



JLabMed

Journal Homepage: <http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>

e-ISSN: 2549-9939

PENGARUH pH MEDIA MRSA TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Lactobacillus casei* DAN *Lactobacillus reuteri*

Maria Berlina Purba¹, Yus Hargono Cahyaning Yudi*¹, Maria Arieni Eka Devina Sihotang¹, Yulin Wilasti¹

¹PPPOMN (Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan), Badan Pengawas Obat dan Makanan

***Corresponding Author:**

Yus Hargono Cahyaning Yudi

PPPOMN (Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional), BPOM Jl Percetakan Negara No. 23, Jakarta 10560

Email: yushargono22@gmail.com

ABSTRACT

Humans can obtain health benefits by consuming probiotics such as *Lactobacillus casei* and *L. reuteri*. To test the viability of probiotics, an optimum pH of the medium is needed for their growth. This study used 2 products, namely yogurt and powdered milk, with 2 solvent treatments (PSS and MRSB) and 2 pH MRSA media, namely pH 5.6 and 6.5. The ALT was determined after a 72-hour anaerobic incubation at 38°C. The results showed that *L. casei* grew both at pH 5.6 and at pH 6.5. The results of the t-test, with a significance level of 0.05, showed that there was a significant difference when using different solvents. *L. reuteri* grew best in MRSB solvent with MRSA media pH 6.5 (probiotic count 6.6 x 10⁶ colonies/mL).

Keywords: *Lactobacillus*, pH medium, Probiotic

ABSTRAK

Manusia dapat memperoleh manfaat kesehatan dengan mengonsumsi probiotik seperti *Lactobacillus casei* dan *L. reuteri*. Untuk menguji viabilitas probiotik, maka diperlukan pH media optimum untuk pertumbuhannya. Penelitian ini menggunakan 2 produk yaitu yogurt dan susu bubuk dengan perlakuan 2 pelarut (PSS dan MRSB) dan 2 pH media MRSA yaitu pH 5,6 dan 6,5. Cawan petri diinkubasi pada suhu 38°C selama 72 jam secara anaerob lalu dihitung ALTnya. Hasil penelitian menunjukkan *L. casei* tumbuh baik pada pH media 5,6 maupun pada pH media 6,5. Hasil uji t dengan signifikansi 0,05 menunjukkan ada perbedaan yang signifikan bila menggunakan pelarut berbeda. *L. reuteri* tumbuh optimum pada pelarut MRSB dengan pH media MRSA 6,5 (jumlah probiotik 6,6 x 10⁶ koloni/mL).

Kata Kunci: *Lactobacillus*, pH Media, Probiotik

Pendahuluan

Probiotik adalah mikroorganisme tunggal atau campuran dalam kondisi hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah memadai maka dapat memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh manusia (FAO/WHO, 2002). Mikroorganisme yang biasanya dipakai adalah *Lactobacillus* spp. (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*) dan *Bifidobacterium* spp. (Shah, 2000). Mikroorganisme *L. casei* umumnya dipakai dalam produk yogurt sedangkan *L. reuteri* dipakai dalam produk susu

Info Artikel:

Diterima: 17/10/2021

Direvisi: 28/10/2021

Disetujui: 22/11/2021

bubuk. Kedua produk tersebut banyak dikonsumsi oleh konsumen di Indonesia sesuai dengan tingkat umurnya.

Produk yang mengandung probiotik termasuk dalam kategori suplemen kesehatan. Badan POM sebagai instansi pemerintah memiliki wewenang untuk melakukan pengawasan produk suplemen kesehatan mengandung probiotik. Salah satu kriteria dalam pengawasan adalah kesesuaian jumlah sel hidup probiotik dibandingkan jumlah yang diklaim produsen (tertera pada kemasan produk).

Pengujian jumlah probiotik menggunakan metode Angka Lempeng Total (ISO:20128, 2006). Prinsipnya adalah menumbuhkan dan menghitung koloni bakteri setelah cuplikan diinokulasikan pada media lempeng agar dengan cara tuang dan diinkubasi pada 38°C selama 72 jam secara anaerob. Banyak jurnal yang menganjurkan memakai media MRSA/ *deMan Rogosa Sharpe Agar* (Ravula dan Shah, 1998; Shah, 2000; Leuschner, 2003; Simpson *et al.*, 2004; Castele *et al.*, 2006; ISO:20128, 2006; Davis, 2014). Namun pH media berpengaruh terhadap jumlah koloni yang tumbuh saat pengujian.

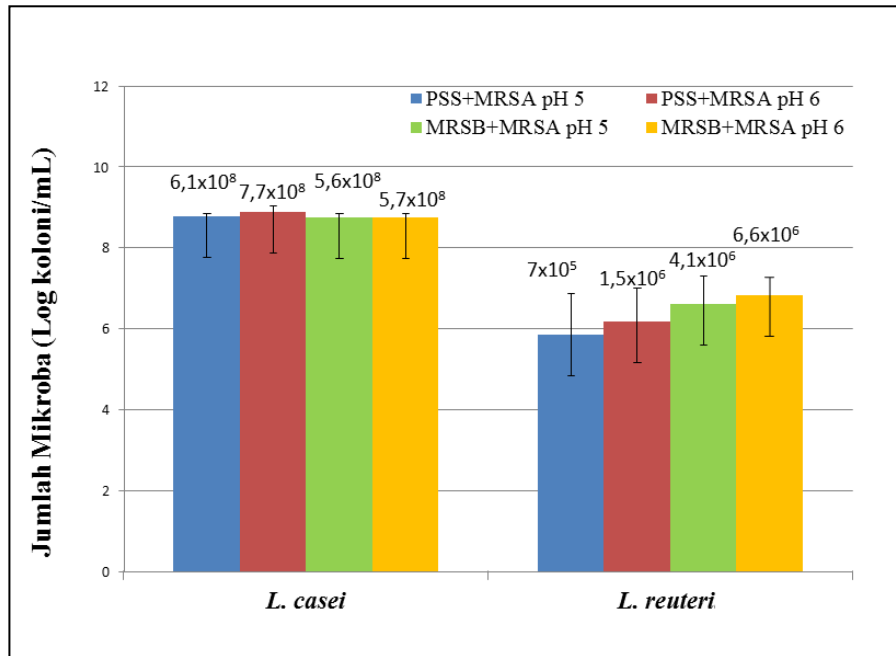
Setiap spesies bakteri probiotik memiliki pH optimum media untuk tumbuh. Menurut Shah (2000) pH media 5,2±0,4 sesuai untuk pertumbuhan *L. delbrueckii* Sub sp.*bulgaricus*. Menurut Ravula dan Shah (1998) pH media ± 5 sesuai untuk pertumbuhan *L. casei*. Namun saat ini belum ada penelitian tentang pH optimum media untuk *L. reuteri* padahal diperlukan pengawasan produk probiotik tersebut. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pH media MRSA terhadap pertumbuhan bakteri *L. casei* dan *L. reuteri*.

Metode

Bahan yang digunakan adalah pelarut PSS, Larutan Pepton 0,1%, *Lactobacilli MRS Agar* pH 5,6 (Merck), *Lactobacilli MRS Agar* pH 6,5 (Difco), *Lactobacilli MRS Broth* (Difco), Indikator anaerob/ *AnaerocultTM A* (Merck), produk yogurt X, produk susu bubuk Y dan akuades. Metode menggunakan acuan ISO (2006) yaitu sampel diambil secara aseptis 10 mL (produk yogurt) dan 10 gram (produk susu bubuk). Perlakuan pelarut MRSB maka sampel ditambahkan 90 mL *Lactobacilli MRS broth*, sedangkan perlakuan pelarut PSS maka sampel ditambahkan 90 mL PSS. Kedua kelompok perlakuan dikocok homogen menggunakan *stomacher* pada 230 rpm selama 2 menit. Kemudian didiamkan 30 menit (suhu ruang) lalu dihomogenkan lagi 230 rpm selama 2 menit (sebagai suspensi pengenceran 10⁻¹). Lalu membuat pengenceran 10⁻² dengan mengambil 1 ml ditambah 9 mL pengencer pepton. Dibuat pengenceran bertingkat sampai 10⁻⁶ untuk sampel produk susu dan pengenceran 10⁻⁹ untuk produk yogurt. Pada kelompok perlakuan pertama, dari setiap pengenceran dipipet 1 mL ke dalam cawan Petri ditambah 15 mL MRSA pH 5,6 (Merck) dan dibuat triplo. Pada kelompok perlakuan kedua, dari setiap pengenceran dipipet 1 mL ke dalam cawan Petri ditambah 15 mL MRSA pH 6,5 (Difco) dan dibuat triplo. Selain itu, dibuat kontrol media dan kontrol pelarut. Setelah media memadat, cawan diinkubasi pada 38°C selama 72 Jam dengan kondisi anaerob. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung. Jumlah koloni yang masuk kriteria adalah antara 25- 250 koloni. ALT dihitung dengan merata-ratakan jumlah mikroba pada ketiga cawan Petri. Analisis data dilakukan dengan Uji t (uji Parsial) menggunakan program SPSS 23 dengan derajat signifikansi 0,05.

Hasil

Hasil penelitian tertera pada Gambar 1. Data dianalisis dengan Uji t menunjukkan hasil (Tabel 1) bahwa perlakuan pelarut PSS dan MRSB terhadap pertumbuhan koloni *L. reuteri* diperoleh nilai t = -88,390 dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 < 0,005. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara pertumbuhan koloni *L. reuteri* pada pelarut PSS (7 x 10⁵ koloni/mL) dengan pertumbuhan koloni *L. reuteri* pada pelarut MRSB (4,1 x 10⁶ koloni/mL). Nilai t = -88,390 (nilai negatif) menunjukkan jumlah koloni pada kelompok pertama (PSS) lebih rendah dibanding kelompok kedua (MRSB).



Gambar 1. Pengaruh Pelarut dan pH MRSA terhadap pertumbuhan bakteri *L. casei* dan *L. reuteri*

Tabel 1. Hasil Uji Statistik (Uji t) dengan Sig. 0,05.

Variabel	Hasil Uji statistik	
	t	Sig.
Pertumbuhan <i>L. casei</i>		
a. Pelarut (PSS-MRSB)	20,106	0,000
b. pH Media (5 – 6)	-36,339	0,000
Pertumbuhan <i>L. reuteri</i>		
a. Pelarut (PSS-MRSB)	-88,390	0,000
b. pH Media (5 – 6)	-22,942	0,000

Diskusi

Probiotik *L. casei* tumbuh baik pada pH media 5,6 (produk Merck) maupun pada pH media 6,5 (produk Difco). Pada gambar 1 terlihat jumlah koloni *L. casei* pada empat perlakuan relatif sama yaitu sekitar $6,1 \times 10^8$ koloni/mL. Namun setelah dianalisis dengan uji t (Tabel 1) menunjukkan ada perbedaan signifikan (Sig. 0,000 < 0,005) antara pertumbuhan koloni *L. casei* pada pH media 5,6 dengan pH media 6,5. Koloni *L. casei* tumbuh lebih baik pada pH media MRSA 6,5. Hasil ini berbeda dengan penelitian Ravula dan Shah (1998) yang menyebutkan *L. casei* tumbuh baik pada pH media ± 5 . Perbedaan ini disebabkan oleh karakteristik *L. casei* yang lebih optimum tumbuh pada media kurang asam (sekitar pH 6). Menurut Slizewska dan Chlebicz-Wojcik (2020) *Lactobacillus* yang ditumbuhkan pada pH media 6 menunjukkan jumlah tertinggi dibanding pH media lainnya. Lebih lanjut disebutkan *Lactobacillus* (dan bakteri asam laktat lainnya) saat inkubasi memproduksi laktat maupun asetat (keduanya memiliki aktivitas antimikroba) yang mengakibatkan turunnya pH pada media (Slizewska dan Chlebicz-Wójcik, 2020). Jika awalnya pH media 5, lalu 24-72 jam inkubasi pH turun di bawah 4 maka memberi efek *Lactobacillus* kurang beradaptasi dan berkembang di kondisi tersebut.

Pertumbuhan koloni *L. reuteri* optimum pada pelarut MRSB dengan pH media MRSA 6,5. Hasil uji t dengan signifikansi 0,05 menunjukkan ada perbedaan yang signifikan bila menggunakan pelarut berbeda. *L. reuteri* tumbuh optimum pada pelarut MRSB. Menurut Vinderolla (2011) pelarut MRSB mampu mengurangi kemampuan adesi *Lactobacillus* pada

substrat/ sampel. Banyak bakteri yang terlarut pada saat homogenisasi sampel susu bubuk dengan pelarut MRSB apalagi ditambah proses mendiamkan sampel 30 menit di suhu ruang (Lim, 2010).

L. reuteri tumbuh optimum pada pH media MRSA 6,5. Hasil ini sejalan dengan penelitian (Ślizewska dan Chlebicz-Wójcik, 2020) bahwa *Lactobacillus* yang ditumbuhkan pada pH media 6 menunjukkan jumlah tertinggi dibanding pH media lainnya.

Simpulan

Simpulan penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan bila menggunakan pelarut berbeda. *L. reuteri* tumbuh optimum pada pelarut MRSB dengan pH media MRSA 6,5 (jumlah probiotik $6,6 \times 10^6$ koloni/mL).

Referensi

- Castele, V. De et al. (2006) 'Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starters', *International Dairy Journal*, 16, pp. 1470–1476.
- Davis, C. (2014) 'Enumeration of probiotic strains: Review of culture-dependent and alternative techniques to quantify viable bacteria', *Journal of Microbiological Methods*, 103, pp. 9–17. doi: 10.1016/j.mimet.2014.04.012.
- FAO/WHO (2002) *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*.
- ISO:20128 (2006) *Milk products — Enumeration of presumptive Lactobacillus acidophilus on a selective medium — Colony-count technique at 37 °C*. Available at: <https://www.iso.org/standard/35292.html>.
- Leuschner, R. (2003) 'A collaborative study of a method for the enumeration of probiotic bifidobacteria in animal feed', *International Journal of Food Microbiology*, 83(2), pp. 161–170. doi: 10.1016/S0168-1605(02)00365-3.
- Lim, S. M. (2010) 'Cultural conditions and nutritional components affecting the growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* KC21', *Food Science and Biotechnology*, 19(3), pp. 793–802. doi: 10.1007/s10068-010-0111-1.
- Ravula, R. R. and Shah, N. P. (1998) 'Selective enumeration of *Lactobacillus casei* from yogurts and fermented milk drinks', *Biotechnology Techniques*, 12(11), pp. 819–822. doi: 10.1023/A:1008829004888.
- Shah, N. P. (2000) 'Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods', *Journal of Dairy Science*, 83(4), pp. 894–907. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)74953-8.
- Simpson, P. J. et al. (2004) 'The evaluation of a mupirocin-based selective medium for the enumeration of bifidobacteria from probiotic animal feed', *Journal of Microbiological Methods*, 57(1), pp. 9–16. doi: 10.1016/j.mimet.2003.11.010.
- Ślizewska, K. and Chlebicz-Wójcik, A. (2020) 'Growth Kinetics of Probiotic *Lactobacillus* Strains in the Alternative, Cost-Efficient Semi-Solid Fermentation Medium', *Biology*, 9(12), p. 423. doi: 10.3390/biology9120423.
- Vinderolla, et al. 2011. Cell Viability and Functionality of probiotic Bacteria in Dairy Products, *Frontier in Microbiology*, 2 (MAY), doi: 10.3389/fmicb.2011.00070.