (b/v) setelah inkubasi 24 jam hampir sama dengan jumlah sel bakteri yang hidup pada MRS broth sebagai kontrol yaitu $1,4 \cdot 10^9$ CFU/ml.

Aktivitas enzim *bile salt hidrolase* telah terdeteksi di *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Clostridium*, dan *Bacteroides* spp. Sampai saat ini, aktivitas enzim *bile salt hidrolase* belum terdeteksi pada bakteri yang diisolasi dari lingkungan dimana garam empedu tidak ada (misalnya, *Lactococcus lactis* atau *Streptococcus thermophilus*). Sekuensing seluruh genom *L. acidophilus* mengungkapkan bahwa strain ini memiliki dua gen *bile salt hidrolase* (bshA dan bshB). Urutan enzim BSH yang dikodekan oleh lokus ini memiliki tingkat kesamaan yang lebih tinggi dengan enzim *bile salt hidrolase* dari spesies *Lactobacillus* lainnya. Dan hampir 67% hasil identitas ini mirip dengan *L. plantarum* (Khanifah, 2012)

Karakteristik enzim BSH yang telah dimurnikan dari berbagai mikroorganisme dan secara umum ditemukan terletak intraseluler namun bekerja secara ekstraseluler, tidak sensitif terhadap oksigen, dan memiliki pH optimal yang sedikit asam (biasanya antara pH 5 dan 6)

Sisi Aktif enzim BSH milik famili enzim hidrolase choloylglycine yang juga mengandung penicillin amidases. Enzim yang menghidrolisis penisilin untuk menghasilkan asam 6-aminopenicillinic (6-APA). Kelompok thiol (SH) dari Cys-1 telah terbukti sangat penting untuk katalisis BSH. Penggantian Bifidobacterium bifidum BSH Cys-1 dengan asam amino nukleofilik serin atau treonin yang memiliki gugus hidroksil dan bukan gugus tiol menghapus aktivitas BSH (50), dapat disimpulkan bahwa sisi aktif enzim BSH ini menggunakan teori lock and key. Dimana substrat harus memiliki bentuk yang sama seperti sisi aktif dari enzim BSH sehingga dapat menghasilkan produk.

Spesifikasi enzim BSH pada substrat, memungkinkan bahwa BSH mengenali asam empedu pada inti steroid cholate dan kelompok asam amino (glisin / taurin).

1.6. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran diatas dapat ditarik hipotesis :

1. Bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* mampu bertahan dalam saluran pencernaan.
2. Bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* memiliki aktivitas enzim *Bile Salt Hydrolase*.

1.7. Waktu dan Tempat Penelitian

Tempat yang akan digunakan untuk penelitian ketahanan bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* dalam saluran cerna serta aktivitas enzim *bile salt hydrolase* akan dilakukan di Laboratorium

Penelitian Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan Bandung.

Waktu penelitian dibulan September 2018 - Januari 2019



DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, dan Ana Rahmawati. 2010. *Asimilasi Kolesterol dan Dekonjugasi Garam Empedu oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Limbah Kotoran Ayam Secara In Vitro*. Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY.
- Amudi, F. 2007. *Kembali Tentang Probiotik*. Jakarta: Halalguide.
- Budiyanto, Moch. Agus Krisno. 2004. *Mikrobiologi Terapan*. Malang: UMM Press.
- Bezkorovainy, A. 2006. *Probiotics: Determinants of Survival and Growth in The Gut*. American J. Of Clin. Nut. 72(2): 399 - 405.
- Brizuela, Maria. A. Paulina. S and Yovanka. P. 2001. *Studies on Probiotics Properties of Two. Lactobacillus Strains*. Brazillian Archivers of Biology and Technology. Vol.44: 95-99.
- Brooks, Geo F., Janet S. Butel dan L. Nicholas Ornston. 1996. Jawetz, Melnick & Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran* Edisi 20. Alih bahasa Eddy Nugroho dan RF. Maulany. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Chichlowski, M., J. Croom, B.W. McBride, G.B. Havenstein dan M.D. Koci. 2007. *Metabolic and Physiological Impact of Probiotics or Direct Fed Microbials on Poultry: A Brief Review of Current Knowledge*. International Journal of Poultry Science. 6 (10): 194-704
- Djide, Natsir dan Sartini. 2008. *Isolasi, Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Kol (Brassica oleracea L.) dan Potensinya sebagai Antagonis Vibrio harveyi*. Torani. Vol. 18. No. 3: 211-216. ISSN: 0853-4489.
- Djide, M. N., dan Wahyudin E. 2008. *Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu, dan Potensinya dalam Menurunkan Kadar Kolesterol secara In Vitro*. Majalah Farmasi dan Farmakologi
- Du Toit, M., Franz, C.M.A.P., L.M.T., Schillinger, U., Haberer, P., Warlies, B., Ahrens F., and Holzapfel, W.H. 1999. *Characteristic and Selection of Probiotic for a Preliminary minipig Feeding Trial and Their Effect on Serum Colesteroll Level, Faeces pH and Faeces Moisture Content*. International Journal of Food Microbiology, 40, 83 – 104.
- Fardiaz, Srikandi. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB. Bekerjasama dengan Lembaga Sumberdaya Informasi IPB.

- Fuller R. 1999. Application and Practical Aspects. *Probiotik 2*. Chapman & Hall
- Fuller, R. 1989. A Review *Probiotic in Man and Animals*. Journal of Applied Bacteriology.
- Ganong, W. F. 1983. *Fisiologi Kedokteran* Edisi 10. Terjemahan Adji Dharma. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Gilliland SE, TE Staley and LJ Bush. 1984. *Importance of Bile Tolerance of Lactobacillus acidophilus* Used as A Dietary Adjunct. J. Dairy Science 67: 3045-3051.
- Hadioetomo, Ratna Sri. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktik: Teknik Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Hardiningsih, Riani, Rostiati Nonta Refina Napitupulu, dan Titin Yulinery. 2006. *Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat Lactobacillus pada pH Rendah*. Bogor: Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Jurnal Biodiversitas. Vol. 7 No.1: 15-17. ISSN: 1412-033X.
- Havenaar R, B.T Brink and J.H.J Huis in't Veld. 1993. *Selection of Strain for Probiotics Use*. Didalam Fuller R, editor. *Probiotic: The Scientific Basic*. Chapman & Hill. London.
- Holt, G. H., Krieg, R. K., Sneath, A.S., Staley, J.T., and William, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determination Bacteriology* Ninth Edition. William and Wilkin, London.
- Husoda M. Hashimoto H, He F, Morita H, and Hosono A. 1996. *Effect of Administration of Milk Fermented with Lactobacillus acidophilus LA-2 on Fecal Mutagenicity and Microflora in The Human Intestine*. J. Dairy Science 79: 754-759.
- Khanifah. 2012 *uji probiotik Lactobacillus plantarum yang diisolasi dari usus halus itik mojosari secara in vitro* Malang: Skripsi Jurusan Biologi Fakultas sains Universitas islam negeri Maulana Malik Ibrahim
- Kusumawati, Netty. Betty Sri Laksmi Jenie, Siswa Setyahadi, Ratih Dewanti dan Hariyadi. 2003. *Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigeous sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Menurunkan Kolesterol*. Jurnal Mikrobiologi Indonesia. Vol. 8. No. 2.
- Kusumawati, Idha dan Noor Cholies Zaini. 2005. *Pengaruh Senyawa Prebiotik dari Bawang Merah (Allium cepa) Terhadap Pertumbuhan Bakteri*

Probiotik. Majalah Farmasi Airlangga. Vol. 5. No. 1. Hal: 20-25.

Kuswanto, K. R dan Sudarmadji, Slamet. 1989. Proses *Mikrobiologi Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Yogyakarta: UGM Press.

Malaka, Ratmawati dan Amran Laga. 2005. *Isolasi dan Identifikasi Lactobacillus bulgaricus Strain Ropy dari Yoghurt Komersial*. Sains dan Teknologi. Vol. 5 No. 1: 50 – 58. ISSN 1411-4674.

Mariam Zago, Mariam Fornasari, Domenico carminati 2011. *Characterization and probiotic of Lactobacillus plantarum strains isolated from cheeses*.

Matthews KR, Roberson J, Gillespie BE, Luther DA, and Oliver SP. 1997. *Identification and Differentiation of Coagulase-Negative Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction. Journal of Food Protection. Vol. 6. No. 60. hal: 686 – 688

M.G. Shehata, S.A El Sohaimy, Malak A. El-Sahn, M.M Youssef. 2016 *Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity*.

Misgiyarta dan Sri Widowati. 2002. *Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus*. Seminar Tugas Akhir. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Bogor. Vol.18. No.375.

Muhibbah, Rohmatin. 2011. *Potensi Lactobacillus plantarum Sebagai Probiotik Secara In Vitro (Kajian Ketahanan Terhadap Asam, Garam Empedu, dan Penghambatan Terhadap Bakteri Patogen)*. Malang: Skripsi Tidak Diterbitkan. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim

Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.

Pelczar, Micheal J. dan E.C.S Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi* Jilid 1. Jakarta: UI Press.

Rostini, Iis. 2007. *Peranan Bakteri Asam Laktat (Lactobacillus plantarum) Terhadap Masa Simpan Filet Nila Merah pada Suhu Rendah*. Bandung: Makalah Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran.

Salminen, Seppo and Atte von Wright. 1993. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker. Inc. New York.

- Shah, S.P. 2001. *Functional Food from Probiotics and Prebiotic*. Food Technology. Vol. 55. No. 11.
- Sharpe, M.E. 1980. *Identifications of the Lactic Acid Bacteria*. National Institute for Research in Dairying, Shinfields Reading. UK.
- Schillinger U, and Lucke F. 1989. *Antibacterial activity of Lactobacillus sake isolated from meat*. Appl Environ Microbiol. 55: 1901 – 1906.
- Simadibrata, Marcellus. 2011. *Probiotik Peranannya Dalam Dunia Medis*. Jakarta: Divisi Gastroenterologi Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia RS. Cipto Mangunkusumo Indonesia.
- Sneath, P.H.A, Malt, N.S., Sharpe, M.E., and Holt, J.G. 1990. *Bergey's Manual of System Bacteriology*. Vol. 2. USA: Williams and Wilkins.
- Suardana, I Wayan, I Nyoman Suarsana, I Nengah Sujaya, dan Komang Gede Wiryawan. 2007. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Cairan*
- Sugeng, Raharjo. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (Genus Lactobacillus) pada Usus Halus (Anas plathyrinchos)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malulana Malik Ibrahim.
- Sujana, Nengah, Yan Ramona, Ni Putu Widarini, Ni Putu Suariani, Ni Made Utama Dwipayanti, Komang Ayu Nocianitri, dan Ni Wayan Nursini. 2008. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa*. Jurnal Veteriner. Vol. 9. No. 2: 52 – 59. ISSN: 1411 – 8327.
- Supardi, Iman dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Alumni.
- Suriawiria, Unus. 1995. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Angkasa.
- Survana, V. C dan V. U. Boby. 2005. *Probiotic in Human Health: A Current Assesment*. Current Science. Vol. 88. Hal. 1744 - 1748. Triana dan Nurhidayat. 2007. *Seleksi dan Identifikasi Lactobacillus*. Jurnal Biota
- Tim Mikrobiologi FK UB. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Tjokronegoro, Arjatmo, Darmono, Djokomoeljanto, J. Sudir Purba, M. Puruhito, Sudradji Soernapraja, Sidartawan Soegondo, dan Wiguna Prodjosudjadi.

2007. *Mikroflora Saluran Cerna pada Kesehatan Anak*. Jakarta: Dexa Media. Jurnal Kedokteran dan Farmasi. Vol. 20. No. 1. ISSN 0215-7551.

Triana dan Nurhidayat. 2007. *Seleksi dan Identifikasi Lactobacillus*.

Volk, Wesley A. dan Margaret F. Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Erlangga.

Widyastuti, Y., S. Ratnakomala, E. Sofarianawati, Yusnira, N. Y. A. Sari, J. Rahmat, Kurniawan, Amiruddin, M. Atu, M. Yahya, Suparman, Udin, dan Diman. 1992. *Pengembangan Teknologi Produksi Probiotik*. Bogor: Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).

Winarti, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Graha Ilmu.

Yu B and HB. Tsen. 1993. *Lactobacillus Cells in The Rabbit Digestive Tract and The Factors Affecting Their Distribution*. J. Appl. Bacteriol. 75: 269-275.

Zavaglia AG, Kociubinski G, Perez P, Antoni GD. 1998. *Isolation and Characterization of Bifidobacterium Strains of Probiotik formulation*. J. Food Protect. 61(7) 865-873.

