

PROFIL PROTEIN BAKTERI ASAM LAKTAT ISOLAT AIR SUSU IBU

Sri Sinto Dewi ¹⁾, Tulus Ariyadi ²⁾

¹⁾²⁾ Program studi Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Semarang

ABSTRAK

*Air susu ibu (ASI) merupakan makanan pertama yang diberikan untuk bayi yang baru lahir, pada ASI ditemukan bakteri asam laktat yang mampu menjaga keseimbangan mikroflora saluran pencernaan dari bakteri patogen. Penelitian ini bertujuan ingin mengetahui profil protein bakteri asam laktat isolat ASI yang mempunyai viabilitas terhadap asam dan empedu dengan menggunakan metode SDS-PAGE. Tahap penelitian meliputi isolasi bakteri asam laktat, aktivasi kultur bakteri asam laktat, isolasi protein, separasi protein dan perhitungan berat molekul. Kultur yang digunakan adalah bakteri asam laktat isolate ASI. Hasil identifikasi bakteri asam laktat adalah *Pediococcus acidilactic* dan *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*. Separasi menunjukkan bakteri asam laktat isolat ASI mempunyai pita mayor dengan berat molekul 55 kDA dan 43 kDA serta mempunyai pita minor yang bervariasi dengan berat molekul yang paling rendah 8 kDA.*

Kata kunci : BAL ASI, Protein, SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Air susu ibu (ASI) merupakan makanan pertama dan terbaik yang diberikan untuk bayi, karena kandungan laktosa dan garam organik yang di sekresi oleh kelenjar mammae dari ibu laktasi, serta mengandung faktor bifidus yang berfungsi untuk pertumbuhan bakteri *Lactobacillus bifidus* yang mampu menghambat bakteri patogen (Muchtadi, 2002)

Penelitian Djide (2008) mampu mengisolasi bakteri probiotik dari ASI yaitu genus *Lactobacillus* yang dapat berpotensi dapat menurunkan kolesterol. Air susu ibu berpotensi sebagai penghasil probiotik karena air susu ibu mengandung glikoprotein dan *N acetylglucosamin* untuk pertumbuhan bakteri probiotik.

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang bersifat Gram positif, tidak berspora, tidak mempunyai sitokrom, aerotoleran, bersifat anaerobik hingga mikroaerofilik, berbentuk bulat atau batang yang menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat, H₂O₂, antimikroba dan anti kanker. Bakteri asam laktat mampu bertahan dalam saluran pencernaan dapat memberikan kontribusi terhadap kesehatan (Januarsah, 2007).

Metabolisme bakteri asam laktat yang digunakan dalam pembuatan yogurt mampu menghidrolisis kasein menjadi protein yang lebih kecil dan diduga mampu mengaktifkan fungsi dari protein, yogurt yang dicampur dengan *Lactobacillus acidophilus* dan

Streptococcus termophyllus mempunyai protein yang spesifik (Khoiriyah & Fatchiyah, 2013)

Bakteri asam laktat mampu menghasilkan bakteriosin yang berfungsi untuk menghambat bakteri pathogen dalam saluran pencernaan. Bakteriosin merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang mampu menghambat bakteri pathogen. Bakteriosin ini banyak dimanfaatkan sebagai pengawet alami dan berpotensi sebagai antibakteri dalam bidang farmasi (Sifour *et al*, 2012). Kandungan protein dalam sel bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan teknik elektroforesis dengan menggunakan gel poliakrilamide yang ditambah sodium dodecylsulphate (SDS) yang berfungsi mendisosiasikan protein menjadi sub unit yang lebih kecil. Dalam penelitian ini mengetahui profil protein bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan bakteriosin.

METODE

Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri asam laktat dari air susu ibu laktasi meliputi : pengayaan, kultur, pemurnian, uji biokimia. Penyuburan bakteri asam laktat dengan media MSR Broth dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian suspensi biakan dikultur pada media MRS Agar yang ditambah CaCO₃ 1%, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam. Koloni yang tumbuh diamati, jika terdapat pertumbuhan koloni yang membentuk zona bening disekitar koloni dan dilakukan uji katalase dengan hasil negatif, maka bakteri tersebut adalah bakteri asam laktat, kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopik untuk melihat bentuk sel bakteri dan sifat terhadap pengecatan Gram. Koloni yang

membentuk zona bening diisolasi pada media MRS Agar yang baru untuk dimurnikan. Bakteri yang sudah murni diperbanyak dan disimpan dalam media Gliserol 20% atau mikrobank.

Aktivasi kultur BAL

Digunakan isolat dari media MRS gliserol 20%, kultur bakteri diremajakan pada media MRS agar di inkubasi pada suhu 37° C selama 24-48 jam untuk mengaktifkan bakteri. Kemudian di inokulasikan pada media MRS broth sebanyak 1 ose dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Isolasi Protein

Sampel sebanyak 10 mL disentrifuge 3000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C, pellet diresuspensi dengan PBS dan ditambah PBS hingga 10 mL sentrifuge kembali 3000 rpm selama 20 menit pada suhu 4 C , pellet diresuspensi 0,5 mL PBS kemudian disonikasi 5 kali 30 detik dalam es . Dipindahkan ke ependof dan disentrifuge kembali 12000 rpm selama 5 menit, supernatant dipindahkan ke ependof untuk diukur konsentrasi proteinnya Nanospektro.

Analisis SDS-PAGE

Isolasi profil protein bakteri asam laktat dengan SDS-PAGE menurut metode Laemmli (1970) disiapkan plat glas, spaser, sisir yang telah dibersihkan dengan detergen dan alkohol 70% untuk pencetak gel. Setelah alat pencetak gel disiapkan, dimasukkan 4 ml larutan 12 % sebagai gel pemisah, kemudian ditambahkan butanol untuk menutup permukaan larutan secukupnya, ditunggu 30-60 menit sampai terjadi polimerisasi. Selanjutnya gel dibersihkan dengan menyemprotkan aquades ke permukaannya, sisir dimasukkan, dan gel pemampat yang telah

disiapkan dimasukkan pula, ditunggu selama 30 menit atau sampai terjadi polimerisasi, sisir diambil, gel siap digunakan. Selanjutnya gel yang telah mengalami polarisasi dipasang pada Biorat mini protein II, kemudian ditambahkan ke dalamnya larutan elektroda bufer pH 8,3.

Sampel disiapkan, sampel ditambah 5x sampel bufer dengan perbandingan 4:1 (v/v), setelah itu campuran tersebut dipanaskan selama 2 menit didalam air yang telah mendidih. Sampel selanjutnya siap dimasukkan ke dalam gel, setelah itu diberi aliran listrik dengan tegangan 100 volt hingga bromo phenol blue keluar dari bagian bawah gel.

Gel diambil, selanjutnya diwarnai dengan 0,1% *Coomassie Brilliant Blue R-250* selama 30-60 menit hingga pita-pita protein terwarnai. Selanjutnya untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak mengandung protein diberi larutan destaining, larutan destaining diganti 3-4 kali hingga gel tampak bersih. Kemudian untuk menentukan berat molekul protein yang diinginkan dihitung Rf nya dan diplotkan pada grafik logaritmik dari Rf marker protein yang berat molekulnya telah diketahui.

HASIL DAN PEMBAHASAN

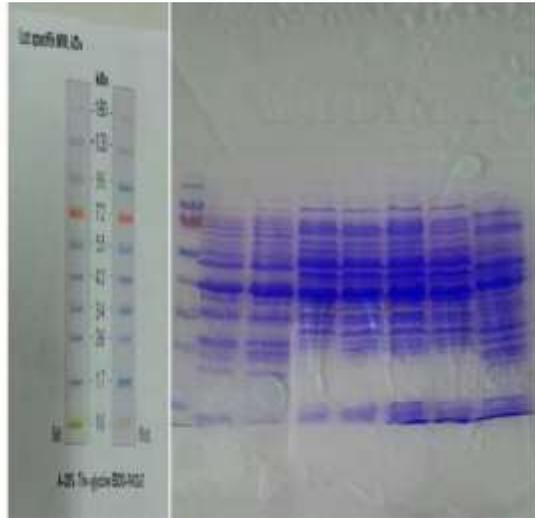
Hasil isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat adalah *Pediococcus acidilactic* dan *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*.

Analisis protein dengan metode elektroforesis digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekul dengan menggunakan akrilamid. Protein akan terpisah karena adanya proses separasi, molekul protein akan bermigrasi dari kutub negatif menuju kutub positif yang dibantu dengan adanya aliran listrik, sehingga dapat memisahkan

molekul protein berdasarkan tingkat migrasi dan berat molekulnya dalam sebuah medan listrik yang dialiri (Yuwono, 2005).

Menurut Cavalli et al (2006) untuk menentukan berat molekul protein dilakukan dengan menghitung Rf dari masing-masing pita dengan marker yang sudah diketahui. Pemeriksaan elektroforesis dari bakteri asam laktat isolat ASI, didapatkan hasil pita yang dihitung panjang *Retardation factor* (RF) sehingga berat molekul sampel dapat diketahui dengan menggunakan marker protein untuk mengidentifikasi berat molekul dari campuran polipeptide.

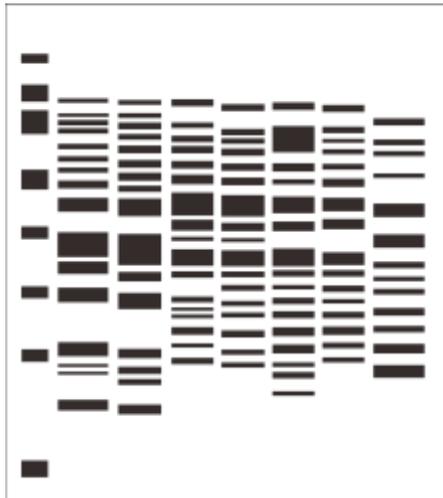
Hasil elektroforesis isolat 1 terdapat 5 pita mayor dengan berat molekul 55kDA, 43kDA, 34kDA, 26kDA, 18kDA dan 4 pita minor dengan berat molekul 96kDA, 84kDA, 72kDA, 21kDA. Hasil elektroforesis isolat 2 terdapat 3 pita mayor dengan berat molekul 55kDA, 43kDA, 34kDA dan terdapat 9 pita minor. Pada sampel isolat 3 terdapat 3 pita mayor dengan berat molekul 72kDA, 55kDA, 46kDA dan 11 pita minor. Isolat 4 terdapat 3 pita mayor dengan berat molekul 72kDA, 55kDA, 46kDA dan terdapat 5 pita minor. Pada isolat 5 terdapat dengan berat molekul 72kDA, 55kDA, 43kDA, dan 11 pita minor. Sedangkan pada isolat 6 terdapat 3 pita mayor dengan berat molekul 66kDA, 55kDA dan 43kDA serta terdapat 7 pita minor. Pada isolat 7 terdapat 2 pita mayor dengan berat molekul 55kDA, 43kDA serta 13 pita minor. *Lactobacillus* isolat ASI mempunyai rata-rata pita mayor 55kDA dan 43kDA serta pita minor yang bervariasi dengan berat terendah 8kDA. Intensitas warna pada pita dipengaruhi banyak sedikitnya berat molekul.



Gambar 1 : Separasi SDS-PAGE bakteri asam laktat Isolat ASI

Keterangan :

- | | |
|------------|----------|
| M = Marker | |
| 1 = Sr1 | 4 = F1 |
| 7 = C2.1 | |
| 2 = Sr2 | 5 = A2.5 |
| 3 = W1 | 6 = C1.2 |



Gambar 2 : Visualisasi representasi pita protein bakteri asam laktat isolat ASI

SIMPULAN

Bakteri asam laktat isolat ASI mempunyai pita mayor dengan berat molekul 55 kDA dan 43 kDA serta mempunyai pita minor yang bervariasi dengan berat molekul yang paling rendah 8 kDA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kemenristek Dikti yang telah mendanai Penelitian Hibah Kerjasama Antar Perguruan Tinggi tahun 2015-2016. Program Desentralisasi Universitas Muhammadiyah Semarang.

DAFTAR PUSTAKA

- Cavalli SV., SV Silva,C
Cimino.F.X.Malcata,
.Priolo.2006. Hidrolysis of
Caprine and Ovine milk
protein, Brought about by
Aspartic Peptidases from Silybum
marianum Flowers: Argentina-
Portugal.pp.1-7
- Djide M.N, Wahyudin E. 2008. Isolasi
Bakteri Asam Laktat dari Air
Susu Ibu, dan Potensinya dalam
penurunan kadar kolesterol secara
in vitro. Majalah Farmasi dan
Farmakologi Vol. 12, No. 3-
Nopember 2008 (ISSN:1410-
7031)
- Januarsyah,T.2007. Kajian Aktivitas
Hambat Bakteriosin dari Bakteri
Asam Laktat Galur SCG 1223.
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian
Bogor.Bogor
- Khoiriyah, L.K & Fatchiyah F.2013.

Karakter Biokimia dan Profil Protein Yogurt Kambing PE Difermentasi Bakteri Asam Laktat (BAL). *The Journal of Experimental Life Science* 3, No.1. (In Press)

Muchtadi, Deddy. 2002. Gizi untuk Bayi. ASI, Susu Formula dan Makanan Tambahan. Jakarta. Pustaka Sinar Harapan.

Sifour, M., Tayeb, L., Haddar, H.O., Namous, H., and Aissaoui, S., 2012. Production and Characterization of Bacteriosin of *Lactobacillus plantarum* F12 with Inhibition Activity Against *Listeria monocytogenes*, TOJSAT, 2(1):55-61

Yuwono, Triwibowo. 2005. *Biologi Molekuler*. Jakarta. Erlangga