

## **Skrining Isolat Bakteri Asam Laktat dari Feses Luwak Sebagai Kandidat Probiotik**

### ***Screening of Lactic Acid Bacteria Isolates from Civet Feces as Probiotic Candidates***

**Faustine Theodore, Komang Ayu Nocianitri \*, Sayi Hatiningsih**

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana  
Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali

\*Penulis korespondensi: Komang Ayu Nocianitri, Email : [nocianitri@unud.ac.id](mailto:nocianitri@unud.ac.id)

#### **Abstract**

Probiotics play an important role in maintaining gut microbiota balance and supporting digestive health. They can be isolated from various natural sources, including plants, soil, water, and the digestive tracts of animals or humans. To qualify as probiotics, potential strains must meet specific criteria: they must be safe to consume, resistant to stomach acid and bile, and capable of producing antimicrobial compounds. This study evaluated the potential of lactic acid bacteria (LAB) isolates from civet feces as probiotics based on their resistance to low pH and bile salts and their inhibitory activity against *Escherichia coli*. Ten LAB isolates were tested for resistance at pH levels of 2, 3, and 4. Those resistant to low pH were tested for resistance to 0.3% bile salts. Those that were resistant low pH and bile salts were tested for their ability to inhibit *E. coli* ATCC 25922 using the disk diffusion method. The results showed that four isolates; FL 6, FL 19, FL 21, and FL 40 had resistance to low pH by 67.8% to 72.8%, and resistance to bile salts by 86% to 91%. These four isolates exhibited inhibitory activity against *E. coli*, with inhibition zones ranging from 6.0 to 7.3 mm. They were categorized as having moderate inhibitory activity, with isolate FL 19 exhibiting the highest activity. Lactic acid bacteria isolates from civet feces have probiotic potential because they can withstand extreme conditions in the digestive tract and inhibit the growth of pathogenic bacteria.

**Keywords:** *bile salt, civet feces, lactic acid bacteria, low pH, probiotic*

#### **Abstrak**

Probiotik berperan penting dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus dan mendukung kesehatan pencernaan. Probiotik dapat diisolasi dari berbagai sumber alam, seperti tanaman, tanah, air, dan saluran pencernaan hewan ataupun manusia. Strain yang berpotensi sebagai probiotik harus memenuhi syarat, seperti aman dikonsumsi, tahan terhadap cairan lambung dan empedu, dan menghasilkan senyawa antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi isolat bakteri asam laktat (BAL) dari feses luwak sebagai kandidat probiotik berdasarkan ketahanan terhadap pH rendah, garam empedu, dan kemampuan daya hambat terhadap *Escherichia coli*. Sebanyak 10 isolat BAL diuji ketahanannya terhadap pH 2, 3, dan 4. Isolat yang tahan terhadap pH rendah dilanjutkan dengan uji ketahanan terhadap garam empedu 0,3 persen. Isolat yang mempunyai ketahanan terhadap pH rendah dan garam empedu dilanjutkan dengan uji daya hambat terhadap *E. coli* ATCC 25922 menggunakan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa empat isolat yaitu FL 6, FL 19, FL 21, dan FL 40 mempunyai ketahanan terhadap pada pH rendah sebesar 67,8% hingga 72,8%, dan ketahanan terhadap garam empedu sebesar 86% hingga 91%. Keempat isolat tersebut juga menunjukkan aktivitas daya hambat terhadap *E. coli* dengan zona hambat berkisar antara 6,0 hingga 7,3 mm dengan kategori sedang dan isolat FL 19 memberikan daya hambat tertinggi terhadap bakteri *E. coli*. Isolat BAL dari feses luwak berpotensi sebagai probiotik karena memenuhi beberapa kriteria, yaitu tahan terhadap kondisi ekstrem di saluran pencernaan dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

**Kata kunci:** *bakteri asam laktat, feses luwak, garam empedu, pH rendah, probiotik*

#### **PENDAHULUAN**

Dewasa ini, kesehatan masyarakat dipengaruhi oleh perubahan pola hidup dan

pola makan yang cenderung tidak sehat.

Gaya hidup serba cepat, kebiasaan mengkonsumsi makanan olahan dan *fast*

*food*, serta kurangnya aktivitas fisik telah meningkatkan risiko berbagai masalah kesehatan, terutama gangguan pencernaan. Pola makan yang buruk seringkali menyebabkan ketidakseimbangan mikrobiota usus atau disbiosis yang dapat memicu penyakit seperti sindrom iritasi usus besar (IBS), penyakit radang usus (IBD), diabetes, dan hipertensi (Madhogaria et al., 2022). Hal tersebut dapat ditangani dengan mengkonsumsi probiotik untuk menjaga keseimbangan mikrobiota usus. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan apabila mencapai saluran pencernaan dalam jumlah tertentu ( $10^6$  Log/CFU ml). Beberapa manfaat utama probiotik bagi kesehatan meliputi meningkatkan kesehatan saluran pencernaan, meningkatkan sistem imun tubuh, menurunkan kolestrol, mencegah risiko radang dan kanker usus, mencegah diabetes, dan mengurangi gejala intoleransi laktosa (Slattery et al., 2019; Mamun et al., 2016; Wasilewski et al., 2015)

Menurut FAO/WHO (2002), strain yang berpotensi menjadi probiotik memiliki syarat, yaitu aman / GRAS (*Generally Recognized as Safe*), tahan terhadap cairan lambung dan empedu, mampu bertahan dan berkembang biak di dalam saluran pencernaan, mampu menempel pada sel epitel usus, dan menghasilkan zat antimikroba. Selain itu, strain probiotik juga memiliki ketahanan selama proses pengolahan makanan dan penyimpanan,

mudah diaplikasikan dalam produk makanan dan tahan terhadap psikokimia pada makanan (Prado et al., 2008). Ketahanan terhadap pH rendah dan garam empedu merupakan tahap awal dalam skrining karena probiotik harus melewati suasana asam di lambung dengan pH sekitar 1,5–4,5, kemudian menghadapi paparan garam empedu di usus halus sebelum mencapai kolon untuk berkolonisasi (Maragkoudakis et al., 2006; Salminen et al., 1998). Selain itu, pengujian daya hambat terhadap *Escherichia coli* juga dilakukan karena *E. coli* merupakan patogen enterik yang sering ditemukan sebagai penyebab diare dan keracunan makanan, sehingga dapat digunakan sebagai indikator efektivitas probiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Bintsis, 2017).

Salah satu probiotik yang sering dijumpai adalah bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat dapat diisolasi dari berbagai sumber alam, seperti tanah, tanaman, air, limbah, dan juga dari saluran genital dan pencernaan manusia dan hewan (Sujaya et al., 2016). Beberapa penelitian mengenai uji potensi probiotik telah banyak dilakukan, diantaranya *L. lactis* dari starter whey (De Chiara et al., 2024), *L. fermentum* asal yoghurt (Wei et al., 2025), *L. brevis* dan *L. plantarum* dari susu kambing fermentasi (Bentahar et al., 2024), *L. plantarum* dan *L. pentosus* dari camilan (Soleimani et al., 2023), *L. paracasei* RB210 dari kombucha (Puspawati & Arihantana, 2016). Sementara

ini, studi mengenai potensi bakteri asam laktat sebagai probiotik yang berasal dari feses luwak belum banyak dilakukan. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Nocianitri (2023), telah diidentifikasi 54 isolat BAL dari feses luwak. Dari isolat tersebut, lima di antaranya memiliki aktivitas selulolitik yang tinggi, sementara dua isolat menunjukkan aktivitas proteolitik dan amilolitik yang tinggi. Namun, pengujian lebih lanjut mengenai potensi isolat tersebut sebagai probiotik belum dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menguji ketahanan isolat BAL dari feses luwak terhadap pH rendah dan garam empedu, serta kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* sebagai calon kandidat bakteri probiotik.

## METODE

### Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 isolat BAL dari feses luwak yaitu isolat yang memiliki aktivitas proteolitik, selulolitik, dan amilolitik yaitu FL 6, FL 7, FL 9, FL 11, FL 18, FL 19, FL 21, FL 27, FL 28, FL 35, dan FL 40 (Koleksi UPT. Laboratorium Biosains dan Bioteknologi), *deMann Rogossa Sharpe Broth* (MRS broth) (Oxoid), *deMann Rogossa Sharpe Agar* (MRS Agar) (Oxoid), *Nutrient Agar* (Himedia), *Tryptic Soy Broth*, *Escherichia coli* ATCC 25922, HCl 4N, Natrium Deoksikolat (NaDc) (0,3%),

aquades, safranin, larutan kristal violet 2%, larutan lugol, larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%, NaCl 0,85%, alkohol 70%, aluminium foil, plastik *wrap*, kertas saring, tisu, korek api, dan spiritus.

### Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *laminar air flow* (Esco), inkubator (Labnet), tabung reaksi (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), *magnetic stirrer* (Labnet), mikropipet (Finnpipette), pH-meter (Lutron), vortex (Labnet), timbangan analitik (Shimadzu AUX220), autoclave (Glotech), spektrofotometer (Evolution 201), mikroskop (Olympus CX21FS1), *disposable* petri, tip 100 ul, tip 1000 ul, gelas beaker (Duran), gelas ukur (Iwaki Pyrex), microtube, batang bengkok, bunsen, ose, dan selop tangan.

### Pelaksanaan Penelitian

#### Penyegaran dan Konfirmasi Isolat BAL dari Feses Luwak

Isolat yang memiliki aktivitas proteolitik, selulolitik, dan amilolitik yaitu FL 6, FL 7, FL 9, FL 11, FL 18, FL 19, FL 21, FL 27, FL 28, FL 35, dan FL 40 yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan penyegaran dengan cara mengambil stok isolat dalam gliserol 30% pada suhu -20°C sebanyak 0,1 ml kemudian diinokulasi pada 5 ml media MRS broth dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya kekeruhan pada tabung, kemudian dilakukan

uji konfirmasi yaitu uji katalase, uji gas, dan uji gram.

#### **Uji Ketahanan Isolat BAL dari Feses Luwak Terhadap pH Rendah**

Pengujian ketahanan terhadap pH rendah mengacu pada Zavaglia et al. (1998) yang telah dimodifikasi yaitu sebanyak 1 ml kultur dari penyegaran isolat diinokulasi ke dalam tabung reaksi yang masing-masing telah berisi 9 ml media MRS broth yang sudah diatur dengan pH 2, 3, dan 4 kemudian diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C. Hal ini disesuaikan dengan lamanya makanan berada di dalam lambung selama 2-6 jam (Gropper et al., 2009). Pada awal dan akhir inkubasi (0 dan 4 jam) dilakukan penghitungan jumlah total BAL dengan metode sebar dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam (Fardiaz, 1993). Isolat yang tahan terhadap pH rendah dihitung berdasarkan perbedaan jumlah koloni yang tumbuh pada waktu inkubasi dari 0 hingga 4 jam.

#### **Uji Ketahanan Isolat BAL dari Feses Luwak Terhadap Garam Empedu**

Pengujian ketahanan terhadap garam empedu mengacu pada Gilliland et al. (1984) yaitu sebanyak 1 ml kultur dari penyegaran isolat diinokulasi ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml media MRS broth yang mengandung 0,3 persen Natrium Deoksikolat kemudian diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C. Pada awal dan akhir inkubasi (0 dan 4 jam) dilakukan

penghitungan jumlah total BAL dengan metode sebar dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam (Fardiaz, 1993). Isolat yang tahan terhadap garam empedu dihitung berdasarkan perbedaan jumlah koloni yang tumbuh pada waktu inkubasi dari 0 hingga 4 jam.

#### **Uji Daya Hambat Isolat BAL dari Feses Luwak Terhadap Bakteri Patogen *Escherichia coli***

Pengujian daya hambat terhadap *Escherichia coli* dilakukan menggunakan isolat bakteri yang memiliki ketahanan terhadap pH rendah dan garam empedu. Metode pengujian daya hambat dilakukan dengan difusi cakram yang mengacu pada (Schillinger dan Lucke, 1989). Satu ose kultur bakteri *Escherichia coli* diinokulasikan ke dalam *Tryptic Soy Broth* 5 ml dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan kultur stok isolat BAL dari feses luwak diambil 1 ml kemudian dimasukkan kedalam 5 ml MRS broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Sebanyak 100 µL suspensi *E. coli* yang telah disetarakan dengan kekeruhan 0,1 McFarland divortex lalu diteteskan dan digores merata pada permukaan media NA menggunakan batang bengkok. Cawan dibiarkan selama 20 menit pada suhu ruang untuk penyerapan optimal. Kertas cakram steril berdiameter 6 mm diletakkan pada permukaan agar menggunakan pinset steril.

**Tabel 1. Kategori daya hambat (Davis dan Stout, 1971)**

| Diameter     | Kategori daya hambat |
|--------------|----------------------|
| $\leq 5$ mm  | Lemah                |
| 5–10 mm      | Sedang               |
| 10–20 mm     | Kuat                 |
| $\geq 20$ mm | Sangat Kuat          |

Sebanyak 30  $\mu$ L isolat BAL ditetaskan ke permukaan masing-masing cakram sebagai uji utama dan ditetaskan 30  $\mu$ L saline dan alkohol sebagai kontrol negatif dan kontrol positif, kemudian diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Diameter zona bening yang terbentuk disekitar sumuran diukur menggunakan jangka sorong sebagai zona penghambatan isolat BAL dari feses luwak terhadap bakteri *E. coli*. Luas daerah penghambatan dapat dihitung: Luas area penghambatan (L) = Luas area bening (Lb) – Luas area sumuran (Ls). Kemampuan daya hambat BAL dapat dilihat pada Tabel 1.

#### Analisis Data

Data yang diperoleh diinterpretasikan secara naratif berdasarkan pengamatan yang disajikan dalam bentuk tabel atau grafik.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

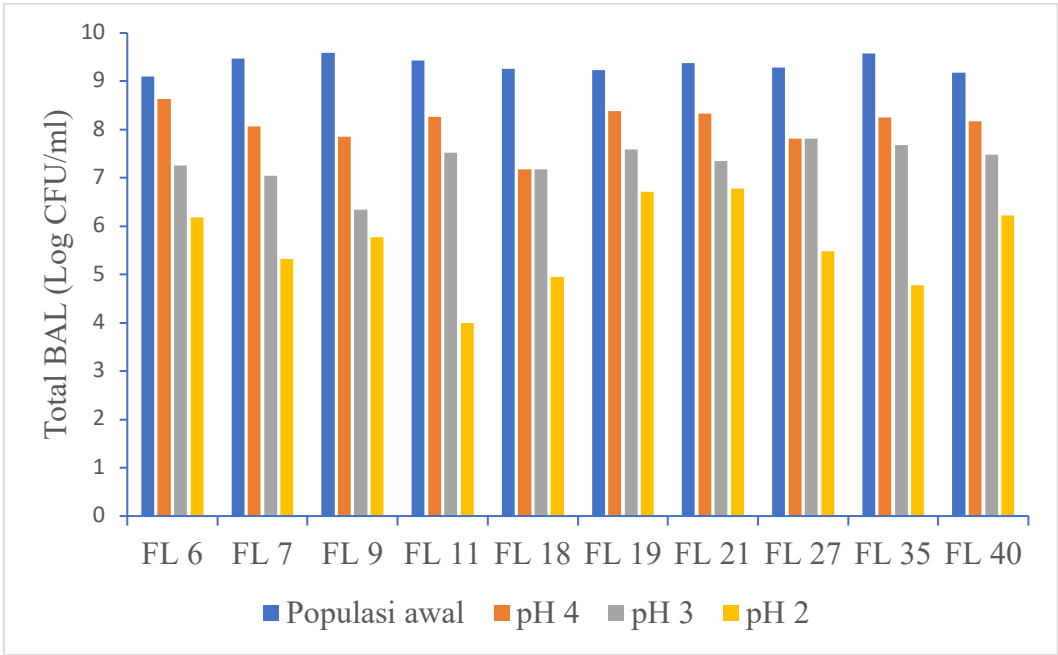
#### Uji Konfirmasi BAL

Uji konfirmasi BAL dilakukan dalam beberapa tahap yaitu uji katalase, uji gas, dan uji pewarnaan Gram yang dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2, seluruh isolat BAL dari feses luwak menunjukkan hasil

negatif terhadap uji katalase yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gelembung gas yang dihasilkan dari degradasi  $H_2O_2$ . Hal ini sesuai dengan karakteristik umum BAL sebagai bakteri anaerob fakultatif atau mikroaerofilik dan tidak memiliki enzim katalase aktif (Axelsson, 2004). Enzim katalase berfungsi menguraikan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air dan oksigen. Bakteri asam laktat tidak memproduksi enzim ini secara aktif karena BAL hidup di lingkungan dengan tekanan oksigen rendah dan tidak bergantung pada respirasi aerobik (Hutkins, 2007). Hasil pewarnaan Gram pada Tabel 2. menunjukkan bahwa semua isolat merupakan bakteri Gram-positif yang ditandai dengan pewarnaan ungu akibat struktur dinding sel yang tebal dan kaya peptidoglikan. Hal ini merupakan salah satu ciri khas dari BAL yang membedakannya dengan kelompok bakteri Gram-negatif (Carr et al., 2002). Selain itu, morfologi sel isolat berbentuk batang (*bacil*), sesuai dengan ciri-ciri genus *Lactobacillus*, salah satu genus utama dalam kelompok BAL (Klaenhammer, 1993).

Tabel 2. Karakteristik isolat BAL Feses Luwak

| Karakteristik |         |          |                 |           |
|---------------|---------|----------|-----------------|-----------|
| Kode Isolat   | Gram    | Katalase | Gas             | Morfologi |
| FL 6          | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |
| FL 7          | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |
| FL 9          | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |
| FL 11         | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |
| FL 18         | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |
| FL 19         | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |
| FL 21         | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |
| FL 27         | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |
| FL 35         | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |
| FL 40         | Positif | Negatif  | Homofermentatif | Basil     |



Gambar 1. Hasil uji ketahanan isolat BAL terhadap pH rendah

Berdasarkan Tabel 2, seluruh isolat tidak menunjukkan pembentukan gas yang menyatakan bahwa semua isolat termasuk dalam kelompok BAL homofermentatif. Bakteri asam laktat jenis ini hanya

memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolisme karbohidrat melalui jalur glikolisis *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP), tanpa menghasilkan karbon dioksida atau etanol (Carr et al., 2002).

### **Ketahanan BAL Terhadap pH Rendah**

Strain probiotik harus tahan terhadap kondisi pH rendah dan garam empedu untuk mencapai usus besar. Kondisi pH pada lambung berkisar antara 2 sampai 4 yang dapat mematikan sebagian besar mikroorganisme. Ketahanan BAL terhadap pH rendah dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1, seluruh isolat BAL menunjukkan penurunan jumlah populasi (Log CFU/mL) setelah perlakuan dalam kondisi pH rendah, yakni pH 4, pH 3, dan pH 2. Dalam kondisi awal (sebelum perlakuan), seluruh isolat memiliki populasi tinggi antara 9,1 hingga 9,6 log CFU/mL yang menandakan bahwa isolat berada dalam kondisi aktif dan sehat. Namun, setelah diberi perlakuan asam, terlihat bahwa semakin rendah nilai pH, maka semakin besar penurunan populasi BAL yang terjadi. Hal ini menunjukkan bahwa pH rendah merupakan kondisi stres yang dapat mempengaruhi viabilitas bakteri. Pada kondisi pH 4, semua isolat mampu mempertahankan populasi yang relatif tinggi, berkisar antara 7,2 hingga 8,6 log CFU/mL dengan penurunan populasi berkisar antara 0,5 hingga 2,1 log CFU/mL. Pada kondisi pH 3, populasi berkisar antara 6,3 hingga 7,8 log CFU/mL dan beberapa isolat mulai menunjukkan penurunan populasi berkisar antara 1,5 hingga 3,2 log CFU/ml di mana isolat FL 27 memiliki penurunan paling kecil dan isolat FL 9 menunjukkan penurunan paling besar.

Kondisi pH 2 merupakan kondisi lambung manusia ketika dalam keadaan perut kosong dan menjadi tekanan ekstrem bagi bakteri karena dalam kondisi ini dapat membunuh sebagian besar mikroorganisme. Pada kondisi pH 2 populasi berkisar antara 4 hingga 6,8 log CFU/mL dan sebagian besar isolat menunjukkan penurunan populasi yang besar berkisar antara 2,5 hingga 5,4 log CFU/ml. Resistensi BAL tertinggi terdapat pada FL 19 sebesar 72,8% dengan penurunan populasi sebesar 2,5 log CFU/ml, diikuti oleh FL 21 sebesar 72,3% dengan penurunan populasi sebesar 2,6 log CFU/mL, FL 6 sebesar 68% dengan penurunan populasi sebesar 2,9 log CFU/mL, dan FL 40 sebesar 67,8% dengan penurunan populasi sebesar 3 log CFU/mL.

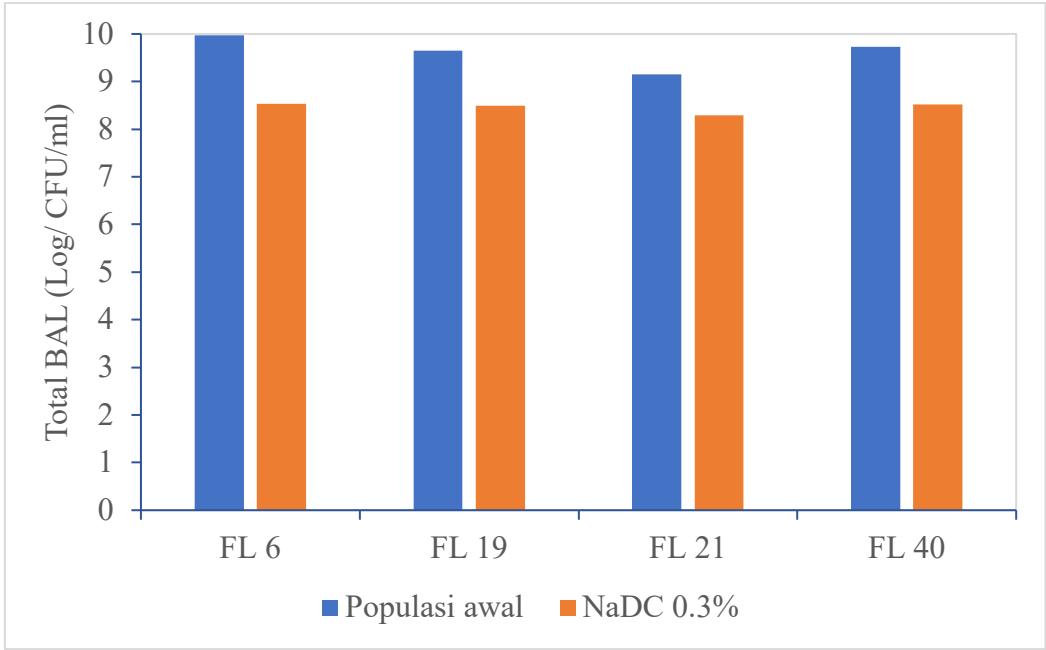
Bakteri asam laktat memiliki kemampuan adaptasi terhadap lingkungan pH rendah, salah satunya mekanisme homeostasis pH. Mekanisme ini merujuk pada kemampuan sel untuk mempertahankan kestabilan pH intraseluler, meskipun berada dalam lingkungan yang sangat asam. Salah satu mekanisme yang berperan dalam menjaga keseimbangan ini adalah enzim  $F_0F_1$ -ATPase. Enzim ini bekerja dengan cara memompa ion  $H^+$  keluar dari dalam sel menggunakan energi dari hidrolisis ATP sehingga mencegah penurunan pH sitoplasma yang dapat mengganggu proses metabolisme dan menyebabkan kerusakan sel (Corcoran et al., 2005). Menurut Beales (2004), perubahan

pH intraseluler memiliki dampak lebih besar daripada pH lingkungan. Pada kondisi lingkungan dengan pH sangat rendah, seperti pH 2, konsentrasi ion  $H^+$  di luar sel BAL jauh lebih tinggi dibandingkan di dalam sitoplasma. Perbedaan konsentrasi ini menimbulkan gradien proton yang kuat, sehingga ion  $H^+$  terdorong masuk ke dalam sel untuk mencapai keadaan setimbang sesuai prinsip hukum kesetimbangan. Hal ini menyebabkan penurunan pH sitoplasma yang berdampak pada kerusakan protein, DNA, dan membran sel sehingga aktivitas sel terhenti dan mengalami kematian (Foster, 2004; Kashket, 1987). Haller et al. (2001) menyatakan bahwa viabilitas *Lactobacillus* yang diisolasi dari berbagai sumber memiliki viabilitas 0 hingga 93% pada pH 2. Dalam studi ini menunjukkan bahwa 4 isolat menunjukkan tingkat ketahanan pH sebesar 67,8-72,3% pada pH rendah dalam waktu 4 jam. Studi lain menunjukkan isolat *Lactobacillus rhamnosus* dari ASI menunjukkan tingkat ketahanan pH yang tinggi, yaitu 81–90% pada pH 2 dan 3 (Rajoka et al., 2017). Isolat BAL dari pangan fermentasi berbasis sereal tahan terhadap pH 2, 2,5, dan 3 setelah inkubasi selama 4 jam (Adesulu-Dahunsi et al., 2018). Hasil uji ketahanan terhadap pH rendah menunjukkan bahwa empat isolat yaitu FL 6, FL 19, FL 21, dan FL 40 mampu bertahan pada pH rendah dengan populasi diatas  $10^6$  cfu/ml, kemudian keempat isolat

tersebut dilanjutkan uji ketahanan terhadap garam empedu.

### **Ketahanan BAL Terhadap Garam Empedu**

Ketahanan BAL terhadap garam empedu merupakan salah satu kriteria penting dalam seleksi kandidat probiotik karena senyawa ini secara alami terdapat dalam usus halus manusia dan dapat menyebabkan disrupsi membran sel serta denaturasi protein bakteri (Begley et al., 2006). Ketahanan BAL terhadap garam empedu dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 2, dalam kondisi awal (sebelum perlakuan), seluruh isolat memiliki populasi tinggi antara 9,1 hingga 10 log CFU/mL yang menandakan bahwa isolat berada dalam kondisi aktif dan sehat. Dalam kondisi paparan garam empedu, isolat FL 6, FL 19, FL 21, dan FL 40, menunjukkan ketahanan cukup baik terhadap paparan garam empedu (NaDC 0,3%). Resistensi BAL tertinggi pada FL 21 sebesar 91% dengan penurunan populasi sebesar 0,9 log CFU/ml, diikuti oleh FL 21 dan FL 40 sebesar 88% dengan penurunan populasi sebesar 1,2 log CFU/mL, dan FL 6 sebesar 86% dengan penurunan populasi sebesar 1,4 log CFU/mL. Hal ini menunjukkan bahwa keempat isolat BAL memiliki kemampuan adaptif dalam bertahan terhadap kondisi lingkungan yang mengandung garam empedu yang bersifat toksik terhadap bakteri.



Gambar 2. Hasil uji ketahanan isolat BAL terhadap garam empedu

Tabel 3. Diameter zona hambat terhadap *E. coli*

| Isolat      | Diameter Zona Hambat (mm) | Kategori |
|-------------|---------------------------|----------|
| Alkohol (+) | 15.3                      | Kuat     |
| FL 6        | 6                         | Sedang   |
| FL 19       | 7.3                       | Sedang   |
| FL 21       | 6.5                       | Sedang   |
| FL 40       | 6.6                       | Sedang   |

Keterangan : Alkohol merupakan kontrol positif (+)

Natrium Deoksikolat (NaDC) merupakan salah satu komponen utama dari *oxgall* atau *bile salt* komersial yang biasa digunakan dalam pengujian ketahanan probiotik terhadap garam empedu (Begley et al., 2005). NaDC merupakan garam empedu sekunder yang dihasilkan dari dehidroksilasi asam kolat oleh mikrobiota usus, namun sifatnya lebih hidrofobik dibandingkan garam empedu primer sehingga cenderung memiliki efek antimikroba yang lebih kuat (Ridlon et al., 2006). Salah satu mekanisme

BAL dalam menghadapi garam empedu adalah aktivitas enzim *bile salt hydrolase* (BSH). Enzim ini mengkatalisis reaksi dekonjugasi, yaitu pemutusan ikatan antara asam empedu dan asam amino (glisin atau taurin), sehingga menghasilkan asam empedu bebas dan menurunkan toksik senyawa tersebut bagi sel bakteri (Begley et al., 2006). Sifat toksik dari garam empedu terutama disebabkan oleh struktur steroidnya yang menyerupai deterjen, khususnya inti steroid hidrofobik dan gugus

hidroksil yang mampu menyisip ke dalam lapisan ganda lipid membran sel bakteri. Interaksi ini mengganggu kestabilan membran, meningkatkan permeabilitas, dan menyebabkan kebocoran isi sel, sehingga berdampak pada kerusakan hingga kematian sel (Hay dan Zhu, 2016). Asam empedu bebas cenderung kurang larut dalam lingkungan usus, tidak diserap lagi oleh hati serta lebih mudah mengendap sehingga akhirnya dibuang melalui feses, dan memiliki afinitas yang lebih rendah untuk berinteraksi dengan membran sel, sehingga daya toksiknya terhadap bakteri berkurang (Staley et al., 2015; Begley et al., 2006). Selain itu, asam empedu yang terdekonjugasi berkontribusi pada peningkatan sintesis asam empedu baru dari kolesterol oleh hati sehingga memberikan manfaat kesehatan seperti penurunan kolesterol (Dong et al., 2025). Beberapa penelitian melaporkan strain *Lactobacillus* mampu bertahan pada konsentrasi garam empedu hingga 1,5% (Akman et al., 2021), dan *Lactobacillus* yang diisolasi dari dektoplasma menunjukkan toleransi penuh terhadap 0,3% garam empedu selama 3 jam (Kanimozhi dan Sukumar, 2024). Demikian pula, *L. rhamnosus* menunjukkan tingkat kelangsungan hidup lebih dari 85% setelah tiga jam inkubasi dalam garam empedu 0,3% (Jiang et al., 2023). Hasil uji ketahanan terhadap garam empedu menunjukkan bahwa empat isolat yaitu FL 6, FL 19, FL 21, dan FL 40 mampu bertahan pada garam

empedu dengan populasi diatas  $10^8$  cfu/ml, kemudian keempat isolat tersebut dilanjutkan uji daya hambat terhadap *Escherichia coli*.

#### **Uji Daya Hambat BAL Terhadap *Escherichia coli***

Uji daya hambat dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat BAL dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 25922 yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3, seluruh isolat BAL menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan diameter zona hambat berkisar antara 6,0 hingga 7,3 mm dengan kategori sedang, sedangkan kontrol positif (alkohol 70%) menunjukkan zona hambat sebesar 15,3 mm dengan kategori kuat. Isolat FL 19 menunjukkan daya hambat tertinggi (7,3 mm), diikuti oleh FL 40 (6,6 mm), FL 21 (6,5 mm), dan FL 6 (6,0 mm). Meskipun daya hambat BAL masih lebih rendah dibandingkan kontrol positif, hasil ini menunjukkan bahwa isolat BAL dari feses luwak memiliki potensi sebagai agen antimikroba alami terhadap *E. coli*. Kemampuan antibakteri BAL berkaitan dengan produksi metabolit bioaktif selama pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini, BAL jenis homofermentatif menghasilkan asam laktat untuk menurunkan pH lingkungan sehingga meningkatkan jumlah ion  $H^+$  bebas di lingkungan yang dapat menembus membran sel *E. coli* dan

mengganggu pH internal sel. Akumulasi ion  $H^+$  di dalam sitoplasma menghambat aktivitas enzim, merusak transportasi membran, serta menurunkan kemampuan sel dalam mempertahankan gradien proton (Reid et al., 2003). Selain itu, beberapa BAL homofermentatif juga dapat menghasilkan hidrogen peroksida yang memiliki efek oksidatif, merusak membran, protein, dan DNA patogen (Rolfe, 2000), serta bakteriosin, yaitu peptida antimikroba yang bekerja dengan membentuk pori pada membran sel target sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler (Rajoka et al., 2017). Rajoka et al. (2017) juga menyebutkan bahwa antibakteri BAL disebabkan oleh senyawa yang dikeluarkan selama fase pertumbuhan yang berperan sebagai agen penghambat melalui berbagai mekanisme. Hasil penelitian ini sejalan dengan studi oleh Rajoka et al. (2017) yang menunjukkan bahwa *Lactobacillus rhamnosus* yang diisolasi dari ASI mampu menghasilkan zona hambat sebesar 8-12 mm terhadap *E. coli* ATCC 25922. Abushelaibi et al. (2017) melaporkan isolat *Lactobacillus* dari susu unta efektif dalam melawan *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian terbaru juga menunjukkan bahwa BAL yang diisolasi dari kolostrum memiliki sifat antibakteri kuat terhadap mikroorganisme patogen, termasuk Gram-negatif, melalui sintesis asam organik dan bakteriosin yang

dapat menyebabkan penurunan pH lingkungan dan kerusakan struktur membran mikroba (Parappilly et al., 2024).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri asam laktat (BAL) dari feses luwak berpotensi sebagai probiotik. Isolat BAL FL 6, FL 19, FL 21, dan FL 40 menunjukkan kemampuan bertahan pada kondisi pH rendah dengan tingkat ketahanan masing-masing sebesar 72,8%, 72,3%, 68%, dan 67,8%, serta mampu bertahan terhadap garam empedu dengan ketahanan sebesar 91%, 88%, 88%, dan 86%. Selain itu, keempat isolat tersebut juga memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* pada kategori sedang dengan diameter zona hambat berkisar antara 6,0 hingga 7,3 mm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah-Al-Mamun, M., Hasan, M., Azad, S., Uddin, M., Shahriyar, S., & Mondal, K. (2016). Evaluation of Potential Probiotic Characteristics of Isolated Lactic Acid Bacteria from Goat Milk. *British Biotechnology Journal*, 14(2), 1–7. <https://doi.org/10.9734/bbj/2016/26397>
- Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N. P., & Ayyash, M. (2017). Characterization of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from Camel Milk. *Lwt*, 79, 316–325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.041>
- Adesulu-Dahunsi, A. T., Jeyaram, K., & Sanni, A. I. (2018). Probiotic and Technological Properties of Exopolysaccharide Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Cereal-Based Nigerian Fermented Food Products. *Food*

- Control*, 92, 225–231.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.062>
- Akman, P. K., Ozulku, G., Tornuk, F., & Yetim, H. (2021). Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Gilaburu and Shalgam Beverages. *Lwt*, 149(April), 111705. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111705>
- Axelsson, L. 2004. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Lactic Acid Bacteria. S. Salminen, A. von Wright, and A. Ouwehand (Eds.). 3rd ed. Marcel Dekker, Inc
- Beales, N. (2004). Adaptation of Microorganisms to Cold Temperatures, Weak Acid Preservatives, Low pH, and Osmotic Stress: A Review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 3(1), 1-20. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2004.tb00057.x>
- Begley, M., Gahan, C. G. M., & Hill, C. (2005). The Interaction Between Bacteria and Bile. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(4), 625–651. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.09.003>
- Begley, M., Hill, C., & Gahan, C. G. M. (2006). Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1729–1738. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1729-1738.2006>
- Bentahar, M. C., Benabdelmoumene, D., Robert, V., Dahmouni, S., Qadi, W. S. M., Bengharbi, Z., Langella, P., Benbouziane, B., Al-Olayan, E., Dawoud, E. A. D., & Mediani, A. (2024). Evaluation of Probiotic Potential and Functional Properties of *Lactobacillus* Strains Isolated from Dhan, Traditional Algerian Goat Milk Butter. *Foods*, 13(23). <https://doi.org/10.3390/foods13233781>
- Bintsis, T. (2017). Foodborne Pathogens. *AIMS Microbiology*, 3(3), 529–563. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.529>
- Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The Lactic Acid Bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281–370. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>
- Corcoran, B. M., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., & Ross, R. P. (2005). Survival of Probiotic *Lactobacilli* in Acidic Environments is Enhanced in the Presence of Metabolizable Sugars. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(6), 3060–3067. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3060-3067.2005>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. I. Factors influencing variability and error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665. <https://doi.org/10.1128/aem.22.4.659-665.1971>
- De Chiara, I., Marasco, R., Della Gala, M., Fusco, A., Donnarumma, G., & Muscariello, L. (2024). Probiotic Properties of *Lactococcus lactis* Strains Isolated from Natural Whey Starter Cultures. *Foods*, 13(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/foods13060957>
- Dong, Z., Yang, S., Tang, C., Li, D., Kan, Y., & Yao, L. (2025). New Insights into Microbial Bile Salt Hydrolases: from Physiological Roles to Potential Applications. *Frontiers in Microbiology*, 16(February). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1513541>
- Fardiaz, S. (1993). Analisis Mikrobiologi Pangan. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. (2002). Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria.
- Foster, J. W. (2004). *Escherichia coli* Acid Resistance: Tales of an Amateur Acidophile. *Nature Reviews Microbiology*, 2(11), 898–907. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1021>
- Gilliland, S. E., Staley, T. E., & Bush, L. J. (1984). Importance of Bile Tolerance of *Lactobacillus acidophilus* Used as a Dietary Adjunct. *Journal of dairy science*, 67(12), 3045–3051. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81670-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81670-7)
- Gropper, S. S., Smith, J. L., & Groff, J. L. (2009). Advanced Nutrition and Human Metabolism Fifth Edition.
- Haller, D., Colbus, H., Gänzle, M. G., Scherenbacher, P., Bode, C., & Hammes, W. P. (2001). Metabolic and Functional Properties of Lactic Acid Bacteria in The

- Gastro-Intestinal Ecosystem: A Comparative in Vitro Study Between Bacteria of Intestinal And Fermented Food Origin. In *Systematic and Applied Microbiology* (Vol. 24, Issue 2, pp. 218–226). <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00023>
- Hay, A. J., & Zhu, J. (2016). In Sickness and in Health: The Relationships Between Bacteria and Bile in the Human Gut. In *Advances in Applied Microbiology* (Vol. 96). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2016.07.019>
- Hutkins, R. W. (2007). Microbiology and Technology of Fermented Foods. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*, 1–473. <https://doi.org/10.1002/9780470277515>
- Jiang, J., Li, K., Wang, Y., Wu, Z., Ma, H., Zheng, S., & Li, Z. (2023). Screening, Identification and Physiological Characteristics of *Lactobacillus rhamnosus* M3 (1) against Intestinal Inflammation. *Foods*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/foods12081628>
- Kanimozhi, N. V., & Sukumar, M. (2024). Characterization of *Lactobacillus* sp. Isolated from Deutoplasm for Their Probiotic Potential. *Microbe (Netherlands)*, 2(February), 100046. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100046>
- Kashket, E. R. (1987). Bioenergetics of Lactic Acid Bacteria: Cytoplasmic pH and Osmotolerance. *FEMS Microbiology Letters*, 46(3), 233–244. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(87\)90110-8](https://doi.org/10.1016/0378-1097(87)90110-8)
- Klaenhammer, T. R. (1993). Genetics of Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1–3), 39–85. [https://doi.org/10.1016/0168-6445\(93\)90057-G](https://doi.org/10.1016/0168-6445(93)90057-G)
- Madhogaria, B., Bhowmik, P., & Kundu, A. (2022). Correlation Between Human Gut Microbiome and Diseases. *Infectious Medicine*, 1(3), 180–191. <https://doi.org/10.1016/j.imj.2022.08.004>
- Maragkoudakis, P. A., Zoumpoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., & Tsakalidou, E. (2006). Probiotic Potential of *Lactobacillus* Strains Isolated from Dairy Products. *International Dairy Journal*, 16(3), 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.02.009>
- Nocianitri, K. A. 2023. Aplikasi Bakteri Asam Laktat dari Kopi Feses Luwak untuk Pengembangan Bioproses Fermentasi Kopi Robusta. Laporan Hasil Penelitian. Universitas Udayana, Bali. *Unpublish*.
- Parappilly, S. J., Radhakrishnan, E. K., & George, S. M. (2024). Antibacterial and Antibiofilm Activity of Human Gut Lactic Acid Bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 55(4), 3529–3539. <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01530-8>
- Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., & Soccol, C. R. (2008). Trends in Non-Dairy Probiotic Beverages. *Food Research International*, 41(2), 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.10.010>
- Puspawati, N. N., & Arihantana, N. M. I. H. (2016). Viability of Lactic Acid Bacteria Isolated from Kombucha Tea Against Low pH and Bile Salt. *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 3(1), 18–25.
- Reid, G., Jass, J., Sebelsky, M. T., & McCormick, J. K. (2003). Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(4), 658–672. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.4.658-672.2003>
- Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Siddiq, M., Haobin, Z., Zhu, J., Yan, L., Shao, D., Xu, X., & Shi, J. (2017). Identification, Characterization, And Probiotic Potential of *Lactobacillus Rhamnosus* Isolated From Human Milk. *Lwt*, 84, 271–280. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.055>
- Ridlon, J. M., Kang, D. J., & Hylemon, P. B. (2006). Bile Salt Biotransformations by Human Intestinal Bacteria. *Journal of Lipid Research*, 47(2), 241–259. <https://doi.org/10.1194/jlr.R500013-JLR200>
- Rolfe, R. D. (2000). Symposium : Probiotic Bacteria : Implications for Human Health The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health 1. *Journal of Nutrition*, 130(2), 396S–402S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.2.396S>
- Salminen, S., Von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., De Vos, W. M., Fondén, R., Saxelin, M., Collins, K., Mogensen, G., Birkeland, S. E., & Mattila-

- Sandholm, T. (1998). Demonstration of Safety of Probiotics - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 44(1-2), 93-106. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00128-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00128-7)
- Schillinger, U., Lucke, F. K. (1989). Antibacterial Activity of *Lactobacillus* Sake Isolated from Meat. *Applied and environmental microbiology*, 55(8), 1901-1906. <https://doi.org/10.1128/aem.55.8.1901-1906.1989>
- Slattery, C., Cotter, P. D., & O'Toole, P. W. (2019). Analysis of Health Benefits Conferred by *Lactobacillus* species from Kefir. *Nutrients*, 11(6), 1-24. <https://doi.org/10.3390/nu11061252>
- Soleimani, H., Shokri, R., Nami, Y., Khandaghi, J., & Panahi, B. (2023). Potential Probiotic Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Duimaj, An Iranian Traditional Snack Food, Using Biochemical, Molecular and Computational Approaches. In *Lwt* (Vol. 184). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115091>
- Staley, C., Weingarden, A. R., Khoruts, A., & Sadowsky, M. J. (2017). Interaction of Gut Microbiota with Bile Acid Metabolism and Its Influence on Disease States. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(1), 47-64. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8006-6>
- Sujaya, I., Nocianitri, K., Aryantini, N., Nursini, W., Ramona, Y., Orikasa, Y., Kenji, F., Urashima, T., & Oda, Y. (2016). Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Isolat Susu Segar Sapi Bali. *Jurnal Veteriner*, 17(2), 155-167. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.2.155>
- Wasilewski, A., Zielińska, M., Storr, M., & Fichna, J. (2015). Beneficial Effects Of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Psychobiotics in Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(7), 1674-1682. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000364>
- Wei, G., Wang, D., Wang, T., Wang, G., Chai, Y., Li, Y., Mei, M., Wang, H., & Huang, A. (2025). Probiotic Potential and Safety Properties of *Limosilactobacillus fermentum* A51 with High Exopolysaccharide Production. *Frontiers in Microbiology*, 16(January), 1-17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1498352>
- Zavaglia, A. G., Kociubinski, G., Pérez, P., & De Antoni, G. (1998). Isolation and Characterization of *Bifidobacterium* Strains for Probiotic Formulation. *Journal of food protection*, 61(7), 865-873. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-61.7.865>