

SUPLEMENTASI *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 PADA TAPE DAN PENGARUHNYA PADA RELAWAN

[Supplementation of *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 Into Tape and its Effect to the Volunteer]

Endang S. Rahayu¹⁾ dan Siti N. Purwandhani²⁾

¹⁾ Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sosio Yustisia Bulaksumur Yogyakarta 55281
E-mail : endangyk@yogya.wasantara.net.id

²⁾ Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Widya Mataram, Yogyakarta

Diterima 5 Mei 2004 / Disetujui 19 Agustus 2004

ABSTRACT

Functional food is defined as any potentially healthful food or food ingredient that may provide a health benefit beyond the traditional nutrients it contains. Many researches have been conducted on the health benefit of probiotic (live bacterial cells), one of the ingredient of functional foods. One of the potential bacteria used for probiotic agent and also involved in traditional fermented foods are lactic acid bacteria (LAB). Previous research showed that *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 isolated from faecal material of healthy infant is resistant to acid and bile salt, and has an antagonistic effect against several enteric bacterial pathogens. The objective of this research was to study the effect of *L. acidophilus* SNP-2 as probiotic agent to the health benefits. These bacteria were supplemented into tape ketan (fermented sticky rice), the indigenous Indonesian fermented food. Tape ketan was chosen as the carrier of probiotic biomass based on the high population of LAB in this product, i.e., 1.3×10^8 CFU/g. Addition of *L. acidophilus* SNP-2 biomass prior to fermentation of tape ketan resulted in a higher total of LAB cells, i.e. 2.1×10^9 CFU/g compared to the amount of 1.5×10^8 CFU/g when the addition was done after fermentation. Consumption of tape ketan containing probiotic agent by the volunteers increased the population of lactobacilli (from 1.7×10^7 CFU/g to 9.9×10^7 CFU/g) and decreased the population of enterobacteriaceae (from 5.4×10^9 CFU/g to 4.4×10^8) in their faecal material. This phenomenon revealed that probiotic agent was able to colonize and inhibit the growth of enterobacteriaceae in the gastrointestinal tract. The result implied that tape ketan can be used as a carrier for probiotic agent and it can be categorized as functional food.

Key words : tape ketan, *lactobacillus acidophilus*, probiotic

PENDAHULUAN

Konsep tentang probiotik sebenarnya telah muncul sejak dahulu kala, saat ilmuwan Rusia Elie Metchnikoff pada tahun 1907 menyampaikan hipotesisnya bahwa orang Bulgaria memiliki umur panjang dan sehat dikarenakan konsumsi susu yang telah mengalami fermentasi. Dia meyakini bahwa konsumsi susu yang difermentasi oleh *Lactobacillus* memberikan efek menguntungkan pada mikroflora kolon dan dapat menurunkan aktivitas toksin yang dihasilkan mikrobia. Istilah probiotik (bahasa Greek, *for life*) memiliki pengertian yang berbeda-beda. Istilah yang pertama kali digunakan oleh Lilly dan Stillwell pada tahun 1965 diartikan sebagai substansi yang dihasilkan oleh satu mikrobia yang dapat menstimulasi pertumbuhan mikrobia yang lain. Arti kata ini merupakan lawan kata antibiotik yang diartikan sebagai substansi yang digunakan untuk membunuh mikrobia. Istilah ini selanjutnya digunakan oleh Parker (1974) untuk menjelaskan organisme atau substansi yang memiliki kontribusi terhadap keseimbangan mikroflora saluran pencernaan. Definisi probiotik selanjutnya diperbaiki oleh Fuller (1989), Havenaar et al., (1992), dan Salminen et al., (1999) yang

berarti suplemen makanan/pakan berupa mikrobia hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi inang yang mengkonsumsi melalui keseimbangan mikroflora saluran pencernaan.

Dari penelitian awal telah diperoleh isolat *Lactobacillus* dari material intestin bayi ASI (minum air susu ibu) sehat yang diidentifikasi sebagai *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 yang memiliki kriteria sebagai strain probiotik. Pemilihan strain ini didasarkan pada kemampuannya menghambat patogen enterik (*Salmonella choleraesuis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shigella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*), profil antibiotik, ketahanannya terhadap bile salt dan asam, serta oksigen (Purwandhani dan Rahayu, 2003).

Tahapan penelitian berikutnya adalah aplikasi isolat *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 pada makanan, khususnya makanan fermentasi. Di Indonesia, banyak sekali makanan fermentasi tradisional yang melibatkan bakteri asam laktat, contohnya tape ketan, tape ketela, brem, asinan sayuran atau buah-buahan yang dikenal di berbagai daerah (Rahayu, 2003). Tidak seperti halnya di negara Eropa, makanan fermentasi berbasis susu di Indonesia kurang populer, namun demikian di Sumatra

terdapat makanan fermentasi yang dibuat dari susu (umumnya susu kerbau) yang disebut dadih. Makanan fermentasi yang dibuat dengan melibatkan bakteri asam laktat, dan memiliki pH akhir yang rendah serta dikonsumsi langsung setelah fermentasi selesai (tanpa perlakuan panas), memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai pembawa strain probiotik.

Uji efektivitas strain probiotik dapat dilakukan dengan konsumsi sekitar 10^9 - 10^{11} sel probiotik yang hidup oleh relawan selama beberapa minggu dan kemudian dilakukan uji mikrobiologi feses. Strain probiotik diharapkan mampu bertahan setelah 48-96 jam setelah dikonsumsi. Populasi strain probiotik yang diharapkan muncul pada feses sekitar 10^6 /g feses (Goldin dan Gorbach, 1999, Benno, et al., 1996).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan studi awal terhadap efektivitas strain probiotik *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 yang disuplementasikan pada makanan fermentasi tape dengan menggunakan relawan, untuk mengikuti keberadaan bakteri sebagai agensia probiotik setelah dikonsumsi. Dugaan awal dari penelitian ini adalah bahwa eksistensi lactobacilli pada feses mencerminkan lactobacilli pada saluran intestin. Oleh karena itu, apabila terdapat perbedaan lactobacilli pada feses volunteer setelah mengkonsumsi tape probiotik maupun tape original ataupun tanpa mengkonsumsi tape, diperkirakan perbedaan ini berasal dari biomassa hidup yang disuplementasikan pada tape.

METODOLOGI

Strain bakteri

Strain yang digunakan sebagai agensia probiotik adalah *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 yang diperoleh dari penelitian sebelumnya yang dikoleksi oleh Food and Nutrition Culture Collection (FNCC), Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Strain ini diisolasi dari material intestin bayi sehat minum ASI, dan memenuhi persyaratan untuk digunakan sebagai agensia probiotik (Purwandhani dan Rahayu, 2003)

Mikroflora pada tape dan brem

Uji mikrobiologi dilakukan terhadap tape dan brem yang dibeli di pasar atau di toko, maupun tape yang dibuat di Laboratorium. Tape yang diuji adalah tape setelah selesai fermentasi selama 2 hari dan siap untuk dikonsumsi. Uji mikrobiologi dilakukan dengan metoda *dilution* dan *plating*, meliputi uji total bakteri aerob (dengan media *Plate Count Agar*), yeast/mold (*Malt Extract Agar* ditambah 200 ppm klorampenikol) dan bakteri asam laktat (*Peptone Glucose Yeast Extract* atau PGY), yang terdiri dari 1% pepton, 1% glukosa, 1% yeast ekstrak, 0,5% Tween-80, 0,5% larutan mineral, 1% CaCO_3 , 10 ppm sikloheksimid dan 10 ppm sodium azida, Rahayu 2003).

Produksi biomassa *Lactobacillus acidophilus* SNP-2

Produksi biomassa *L. acidophilus* SNP-2 dilakukan dengan menggunakan media air kelapa ditambah yeast ekstrak (5%), inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 16-18 jam (Handayani et al., 2000). Pemanenan sel dilakukan dengan sentrifugasi 3.500 g selama 20 menit, pencucian pelet (2 kali) dilakukan menggunakan 0,85 % NaCl. Pelet yang diperoleh siap digunakan untuk suplementasi.

Pembuatan tape ketan dan suplementasi biomassa

Tape ketan dibuat dengan cara sebagai berikut : 500 g beras ketan dicuci dan direndam selama semalam dilanjutkan dengan pengukusan selama 30 menit sambil dilakukan penambahan air hangat sebanyak 250 ml. Setelah tanak didinginkan dan dilakukan inokulasi dengan ragi MK, yang dibeli dipasar (0,2 % w/w) dan dilakukan suplementasi biomassa SNP-2 sehingga diperoleh total sel sekitar 10^9 CFU/g tape (didasarkan pada ketentuan makanan probiotik yang efektif oleh Goldin dan Gorbach, 1999; Gilliland, 1989). Fermentasi dilakukan pada suhu kamar (27 °C) selama 2 hari.

Uji sensoris terhadap tape probiotik

Uji kesukaan terhadap tape yang disimpan baik pada suhu kamar selama 3 hari dan suhu dingin (4 °C) selama 4 minggu dilakukan dengan Hedonic Scale Test, melibatkan 30 panelis.

Uji viabilitas bakteri asam laktat selama penyimpanan

Enumerasi bakteri asam laktat dilakukan pada tape yang disimpan pada suhu kamar selama 3 hari dan suhu dingin (4 °C) selama 4 minggu.

Uji tape probiotik dengan relawan

Pada penelitian ini dipilih 7 relawan berbadan sehat (tanpa gangguan pencernaan) dan selama pengujian mengkonsumsi makanan sebagaimana biasa dilakukan sehari-hari, akan tetapi diharuskan tidak mengkonsumsi obat-obat antibiotik dan makanan fermentasi segar. Pengujian dilakukan selama 5 minggu, yaitu setiap hari selama 2 minggu pertama relawan mengkonsumsi tape biasa (50 g), dilanjutkan 1 minggu tidak mengkonsumsi tape, dan 2 minggu berikutnya relawan mengkonsumsi tape probiotik (berdasar metoda yang digunakan Benno et al., 1996 dan komunikasi personal dengan Benno, 2000). Selama pengujian, feses relawan diambil setiap hari ke tiga dan ke enam (setiap minggu) untuk dilakukan pengujian mikrobiologi, yaitu bakteri asam laktat dengan menggunakan media PGY ditambah 1% CaCO_3 , lactobacilli dengan media selektif Rogosa (Oxoid), enterobacteriaceae dengan media Leifson (Oxoid), dan pH dengan pH meter. Pada

penelitian ini populasi bakteri asam laktat (termasuk *lactobacilli*) dihitung berdasarkan koloni yang tumbuh dikelilingi oleh zona jernih pada media PGY, sedang populasi *lactobacilli* didasarkan pada koloni yang tumbuh pada media Rogosa dengan diameter sekitar 1-2 mm (koloni bakteri asam laktat yang lain lebih kecil karena terhambat oleh adanya asam dan pH awal yang rendah pada media).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mikroflora pada tape

Aplikasi strain probiotik pada makanan fermentasi perlu mempertimbangkan beberapa aspek, pertama adalah jenis makanan fermentasi, kedua interaksi antara strain probiotik dan mikrobia yang berperanan di dalam proses fermentasi, ketiga adalah interaksi antara strain probiotik dengan makanan fermentasi. Pemilihan jenis makanan fermentasi didasarkan pada jenis produk, mikrobia utama dan cara konsumsi produk. Produk fermentasi yang berasa asam karena keterlibatan bakteri asam laktat dan dikonsumsi langsung setelah proses fermentasi selesai (tanpa proses pemanasan) merupakan pilihan utama sebagai pembawa strain probiotik.

Pada tahap awal penelitian ini, dilakukan survei mikrobiologi tape ketela, tape ketan, dan brem padat yang dijual di pasar, demikian pula kedua jenis tape yang dibuat di laboratorium dengan menggunakan salah satu jenis ragi yang dijual di pasar. Survei ini ditujukan untuk menentukan jenis tape yang paling cocok dimanfaatkan sebagai pembawa strain probiotik. Hasil enumerasi kedua jenis tape ini disajikan pada Tabel 1 dan 2, sedang hasil enumerasi brem padat disajikan pada Tabel 3.

Dari survei mikrobiologi diperoleh hasil bahwa total bakteri aerob pada kedua tipe tape adalah sekitar 10^6 - 10^8 CFU/g, demikian pula populasi yeast nampaknya di antara kedua tipe produk tidak berbeda jauh. Pada dasarnya media MEA yang digunakan untuk uji adalah untuk menumbuhkan yeast dan mold yang terdapat pada

sampel, namun pada penelitian ini nampak bahwa koloni yang tumbuh pada media MEA adalah koloni yeast. Sehingga disimpulkan bahwa populasi mold adalah sangat rendah, atau di bawah deteksi limit. Perbedaan yang sangat mencolok adalah pada total bakteri asam laktat (BAL) yang ternyata jumlahnya sangat rendah pada tape ketela sehingga dengan metoda enumerasi yang telah dilakukan sulit untuk mendeteksi keberadaan bakteri ini. Dari hasil ini diketahui bahwa mikroflora pada tape ketela didominasi oleh yeast dan bakteri aerob sekitar 10^6 - 10^8 CFU/g. Hal ini juga sejalan dengan rasa tape ketela yang manis sedikit asam (karena populasi bakteri penghasil asam yang rendah). Berbeda dengan tape ketan yang didominasi oleh rasa asam alkoholik, hal ini juga sesuai dengan total bakteri asam laktat pada tape ketan yang cukup tinggi, setara dengan total fermentatif yeast. Tape ketela diperkirakan kurang cocok sebagai pembawa strain probiotik bakteri asam laktat, karena dengan pembuatan kedua jenis tape dengan ragi yang sama ternyata bakteri asam laktat pada ketela tidak berkembang, diperkirakan kondisi lingkungannya yang kurang mendukung pertumbuhan bakteri ini.

Tabel 3. Mikroflora brem padat (dalam CFU/g)

Jenis Mikrobia	Suling Prima	Suling Gading
Total bakteri aerob	$1,7 \times 10^3$	$4,4 \times 10^2$
Yeast/mold	$4,4 \times 10^3$	$< 10^2$
Bakteri asam laktat	$< 10^2$	$< 10^2$

$< 10^2$ di bawah deteksi limit

Disamping melakukan enumerasi mikrobiologi pada kedua jenis tape ini, juga dilakukan enumerasi mikrobiologi pada brem yaitu makanan yang dibuat dengan cara memanaskan filtrat tape ketan sampai terjadi masa yang kental dan memadat. Dari data yang disajikan pada Tabel 3 diperoleh hasil bahwa total bakteri aerob sekitar 10^2 - 10^3 CFU/g, yeast maksimum 10^3 CFU/g, dan bakteri asam laktat tidak terdeteksi (≤ 100 CFU/g).

Tabel 1. Mikroflora tape ketela (dalam CFU/g)

Jenis Mikrobia	Jenis Tape Ketela				
	Pasar 1 Warna kuning	Pasar 2 Warna Putih	Eco Manalagi	Sari Manis	Tape Ketela Lab
Total bakteri aerob	$1,9 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$	$1,7 \times 10^7$	$5,4 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$
Yeast/mold	$1,6 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$	$6,2 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$3,5 \times 10^7$
BAL	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$	$< 10^2$

$< 10^2$ di bawah deteksi limit

Tabel 2. Mikroflora tape ketan (dalam CFU/g)

Jenis Mikrobia	Jenis Tape Ketan			
	Pasar 1	Eco Manalagi	Karya Mulya	Tape Lab
Total bakteri aerob	$5,8 \times 10^6$	$2,7 \times 10^8$	$1,7 \times 10^7$	$1,8 \times 10^6$
Yeast/mold	$7,7 \times 10^6$	$2,8 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$	$1,7 \times 10^6$
BAL	$2,5 \times 10^6$	$3,7 \times 10^5$	$1,7 \times 10^7$	$2,7 \times 10^5$

Brem yang dibuat dengan pemanasan memiliki populasi mikrobia yang rendah, terutama bakteri asam laktat. Produk ini sulit digunakan sebagai pembawa strain probiotik kecuali dilakukan studi lebih lanjut dalam hal cara suplementasi biomassa pada proses pembuatan brem.

Dari penelitian awal ini telah dipilih tape ketan sebagai pembawa biomassa probiotik. Pemilihan ini didasarkan pada hasil bahwa tape ketan yang dibuat dari ragi didominasi oleh bakteri asam laktat disamping yeast sakarolitik dan fermentatif.

Jumlah bakteri asam laktat pada tape original (tidak disuplementasi dengan biomassa) berkisar antara 10^7 CFU/g yang didominasi oleh *pediococci*, hal ini sesuai dengan penelitian Uchimura et al., (1998) yang menyebutkan bahwa ragi Indonesia didominasi oleh *pediococci* yaitu bakteri asam laktat yang lebih tahan terhadap kekeringan dibandingkan kelompok yang lain.

Suplementasi biomassa pada tape ketan

Aspek kedua dari aplikasi strain probiotik pada makanan fermentasi adalah interaksi antara strain probiotik dengan mikrobia fermentatif. Strain probiotik harus bersinergisme dengan mikrobia fermentatif, sehingga karakteristik produk fermentasi tidak berubah. Untuk melihat interaksi strain probiotik dan mikrobia tape, pada penelitian ini dilakukan dua cara suplementasi *Lactobacillus acidophilus* SNP-2, yaitu suplementasi biomassa SNP-2 sebelum dan sesudah proses fermentasi. Dari hasil diperoleh bahwa tape ketan yang dihasilkan dengan suplementasi SNP-2 sebelum proses fermentasi berlangsung ternyata memiliki jumlah *lactobacilli* yang lebih tinggi satu *log cycle* dibandingkan dengan tape yang suplementasi dilakukan setelah proses fermentasi. Suplementasi strain probiotik *lactobacilli* yang berbentuk batang ini mudah dibedakan dengan bakteri asam laktat asli tape *pediococci* yang dominan yang berbentuk bulat tetrad, sehingga untuk membedakan kedua genera bakteri asam laktat ini, caranya adalah dengan uji mikroskopis terhadap koloni-koloni yang tumbuh pada cawan Petri hasil *plating* (uji enumerasi).

Suplementasi biomassa *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 sebanyak 10^9 CFU/g bahan yang dilakukan sebelum proses fermentasi berlangsung menghasilkan total bakteri asam laktat $2,1 \times 10^9$ CFU/g yang didominasi oleh *lactobacilli*. Sedang apabila suplementasi dilakukan

sesudah proses fermentasi berlangsung ternyata jumlahnya justru menurun satu *log cycle*, diperkirakan *lactobacilli* yang langsung dimasukkan saat tape telah jadi dengan kondisi asam dan alkohol yang sudah cukup tinggi, yaitu masing-masing 4,33 meq H+/100g dan 2,50% dan pH yang rendah (3,4) menyebabkan *lactobacilli* tidak dapat bertahan dan bahkan mengalami kematian. Hal ini berbeda apabila suplementasi *lactobacilli* dilakukan sebelum fermentasi, strain probiotik akan beradaptasi terhadap lingkungannya dan selanjutnya melakukan pertumbuhan walaupun proses kematian juga tidak dapat dihindari sehingga pada akhir fermentasi jumlah sel ini dapat dipertahankan tetap tinggi (10^9 CFU/g).

Mikroflora tape selama penyimpanan

Hasil enumerasi bakteri asam laktat selama penyimpanan tape disajikan pada Tabel 4. Dari tabel nampak bahwa selama penyimpanan selama 3 hari pada suhu ruang, populasi bakteri asam laktat pada tape kontrol berkurang sampai dengan 2 *log cycle*, dengan populasi akhir sekitar 10^4 CFU/g. Sama halnya dengan tape probiotik juga terjadi penurunan 2 *log cycle*, namun demikian karena populasinya awalnya yang cukup tinggi, setelah penyimpanan populasinya masih berkisar 10^7 CFU/g. Pada penyimpanan dengan suhu rendah (4 °C), terjadinya penurunan populasi berlangsung secara lambat. Sampai dengan minggu ke-3 (hari ke 21) populasi bakteri asam laktat yang disuplementasi dengan strain probiotik masih dapat dipertahankan sampai dengan 10^7 CFU/g. Penyimpanan dingin lebih lanjut, mencapai minggu ke 4, ternyata hanya mampu mempertahankan jumlah sel pada tape probiotik sekitar 10^6 CFU/g, sehingga produk ini sulit untuk dikategorikan sebagai produk probiotik. Goldin dan Gorbach, 1999, Benno, et al., 1996, menyebutkan bahwa efektivitas strain probiotik dapat dilakukan dengan konsumsi sekitar 10^9 - 10^{11} sel probiotik yang hidup oleh relawan, yang berarti tape probiotik dikatakan efektif apabila populasi bakteri asam laktat sekitar 10^7 CFU/g, dengan jumlah konsumsi 100g. Sedang tape kontrol dengan populasi sekitar 10^5 CFU/g baik yang disimpan pada suhu ruang atau suhu dingin, tidak dapat dikategorikan sebagai makanan probiotik yang efisien, dengan jumlah konsumsi yang normal.

Tabel 4. Populasi bakteri asam laktat pada tape selama penyimpanan (CFU/g)

Jenis Tape	Penyimpanan pada suhu ruang (hari)				Penyimpanan pada suhu dingin (hari)				
	0	1	2	3	7	10	14	21	28
Kontrol	$3,1 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$	$3,4 \times 10^4$	$5,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$	$5,6 \times 10^4$
Tape P	$2,1 \times 10^9$	$8,8 \times 10^8$	$5,7 \times 10^8$	$6,1 \times 10^7$	$7,8 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$	$2,9 \times 10^7$	$3,6 \times 10^6$

Tape P = suplementasi strain probiotik sebelum proses fermentasi

Uji sensoris terhadap tape probiotik

Aspek ketiga dari suplementasi strain probiotik pada makanan fermentasi adalah interaksi antara strain probiotik dengan produk makanan tersebut, terutama selama penyimpanan berlangsung. Diharapkan strain probiotik tidak menghasilkan produk fermentasi yang berubah karakteristik originalnya. Pada penelitian ini hasil fermentasi tape probiotik dilakukan uji sensoris menggunakan 30 panelis. Dari hasil uji sensoris ternyata tape yang suplementasi dengan biomassa lactobacilli dilakukan sebelum proses fermentasi berlangsung tidak memberikan perbedaan kesukaan dengan tape original. Oleh karena itu, pada percobaan berikutnya suplementasi dilakukan sebelum proses fermentasi berlangsung.

Pada penelitian juga dilakukan penyimpanan tape ketan probiotik pada suhu kamar selama 3 hari dan suhu dingin (4 °C) selama 4 minggu, dan setiap interval waktu diuji sensoris. Uji ini perlu dilakukan karena dengan penambahan biomassa hidup probiotik dalam jumlah yang cukup tinggi pada tape dikhawatirkan memberikan rasa yang berbeda yang berpengaruh pada kesukaan konsumen karena peristiwa mikrobiologis dan enzimatik yang tetap berlangsung. Hasil uji tingkat kesukaan terhadap tape probiotik yang disimpan disajikan pada Tabel 5. Hasil menunjukkan bahwa tape yang disimpan pada suhu kamar selama 3 hari tidak lagi disukai oleh panelis, sedang tape yang disimpan pada suhu dingin, pada minggu pertama dan kedua tidak disukai, tetapi ternyata tape justru disukai oleh panelis pada penyimpanan minggu ke 3 dan ke 4. Diperkirakan dengan penyimpanan pada suhu dingin yang lebih lama akan timbul komponen flavor, namun demikian hal ini perlu diteliti lebih lanjut.

Uji mikrobiologi feses relawan

Studi awal tentang efek probiotik dilakukan pada 7 relawan. Data yang disajikan pada Tabel 6 merupakan data uji mikrobiologis dan pH feses relawan. Pada Tabel 6 terlihat bahwa setelah relawan mengkonsumsi tape probiotik jumlah bakteri asam laktat dan lactobacilli meningkat. Pada saat mengkonsumsi tape original jumlah lactobacilli sekitar $2,0 \times 10^7$ CFU/g dan saat tidak mengkonsumsi tape jumlahnya juga sama ($1,7 \times 10^7$ CFU/g) namun setelah relawan mengkonsumsi tape probiotik terjadi peningkatan yaitu menjadi sekitar $9,6 \times 10^7$ CFU/g. Untuk kelompok enterobacteriaceae, ternyata jumlahnya menurun, yaitu satu log cycle setelah relawan mengkonsumsi tape probiotik. Data ini merupakan studi awal dari pengaruh konsumsi tape probiotik terhadap profil mikroflora feses yang diduga juga merupakan cerminan dari mikroflora instestin. Dari data ini diperkirakan bahwa strain probiotik *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 yang disuplementasikan pada tape ketan dengan jumlah 10^9 CFU/g dan selanjutnya tape dikonsumsi 50g/hari, mampu melakukan kolonisasi pada saluran instestin ditunjukkan dengan meningkatnya lactobacilli dibandingkan saat relawan tidak mengkonsumsi tape.

Pada penelitian ini untuk melakukan konfirmasi terhadap strain SNP-2 dilakukan isolasi pada media Rogosa (yang digunakan untuk enumerasi) dilanjutkan dengan pemurnian untuk mendapatkan strain yang murni. Isolat-isolat yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengujian terhadap bentuk, Gram, katalase (negatif), serta asam yang dihasilkan pada fermentasi menggunakan glukosa.

Tabel 5. Tingkat kesukaan tape probiotik selama penyimpanan dingin

Tape segar sebagai kontrol	Lama penyimpanan pada suhu ruang (hari)			Lama penyimpanan pada suhu dingin (hari)			
	1	2	3	7	14	21	28
4,93*	5,17	4,90	4,47	3,10	4,50	5,17	5,10
def**	def	def	cd	a	cd	def	def

Kontrol = tape segar

*Angka terhadap kesukaan merupakan rata-rata dari 30 panelis

**Huruf yang sama pada satu kolom berarti tidak berbeda nyata (P=0,05)

Nilai 1 adalah tidak suka sekali dan 7 adalah sangat suka sekali

Tabel 6. Mikroflora (CFU/g) dan pH pada feses volunter

Jenis Mikrobia	Konsumsi tape original	Tanpa konsumsi tape	Konsumsi tape probiotik
Total bakteri asam laktat	$4,9 \times 10^7$	$4,3 \times 10^7$	$4,3 \times 10^8$
Lactobacilli	$2,0 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$9,6 \times 10^7$
Enterobacteriaceae	$6,0 \times 10^8$	$5,4 \times 10^9$	$4,4 \times 10^8$
pH	6,41	6,49	6,29

Dapat dipastikan bahwa isolat yang tumbuh pada media Rogosa adalah lactobacilli, tapi menentukan apakah isolat tersebut termasuk strain SNP-2 masih perlu dilakukan uji lanjutan. Penelitian ini merupakan tahap awal penelitian untuk mengetahui efektivitas strain SNP-2 sebagai probiotik.

Respon relawan mengenai kesehatan tubuhnya secara umum yaitu terhadap kelancaran buang air besar maupun konsistensi feses selama pengujian atau setelah konsumsi tape probiotik menyatakan bahwa konsistensi feses menjadi lebih lunak sehingga memperlancar buang air besar, sedang kesehatan tubuh secara umum tidak terganggu.

KESIMPULAN

Tape ketan dapat digunakan sebagai pembawa strain probiotik *Lactobacillus acidophilus* SNP-2 dan produk ini disebut sebagai tape probiotik.

Konsumsi tape probiotik diperkirakan (1) mampu meningkatkan jumlah lactobacilli dalam saluran pencernaan yang ditujukan dengan meningkatnya jumlah sel ini pada feses, dan (2) mampu menurunkan populasi enterobacteriaceae.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian *Domestic Collaborative research Grant* (DCRG) tahun 2000-2001. Kepada pemberi dana diucapkan terima kasih. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada Ni Luh Ari Yusasrini yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Benno, Y., He, F., Hosoda, M., Hashimoto, H., Kojima, T., Yamazaki, K., Iino, H., Mykkanen, H., dan Salminen, S. 1996. Effect of *Lactobacillus* GG yogurt on human intestinal microecology in Japanese subject. *Nutrient Today Supplement* 31 (6) : 9S – 11S.
- Gilliland, S.E. 1989. Acidophilus milk product : A reviewer of potential benefits to consumers. *J. Dairy Sci.* 72 : 2483 – 2494.
- Goldin, B.R. dan Gorbach, S.L., 1992. Probiotic for humans. Dalam Fuller, R. (editor), *Probiotics : The Scientific Basis*. Chapman & Hall. Tokyo.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animal. *J. Appl. Bacteriol.* 66 : 365 – 378.
- Handayani, C.B., dan Rahayu, E.S. 2000. Produksi sel bakteri asam laktat pada berbagai media. *Prosiding Seminar Nasional Industri Pangan*. Surabaya, 10 – 11 Oktober. Volume 2 : 134 - 142.
- Havenaar, R. dan Huis In't Veld J.H.J. 1992. Probiotics : A general review. Dalam Wood, B.J.B. (Editor), *The Lactic Acid Bacteria Vol I : The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*. Elsevier Applied Science Publisher. Amsterdam.
- Lilly, D.M. dan Stillwell, R.H. 1965. Probiotics : Growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 147 : 747 – 748.
- Parker, R.B. 1974. Probiotics : The other half of the antibiotic story. *Anim. Nutr. Health* 29 : 4 – 8.
- Purwandhani, S.N. dan Rahayu, E.S. 2003. Isolasi dan seleksi *Lactobacillus* yang berpotensi sebagai agensia probiotik. *Agritech* 23 (2) : 67-74.
- Rahayu, E.S. 2003. Lactic acid bacteria in fermented foods of Indonesian origin. *Agritech* 23 (2) : 75-84.
- Salminen, S., Ouwenhand, A., Benno, Y., dan Lee, Y.K. 1999. Probiotics : How should they be defined. *Trend in Food Sci. & Technol.* 10 : 107 – 110.
- Uchimura, T., Rahayu, E.S., dan Komagata, K. 1998. Identification of lactic acid bacteria isolated from Chinese starter, *ragi*, in Indonesia. *Proceeding of International Conference on Asian Network on Microbial Research*, Yogyakarta, Indonesia, February 23-35. pp : 232 – 238.