

**PENGARUH PENAMBAHAN OXGALL DALAM MEMBANTU ASIMILASI KOLESTEROL
OLEH BAKTERI ASAM LAKTAT DARI SALURAN PENCERNAAN IKAN TAWES
(*Punctius javanicus*)**

**THE EFFECT OF OXGALL SUPPLEMENTATION IN ORDER TO ASSIST
CHOLESTEROL ASSIMILATION BY LACTIC ACID BACTERIA FROM THE *Punctius
javanicus* DIGESTION TRACT**

Astuti*), Zaenal Bachrudin), Supadmo**), Eni Harmayani***)**

*)F MIPA UNY, **) Fak Peternakan UGM,

***) Fak. Teknologi Pertanian UGM

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan *oxgall* pada medium yang mengandung isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan tawes (*Punctius javanicus*) dalam membantu asimilasi kolesterol yang terasimilasi. BAL tersebut mendapatkan perlakuan konsentrasi *oxgall* yaitu 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%. Masing-masing konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk diamati perubahan *optical density* (OD). Pengamatan pH, dan asimilasi kolesterol dilakukan pada jam ke-24. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi Rancangan Acak Pola Searah kemudian dilanjutkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk rerata variable yang menunjukkan perbedaan nyata. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan densitas secara nyata sejalan dengan meningkatnya konsentrasi *oxgall*. Nilai pH untuk konsentrasi 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% dan 0,5% berturut-turut sebesar 4.30, 4.58, 4.75, 4.87 dan 4.88. Kadar asimilasi kolesterol pada masing-masing konsentrasi sebesar berturut-turut sebesar 0,110%, 0.047%, 0.061%, 0.079%, 0.065% and 0.088%. Penambahan *oxgall* pada medium memberikan pengaruh yang nyata terhadap pola pertumbuhan, pH, dan asimilasi kolesterol, tetapi peningkatan *oxgall* tidak mempengaruhi kadar kolesterol yang terasimilasi. Bakteri Asam Laktat dari saluran pencernaan ikan tawes (*Punctius javanicus*) masih mampu bertahan dan tumbuh serta mampu mengasimilasi kolesterol sampai konsentrasi 0,5%.

(Kata kunci : Bakteri asam laktat, ikan tawes, asimilasi kolesterol, *Oxgall*, Pola pertumbuhan, pH)

ABSTRACT

This experiment study was carried out to determine the effect of *oxgall* supplementation on Lactic Acid Bacteria (LAB) from the *Punctius javanicus* digestion tract in order to help cholesterol assimilation. Selected cultures of LAB from the fish digestion tract were grown at 37°C for 24 h and than assign six treatment of *oxgall* level, they were : 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%. Each treatment group was replicated three times as sub group. Growth of bacteria observed during 24 h. Value of pH, and cholesterol assimilation were observed at 24 h. The data were subjected to statistical analysis using Completely Randomizes Design (CRD) one way annova, differences between means were determined by *Duncan's Multiple Range Test*. The result of this study showed that *oxgall* supplementation on LAB had significant influence ($p < 0.05$) on growth pattern, pH, and cholesterol assimilation. But the increasing *oxgall* concentration had no influence on cholesterol level. There were increased of density compliance with the level of *oxgall*. Value of pH for each concentration of 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% dan 0,5% were 4.30, 4.58, 4.75, 4.87, 4.88 and 4.68 respectively. Level of cholesterol were 0,110%, 0.047%, 0.061%, 0.079%, 0.065% and 0.088% respectively. The *oxgall* addition of the medium gave the real influences through the the growth pattern, PH and cholesterol assimilation, but the increasing of *oxgall* did not influence the cholesterol contain which is assimilated. The conclusion of this study is supplementation of *oxgall* in media contains cultures of LA3 from *Punctius javanicus* digestion tract, able to assist cholesterol assimilation, but the increasing of level *oxgall* had no influence on it. Lactic acid bacteria from *Punctius javanicus* digestion tract able to survive, grown and held cholesterol assimilation until 0.5% *oxgall* concentration.

(Keywords : Lactic Acid Bacteria (LAB), *Punctius javanicus*, cholesterol assimilation, *oxgall*, growth, pH).

Dipresentasikan dalam SEMINAR NASIONAL MIPA 2006 dengan tema " **Penelitian, Pendidikan, dan Penerapan MIPA serta Peranannya dalam Peningkatan Keprofesionalan Pendidik dan Tenaga Kependidikan**" yang diselenggarakan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNY, Yogyakarta pada tanggal 1 Agustus 2006

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Semakin meningkatnya jumlah penduduk dan kemakmuran terutama di negara-negara maju maupun negara berkembang akan mendorong pula perubahan makan dari sebagian orang. Dengan demikian konsumsi bahan makanan yang berasal dari hewan seperti daging, susu, telur dan hasil laut yang pada dasarnya merupakan makanan yang kaya akan lemak akan meningkat.

Seperti kita ketahui bersama, bahwa kolesterol terkandung pada bahan makanan yang berlemak tinggi, sehingga konsumsi lemak yang berlebihan akan menyebabkan timbulnya *hypercholesterolemia* yang berarti kadar kolesterol dalam darah melebihi jumlah standar kesehatan.

Kolesterol yang bereaksi dengan zat-zat lain dan mengendap di dalam pembuluh darah arteri dapat menyebabkan penyempitan dan pengerasan pembuluh darah yang dikenal sebagai aterosklerosis dan jika sampai mengganggu suplai darah ke otot-otot jantung akan menimbulkan keluhan atau gejala-gejala penyakit jantung (Anonim, 2005).

Di Indonesia sendiri, produk-produk makanan kesehatan sudah mulai dikenal pada awal tahun 1990. Berkembangnya makanan kesehatan salah satu akibat dari adanya kecenderungan meningkatnya penyakit-penyakit seperti tekanan darah tinggi, stroke, kanker, diabetes dan kardiovaskuler. Kecenderungan yang lain adalah adanya pergeseran gaya hidup yang menuntut kesadaran akan makanan yang tidak hanya lezat (memuaskan selera) dan bergizi, tetapi juga harus menyehatkan tubuh.

Salah satu pendekatan lain yang potensial untuk menurunkan kolesterol adalah melalui penggunaan bakteri asam laktat sebagai probiotik. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, diketahui bahwa mengkonsumsi produk-produk fermentasi yang mengandung bakteri asam laktat dapat menurunkan kadar kolesterol baik pada binatang maupun manusia (Akalin *et al.*, 1997).

Pengaruh bakteri probiotik terhadap penurunan kadar kolesterol diduga karena kemampuannya dalam mengasimilasi kolesterol dan mendeconjugasi garam empedu (Gilliland *et al.*, 1985).

Suyunandana *et al.* (1998) berhasil mengisolasi bakteri asam laktat dari isi saluran pencernaan (*intestine*) ikan dan penambahan mikrobia tersebut dalam pakan menimbulkan kenaikan berat badan dan ketahanan terhadap penyakit ikan lebih besar.

Ikan tawes (*Puntius javanicus*) merupakan salah satu ikan air tawar yang mudah dibudidayakan, murah harganya dan mudah diperoleh. Dengan diperolehnya strain bakteri asam laktat dari pencernaan ikan tawes (*Puntius javanicus*), yang potensial dan memiliki karakteristik sebagai probiotik diharapkan dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan *oxygall* pada medium yang mengandung isolat BAL dari saluran pencernaan ikan tawes (*Puntius javanicus*) dalam membantu asimilasi kolesterol dan untuk mengetahui kadar kolesterol yang terasimilasi.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat diperoleh strain bakteri asam laktat terpilih yang mampu berperan sebagai probiotik dan berpotensi menurunkan kolesterol.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Juni 2005 di Laboratorium Biokomia Nutrisi Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan UGM dan Laboratorium Hayati Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Materi

Sumber Mikrobia

Isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan tawes (*Puntius javanicus*).

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah MRS broth (merk Pronadisa) yang komposisi kimianya dapat dilihat pada Lampiran 1, aquades, alkohol 70%, *oxgall* (merk Difco), sodium thyoglicholat, kolesterol, isopropanol, NaOH 1N dan HCl 1N untuk penepatan pH, spritus, gas CO₂.

Alat

Peralatan yang digunakan antara lain tabung Hungate, baker glass, pH meter (merk Hana), timbangan analitik, *magnetic stirrer*, *fortex*, *autoclave*, *sentrifuge*, *waterbath*, *freezer*, pipet mikro, oven, tabung sentrifuge, tabung reaksi, kompor listrik, laminar, lampu spritus, penjepit, silica disk dan spektrofotometer (merk Spectronic 21).

Metode

Bahan kering mikrobial

Pembuatan larutan standar BK mikrobial VS absorbansi.

Pembuatan larutan induk dari 25 ml isolat BAL yang diencerkan dengan 75 ml aquades steril dalam erlenmeyer (0,055%). Kemudian dibuat pengenceran, yaitu 4 kali, 4,8 kali, 8 kali, 12 kali. Masing-masing pengenceran dilakukan dua kali ulangan dan diukur densitas (OD) dengan menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm. Selanjutnya dilakukan uji bahan kering mikrobial untuk larutan induk dan dibuat kurva standar BK mikrobial terhadap nilai absorbansi (Lampiran 2).

Pengujian BK hasil fermentasi pada jam ke-24.

Pengujian BK mikrobial dengan menimbang sampel sebanyak 10 ml, lalu dioven 105°C selama 8 jam, kemudian ditimbang kembali sampai beratnya konstan. Metode pengujian BK secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 3.

Pengujian kemampuan mengasimilasi kolesterol

Kemampuan mengasimilasi kolesterol dilakukan menurut Buck and Gilliland (1994). Masing-masing kultur bakteri asam laktat ditumbuhkan di media MRS cair selama 24 jam 37°C. Selanjutnya sebanyak 1% kultur diinokulasikan ke dalam 10 ml

medium MRS yang disuplementasi dengan 0,2% sodium thioglycolat, 0,1% kolesterol. Sebagai kontrol media tidak diinokulasi. Kultur yang digunakan adalah BAL unggul terseleksi. Masing-masing kultur dan kontrol mendapatkan perlakuan konsentrasi *oxgall* yaitu 0%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% dan 0,5%. Masing-masing perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan, kemudian diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam Setelah inkubasi diputar dengan sentrifuge 12000 g selama 10 menit untuk mendapatkan supernatan. Selanjutnya dilakukan analisis jumlah kolesterol pada supernatan masing-masing kultur dan kontrol dengan metode Libermann-Burchard (Lampiran 4). Persamaan penentuan kadar kolesterol dapat dilihat pada Lampiran 5. Perbedaan jumlah kolesterol antara kontrol dengan supernatan masing-masing kultur merupakan kolesterol sisa setelah terjadi asimilasi oleh kultur.

Variabel yang Diamati

Pola Pertumbuhan.

Pola pertumbuhan bakteri asam laktat dalam medium yang mengandung *oxgall* dengan mengamati perubahan *optical density (OD)* menggunakan spektrofotometer pada $\lambda = 620$ nm pada tiap jam pengamatan (Wang *et al.*,1979).

Pengukuran pH.

Penurunan pH bakteri asam laktat pada medium yang mengandung *oxgall* pada awal dan akhir pengamatan diukur dengan menggunakan pH meter.

BK mikrobial.

Bahan kering mikrobial pada jam ke-24 pada masing-masing endapan yang mempunyai konsentrasi *oxgall* berbeda (AOAC, 1975).

Kadar kolesterol.

Kadar kolesterol pada masing-masing supernatan kultur dan kontrol yang mempunyai konsentrasi *oxgall* 0%; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% dan 0,5%. Penentuan kadar kolesterol dilakukan dengan metode Libermann-Burchard. Perbedaan jumlah kolesterol antara kontrol dengan supernatan masing-masing kultur merupakan kolesterol sisa setelah terjadi asimilasi.

Analisis data

Data yang diambil dalam penelitian ini meliputi pertumbuhan BAL pada medium yang mengandung *oxgall*, pengukuran pH, bahan kering mikrobia dan asimilasi kolesterol. Hasil yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola Faktorial untuk pertumbuhan, pola Searah untuk pengukuran pH, bahan kering mikrobia dan asimilasi kolesterol. Apabila menunjukkan perbedaan dilanjutkan dengan uji beda *mean Duncan's New Multiple Range Test* (DMRT) (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pola Pertumbuhan

Pengujian ketahanan dalam garam empedu merupakan faktor penting yang harus dilakukan dalam seleksi strain probiotik karena bakteri harus mampu bertahan hidup atau tumbuh dalam saluran pencernaan yang mengandung konsentrasi asam empedu yang cukup tinggi khususnya pada saluran usus bagian atas atau *jejenum* (Gilliland *et al.*, 1984).

Pola pertumbuhan BAL dapat diketahui dengan melakukan pengamatan terhadap perubahan densitas medium cair yang mengandung *oxgall* dan diinokulasi dengan BAL pada tiap jam pengamatan. Menurut Gupte (1990) pertumbuhan mikrobia pada medium cair akan mengakibatkan densitas meningkat dan timbulnya endapan pada dasar tabung.

Nilai rerata densitas medium pertumbuhan BAL dengan konsentrasi *oxgall* yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1, .

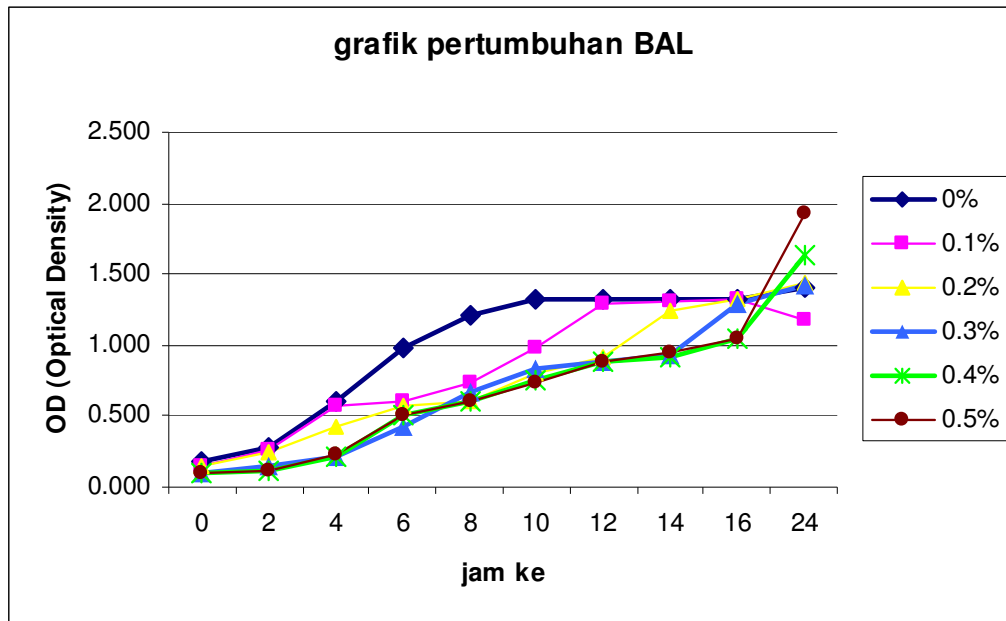
Tabel 1. Rerata densitas medium pertumbuhan BAL pada konsentrasi *oxgall* yang berbeda.

Jam inkubasi ke-	Konsentrasi <i>Oxgall</i>					
	0%	0,1%	0,2%	0,3%	0,4%	0,5%
0	0.174	0.140	0.148	0.104	0.102	0.095
2	0.272	0.268	0.243	0.142	0.122	0.118
4	0.605	0.564	0.429	0.217	0.220	0.231
6	0.975	0.602	0.564	0.423	0.506	0.506
8	1.214	0.742	0.604	0.674	0.600	0.599
10	1.316	0.980	0.799	0.835	0.748	0.734
12	1.325	1.298	0.913	0.876	0.876	0.876
14	1.328	1.304	1.239	0.938	0.916	0.944
16	1.328	1.328	1.321	1.299	1.048	1.050
24	1.400^a	1.390^a	1.443^a	1.419^a	1.638^b	1.930^c

^{abc} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada densitas medium pertumbuhan BAL yang mengandung konsentrasi *oxgall* 0% dengan konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% dan 0,5%. Hal ini berarti penambahan *oxgall* menyebabkan penurunan secara nyata densitas pada pertumbuhan BAL. Perbedaan yang tidak nyata ditunjukkan pada densitas medium pertumbuhan BAL yang mengandung konsentrasi *oxgall* 0,1% dengan 0,2%, dan juga antara 0,3% dengan 0,4% dan 0,5%. Densitas tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi *oxgall* 0% sebesar 0,994 dan densitas terendah pada konsentrasi *oxgall* 0,4% sebesar 0,678.

Pertumbuhan BAL di dalam medium yang mengandung *oxgall* ditunjukkan pada Grafik 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin meningkatnya densitas sejalan dengan semakin bertambahnya lama waktu inkubasi. Semakin tinggi konsentrasi *oxgall* kemampuan BAL untuk adaptasi pada konsentrasi 0,4% dan 0,5% lebih lama dibanding konsentrasi yang lain, yang dapat diamati dari fase lag yang lebih panjang.



Grafik 1. Grafik pertumbuhan BAL dalam medium yang mengandung *oxgall*

Menurut Hardjo *et al.* (1998) pola pertumbuhan mikrobia terdiri dari tiga fase yaitu fase lambat (*lag phase*) yang sering disebut fase adaptasi karena mikrobia sedang beradaptasi dengan lingkungan dalam hal ini adalah medium tempat bakteri asam laktat tumbuh. Fase yang kedua adalah fase eksponensial (*exponential phase*) ditandai pertumbuhan yang sangat cepat dari sel dan produk fermentasi. Fase ketiga adalah fase stasioner (*stationer phase*) ditandai dengan pertumbuhan sel yang tetap, atau sebagai titik mulai turunnya pertumbuhan disertai dengan produk primernya.

Berdasarkan uraian diatas dapat diketahui bahwa fase lag berlangsung sampai jam ke-2 sedang fase eksponensial dimulai pada jam ke-2 sampai jam ke-12 yang kemudian diikuti oleh fase stasioner. Pada mulai jam ke-16 sampai jam ke-24 masih terjadi kenaikan densitas, hal ini dikarenakan BAL masih mampu bertahan dan tumbuh.

Semakin tinggi konsentrasi *oxgall*, rerata densitas medium akan semakin menurun. Hal ini disebabkan karena keberadaan *oxgall* dapat menghambat pertumbuhan BAL. Menurut Dune (2001) bahwa asam empedu menunjukkan

aktivitas antibakteri yang menghambat pertumbuhan strain *Eschericia coli*, *Klebsiella sp*, dan *Enterococcus sp* secara in vitro. Hal ini serupa dengan Brand *et al.* (1976) dalam Oh *et al.* (2000) bahwa asam empedu menunjukkan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikrobial dan aktivitas penghambatan ini lebih besar dibanding dengan asam-asam organik lainnya.

Pada konsentrasi 0,5% masih terjadi kenaikan densitas hal ini menunjukkan bahwa BAL masih mampu bertahan dan tumbuh dalam medium yang mengandung *oxgall* sampai pada konsentrasi 0,5%.

Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan pada jam ke-24 untuk mengetahui produk asam yang dihasilkan BAL.

Nilai rerata pH pada medium yang mengandung konsentrasi *oxgall* dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Nilai rerata pH medium pada tiap konsentrasi *oxgall*

Ulangan	Konsentrasi <i>Oxgall</i>					
	0%	0,1%	0,2%	0,3%	0,4%	0,5%
1	4,30	4,60	4,75	4,90	4,90	4,65
2	4,35	4,65	4,8	4,90	4,80	4,70
3	4,25	4,50	4,70	4,80	4,95	4,70
Rerata	4,30	4,58	4,75	4,87	4,88	4,68

Tabel 3. Hasil Analisis Varian untuk rata-rata pH Medium

Sumber Variasi	Pb	Jk	Kt	F hitung	F Tabel
Perlakuan	5	0,704	0,141	40,58**	5,06
Galat	12	0,041	0,003		
Total	17	0,746			

Keterangan :

** Diantara perlakuan-perlakuan terdapat perbedaan yang berbeda sangat nyata terhadap rata-rata pH medium ($P \leq 0,01$)

Tabel 3 diatas menunjukkan bahwa penambahan oxgall berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap rata-rata pH medium. Selanjutnya diadakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasilnya tersaji pada tabel 4 sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil Uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dari pengaruh penambahan oxgall terhadap rata-rata pH medium

Perlakuan	Rata-rata pH Medium	Hasil Uji DMRT
PI	4,30	d
PII	4,58	c
PIII	4,75	b
PIV	4,86	a
PV	4,88	a
PVI	4,68	a

Berdasarkan uji DMRT diketahui bahwa perlakuan PI berbeda sangat nyata dengan P II, P III, P IV, P V dan P IV

Pada tabel 2 diatas menunjukkan bahwa sampai pada jam ke-24 terjadi penurunan pH medium dari pH awal 6,50. Penurunan pH tersebut diakibatkan oleh terakumulasinya produk-produk fermentasi yaitu asam laktat dan asam organik yang lain seperti asam asetat dan asam propionat. Asam organik tersebut merupakan hasil akhir hidrolisis glukosa oleh BAL (Mc Donald, 1991).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada pH medium yang mengandung konsentrasi *oxgall* antara 0% dengan 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% dan 0,5%. Perbedaan yang tidak nyata ditunjukkan pada pH medium yang mengandung konsentrasi *oxgall* antara 0,3% dengan 0,4% dan 0,5% dengan 0,1% dan 0, 2%.

Pada tabel 2 diatas terlihat bahwa penurunan pH cenderung semakin kecil sejalan dengan meningkatnya konsentrasi *oxgall*. Hal ini disebabkan karena adanya

efek penghambatan *oxgall* terhadap pertumbuhan BAL berakibat pada turunnya kemampuan BAL dalam menghasilkan produk akhir berupa asam-asam organik terutama asam laktat. Keberadaan asam-asam organik tersebut sangat berpengaruh pada turunnya pH medium. Dengan semakin meningkatnya konsentrasi *oxgall* dalam medium pertumbuhan menyebabkan efek penghambatan terhadap pertumbuhan BAL semakin meningkat. Penurunan pH terbesar pada konsentrasi 0% sebesar 4,30 dan penurunan terkecil pada konsentrasi 0,4% sebesar 4,68.

Meskipun terjadi aktivitas penghambatan pertumbuhan oleh *oxgall*, BAL masih mampu bertahan dan tumbuh dalam medium yang mengandung *oxgall* sampai pada konsentrasi 0,5 %, hal tersebut dapat dilihat dengan semakin bertambahnya densitas (Grafik 1) dan semakin turunnya pH (Tabel 2), meskipun menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kontrol (tanpa *oxgall*) . Pada jam ke-24 rata-rata pH medium dapat mencapai pH kritis yaitu sekitar 4, pada pH kritis tersebut mikrobia patogen sudah tidak mampu bertahan (Gilliland, 1990).

Bahan Kering Mikrobia

Bahan kering mikrobia yang diperoleh menunjukkan kadar mikrobia yang ada pada medium saat asimilasi kolesterol yang terakhir yaitu pada jam ke-24.

Bahan kering mikrobia pada jam ke-24 pada medium yang mengandung *oxgall* dapat dilihat pada Tabel 5 ..

Tabel 5. Rerata bahan kering mikrobia pada tiap konsentrasi *oxgall* (%)

Ulangan	Konsentrasi Oxgall					
	0%	0,1%	0,2%	0,3%	0,4%	0,5%
1	0,099	0,085	0,106	0,089	0,120	0,150
2	0,102	0,088	0,104	0,110	0,123	0,146
3	0,106	0,081	0,107	0,113	0,122	0,139
Rerata	0,102	0,085	0,106	0,104	0,122	0,145

Tabel 6 Hasil Analisis Varian Untuk Bahan Kering Mikrobial

Sumber Variasi	Pb	Jk	KT	F hitung	F Tabel
Perlakuan	5	0,0063	0,001	33**	5,06
Galat	12	0,0004	0,000		
Total	17	0,0068			

** Diantara perlakuan-perlakuan terdapat perbedaan yang hendak sangat nyata terhadap bahan kering Mikrobial ($P \leq 0,01$)

Penambahan Oxgall berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap bahan kering mikrobial. Selanjutnya diadakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasilnya tersaji pada tabel 7 sebagai berikut:

Tabel 7. Hasil Uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dari pengaruh penambahan oxgall terhadap bahan kering medium

Perlakuan	Bahan Kering	Hasil Uji DMRT
PI	0,102	c
PII	0,084	d
PIII	0,105	c
PIV	0,104	c
PV	0,121	b
PVI	0,145	a

Berdasarkan uji DMRT diketahui bahan perlakuan P I berbeda sangat nyata dengan P II, P V, dan P IV.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada kadar BK mikrobial terhadap penambahan konsentrasi *oxgall* antara 0% dengan 0,1%, 0,4% dan 0,5%, serta tidak terdapat perbedaan yang nyata pada kadar BK mikrobial terhadap penambahan konsentrasi *oxgall* antara 0% dengan 0,2% dan 0,3%. Pada tabel diatas menunjukkan rata-rata bahan kering mikrobial pada jam ke-24 mengalami kenaikan sejalan dengan bertambahnya konsentrasi *oxgall*. Hal ini disebabkan karena

pada jam ke-24 terjadi kenaikan densitas pada medium yang mengandung *oxgall* (Tabel 1). Kadar BK mikrobial tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi *oxgall* 0,5% sebesar 0,145, sedang kadar BK mikrobial terendah pada konsentrasi *oxgall* 0,1% sebesar 0,085. Pada jam ke-24 tersebut BAL masih mampu bertahan dan tumbuh sampai konsentrasi 0,5%, hal ini ditunjukkan pada kadar BK mikrobial tertinggi pada konsentrasi 0,5%.

Kadar Kolesterol

Pengaruh penambahan *oxgall* terhadap kadar kolesterol yang diasimilasi oleh BAL dapat dilihat pada Tabel 8. Kadar kolesterol yang diasimilasi ditunjukkan pada penurunan kadar kolesterol medium yang mengandung kolesterol murni sebesar 0,1% pada semua perlakuan.

Tabel 8. Rerata kadar asimilasi kolesterol dengan penambahan *oxgall*

Jlangan	0% (tanpa <i>oxgall</i>)	0,1%	0,2%	0,3%	0,4%	0,5%
1	0,144	0,086	0,066	0,086	0,006	0,112
2	0,104	0,010	0,038	0,090	0,148	0,006
3	0,082	0,046	0,080	0,060	0,042	0,146
Rata-rata	0,110	0,046	0,061	0,079	0,065	0,088

Tabel 9. Hasil analisis varian untuk kadar asimilasi kolesterol

Sumber Variasi	Pb	Jk	KT	F hitung	F Tabel
Perlakuan	5	0,0073	0,0014	0,63 ^{ns}	5,06
Galat	12	0,0278	0,0023		
Total	17	0,0352			

Keterangan

^{ns} Diantara perlakuan tidak terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P \leq 0,01$)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata pada penurunan kolesterol tanpa penambahan *oxgall* (konsentrasi 0%) dengan penambahan *oxgall* (konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% dan 0,5%). Tidak terdapat perbedaan yang nyata pada kadar kolesterol terhadap peningkatan konsentrasi 0,1% sampai 0,5%. Hal ini berarti penambahan *oxgall* dalam medium dapat membantu menurunkan kolesterol, sedang peningkatan konsentrasi *oxgall* tidak mempengaruhi penurunan kadar kolesterol yang diasimilasi.

Menurut Gilliland (1985), *oxgall* dapat meningkatkan asimilasi kolesterol oleh *L. acidophilus*. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 8, bahwa dengan penambahan *oxgall* akan menurunkan kadar kolesterol lebih tinggi bila dibandingkan dengan tanpa penambahan *oxgall*. Hal ini disebabkan karena peranan *oxgall* didalam medium dapat mengemulsi lemak menjadi partikel-partikel yang lebih kecil, sehingga BAL lebih mudah menyerap kolesterol tersebut. Hal ini sesuai dengan Mayes (1981) bahwa garam-garam empedu mempunyai kemampuan menurunkan tegangan permukaan air. Ini memungkinkan untuk mengemulsikan lemak dalam usus dan melarutkan asam lemak dan sabun yang tidak larut dalam air.

Terlihat pada Tabel 8 bahwa kadar kolesterol hasil asimilasi BAL pada supernatan mengalami penurunan. Hal ini disebabkan kadar kolesterol pada endapan naik. Konsentrasi *oxgall* yang semakin tinggi dapat mempengaruhi asimilasi kolesterol oleh BAL. Tidak ada kolesterol yang diambil dari medium yang mengandung PPLO (*pleuropneumonia-like organism*) serum dan *oxgall* selama pertumbuhan aerob oleh *L. acidophilus*. Namun ketika ditumbuhkan pada anaerob, jumlah kolesterol didalam medium menurun, sedang jumlah kolesterol didalam sel meningkat (Gilliland *et al.*,1984).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa penambahan *oxgall* pada medium yang mengandung isolat BAL dari saluran pencernaan ikan tawes (*Puntius javanicus*), dapat membantu asimilasi kolesterol tetapi peningkatan

konsentrasi *oxgall* tidak mempengaruhi kadar kolesterol yang diasimilasi. Bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan tawes (*Puntius javanicus*) masih mampu bertahan dan tumbuh dalam medium yang mengandung *oxgall* sampai pada konsentrasi 0,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1989. Microbes in the intestine. Honsa Co. Ltd. Japan. P.55-71.
- Akalin, A. S., S. Gonc and S. Duzell. 1997. Influence off yoghurt and *acidophilus* yoghurt on serum cholesterol levels in mice. *J. Dairy Sci.* 80:2721-2725.
- AOAC. 1975. Official Methods of analysis Association of Official Analytical Chemist. Washington DC.
- Axelsson, L. 1998. Lactic Acid Bacteria: classification and physiology, In: Salminen, S. and A. Wright(eds). Lactic Acid Bacteria, Microbiology and Functional Aspects 2nd ed. Marcel Dekker Inc. New York.
- Brown, W. H. 1977. Introduction to Organic and Biochemistry. 2nd ed. Willard Grant Press. Boston. Massachusetts.
- Buck, M. L. and S. E. Gilliland. 1994. Comparisons of Freshly Isolated Strains of *Lactobacillus acidophilus* of Human Intestinal Origin for Ability to Assimilate Cholesterol During Growth. *J. Food Sci.* 77:2925-2933.
- Butt, H. 1999. Exploring management protocols for chronic fatigue syndrome: a case for pro-and pre-biotics. *Probiotica.* 8: 2-6.
- Cantarow, A. and M. Trumper. 1962. Clinical Biochemistry. 6th ed. W. B. Saunders Co. Philadelphia. London.
- Dune, C., L. O'Mahany., L. Murphy., G. Thorton., D. Morrissey., S. O'Halloran., M. Feeney., S. Fynn., G. Shanahan and J. K. Collins. 2001. In Vitro Selection Criteria for Probiotic Bacteria of Human Origin: Correlation With in vivo Finding. *American Journal of Clinical Nutrition.* 73:2.

- Ege, S. N., R. Kleinman, and M. L. C. Carter, 1984. Study Guide for Organic Chemistry. D. C. Health and Company, Lexington.
- Ferdias, S. 1988. Microbiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Fernandes, C. F., K. M. Shahani and M. A. Amer. 1987. Therapeutic role of dietary *Lactobacilli* and *lactobacilli* fermented dairy products. FEMS Microbiol. Rev. 46: 343-356.
- Finar, I. L., 1975. Organic Chemistry. Vol. II, 5th ed., Longman Scientific and Technical, England.
- Fuller, R. 1991. Probiotics in Human Medicine. Gut, 32: 4439-4442.
- Fuller, R. 1992. The effect of probiotic on the gut micro-ecology of farm animals, In: The Lactic Acid Bacteria vol. 1 The Lactic acid bacteria. B. J. B. Wood (ed). Elsevier Applied Science. London. P 171-192.
- Gilliland, S. E., T. E. Staley and L. J. Bush. 1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as dietary adjunct. J. Dairy Sci. 67: 3045-3051.
- Gilliland, S. E. C. R. Nelson and C. Maxwell. 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environ. Microbiol. 49: 377-381.
- Gilliland, S. E. and D. K. Walker. 1990. Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemia effect in human. J. dairy Sci. 73:905-911.
- Grunewald, K. K. 1982. Serum cholesterol levels in rats fed skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus*. J. Food Sci. 47:2078-2079.
- Gupte, S. 1990. The Short Textbook of Medical Microbiology. 1st ed. Jaypee Brothers. India.
- Hardjo, S. N., S, Indrasti dan T, Banttacus, 1998. Biokonversi: Pemanfaatan Limbah Industri Pertanian. IPB. Bogor.

- Havenaar, R. and J. H. J. Huis in't Veld, 1992. Probiotic: A General View, In: B. J. B. Wood (ed). *The Lactic Acid Bacteria*. Elsevier Applied Science. London.
- Hughes, D. B and D. G. Hoover. 1991. Bifidobacteria: Their potential for use in American dairy product. *Food Technol.* 45: 74-83.
- Klaver, F. A. M. and R Van der Meer. 1993. The assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacilli* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt deconjugating activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:1120-1124.
- Kozaki, M. 1998. Microorganism and their functions in traditional fermented foods in Southeast Asia. Proceeding of International Conference on Asian Network on Microbial Researches. Yogyakarta, 23-25 February, 1998.
- Kreutler, A. P., 1982. *Nutrition in Perspective*. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, New Jersey. 87.
- Lilly, D. M. and R. H. Stillwell. 1965. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganism. *Science*, 147, 747-748.
- Martin, D. W., Jr, P. A. Mayes, D. K. Granner. and V. W. Rodwell, 1985. *Harper's Review of Biochemistry*. Lange Medical Publications, California. 216-287.
- Marteu, D and J. Rambaud. 1993. Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man. *FEMS Microbiol. Rev.* 12:207-220.
- Marshall, V. M. and E. Taylor. 1995. Ability of neonatal human *Lactobacillus* isolates to remove cholesterol from liquid media. *Int. J. Food Sci. Technol.* 30:571-577.
- Mayes, P. A. 1981. Digestion/ Absorption in the Gastrointestinal Tract. Dalam Buku *Harper's Review of Biochemistry*, 18th. Edition. Large Medical Publications Maruzen Asia (Pte) Ltd.
- Mertz, E. T., 1960. *Elementary Biochemistry*. Burgess Publishing, Co., 46-48.

- Mc Donald, P. 1991. *The Biochemistry of Silage*. John Weley and Sons, New York, USA.
- McDonald. P., R. A. Edward. J. F. D. Greenhalgh and C. A. Morgan. 1995. *Animal Nutrition* Fifth edition. Longman. Singapore Published (Pte) Ltd. Singapore.
- Mitsuoka, 1989. *Microbes in the Intestine Our Life Long Partner*. Yakult Honsho Co. Ltd. Japan.
- Nakazawa, Y., and A. Hosono (Eds), 1992. *Function of Fermented Milk : Challenges for the Health Sciences*. Elsevier *Applied Science Publisher*, Ltd.
- Noh, D. O., S. H. Kim and S. E. Gilliland. 1997. Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC43121. *J. Dairy Sci.* 80:3107-3113.
- Oh, S., S. H. Kim and R. W. Wirobo. 2000. Charaterization and Purification of Bacteriocin Produced by a Potential Probiotic Cultur *Lactobacillus acidophilus* 305c. *J. Dairy Sci.* 83:2747-2752.
- Parker, R. B. 1974. Probiotics, the other half of antibiotic story. *Animal Nutrition and Health*, 29, 4-8.
- Rao, D. R, C. B. Chawan and S. R. Pulusani. 1981. Influence of milk and thermophilus milk on plasma cholesterol levels and hepatic cholesterolgenesis in rats. *J. Food Sci.* 46:1339-1341.
- Reitmeier, C. A. and K. J. Prusa, 1987. Cholesterol Content and Sensory Analysis of Ground Pork as Influenced by Fat Level and Heating. *J. Food Sci.* 52: 916.
- Ray, B. 1996. Fundamental foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology* 54(11).
- Santosa, U. 1999. Mikrobia Efektif Meningkatkan Produksi dan Mutu Karkas Broiler. *Poultry Indonesia*. No 200:38-39.
- Scheinbach, S. 1998. Probiotics: Functionally and commercial status. *Biotechnology Advances*. 16: 581-608.

- Steel, G. D. R, dan J. H. Torie. 1993. Prinsip dan prosedur Statistik Suatu Pendekatan Biometrik. PT Gramedia Pustaka Utama Jakarta.
- Suyunandana, P., P. Budhaka., S. Sasanarakkit., P., Saman., P. Disayaboot., Y. Cai. dan Y. Benno. 1998. From fish Intestine and Their Effect on Fish Production. Thailand Institute of Scientific Technological Research. Thailand.
- Wang, D, I, C., C, L Cooney., A, L, Demain., P, Dunnill., A, E, Humphrey., and M, D, Lilly. 1979. Fermentation and Enzyme Technology. A Wiley-Interscience Publication. New York.
- Whittier, E. O. and B. H. Webb, 1970. By Product from Milk . The AVI Publishing Company, Westpoint, Connecticut.
- Windholz, M., 1976. Oxgall (dalam The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals and Drugs), 9th ed. Merck and Co, Inc., New Jersey. 899.
- Wood, B. J. B. 1992. The lactic acid bacteria in health and disease. Lactic Acid Bacteria. Vol 1. Blackie Academic & Professional, London.