

PERBANDINGAN JUMLAH *Lactobacillus acidophilus* PADA MEDIA deMan Rogosa Sharpe (MRS) DENGAN ATAU TANPA PENAMBAHAN DAUN KELOR (*Moringa oleifera*)

Rizqy Fadhla Sasmita, Iis Herawati, Diki Hilmi

Prodi Teknologi Laboratorium Medis (D3)

Fakultas Ilmu dan Teknologi Kesehatan UNJANI

ABSTRAK

Latar belakang: Pangan probiotik merupakan makanan/minuman yang mengandung sejumlah bakteri hidup yang memberi efek yang menguntungkan kesehatan. Salah satu contoh pangan probiotik yaitu yoghurt. *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri yang banyak digunakan sebagai bahan dasar pembuatan yoghurt. Untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri yang ada di yoghurt dibutuhkan prebiotik salah satunya adalah daun kelor.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daun kelor dalam menyuburkan pertumbuhan atau sebagai antimikroba terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan untuk menghitung jumlah bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media MRS dengan atau tanpa penambahan daun kelor.

Metode: Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Sampel dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus acidophilus*. Konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) pada medium deMan Rogosa Sharpe (MRS) yang digunakan adalah 0%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%. Hitung jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus* pada media MRS dengan atau tanpa penambahan daun kelor ini menggunakan metode hitung cawan (Total Plate Count).

Hasil dan Kesimpulan: Hasil hitung jumlah rerata koloni pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* pada media MRS dengan daun kelor konsentrasi 0% sebanyak 246 koloni, 1% sebanyak 168 koloni, 2% sebanyak 168 koloni, 4% sebanyak 236 koloni, 6% sebanyak 151 koloni, adapun pada konsentrasi 8% dan 10% tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Berdasarkan hasil hitung jumlah koloni, penambahan daun kelor optimal sebagai prebiotik pada konsentrasi 4% dengan jumlah rata-rata sebanyak 236 koloni. Penambahan daun kelor mulai berperan sebagai antimikroba dilihat dari penurunan jumlah koloni bakteri pada konsentrasi 6% (151 koloni) dan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 8% dan 10%.

Kata kunci : *Lactobacillus acidophilus*, daun kelor, probiotik, prebiotik. MRS.

PENDAHULUAN

Probiotik adalah suatu bahan yang mengandung mikroba hidup yang digunakan untuk mengatur keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan (Azizah, et al., 2020). Pangan probiotik merupakan makanan/minuman yang mengandung sejumlah bakteri hidup yang memberi efek yang

menguntungkan kesehatan. Pangan probiotik yang telah lamadikenal antara lain produk susu fermentasi oleh bakteri asam laktat seperti yoghurt, yakult, dan lain-lain. Selain mempunyai nilai nutrisi yang baik, produk tersebut memberi manfaat kesehatan. Manfaat ini diperoleh akibat terbawanya bakteri-bakteri

hidup ke dalam saluran pencernaan yang mampu memperbaiki komposisi mikroflora usus sehingga mengarah pada dominasi bakteri-bakteri yang menguntungkan (Yuniastuti, 2015). Probiotik dapat menekan pertumbuhan mikroba patogen sehingga mikroba yang menguntungkan dapat berkembang dengan baik. Probiotik yang banyak dimanfaatkan adalah bakteri asam laktat (Azizah, et al., 2020)

Bakteri asam laktat mampu memproduksi asam organik, metabolit primer dan menurunkan pH lingkungannya dengan mengekresikan senyawa yang mampu menghambat bakteri patogen (Rahmiati & Mumpuni, 2017). Keberadaan bakteri asam laktat dalam saluran pencernaan penting untuk menjaga keseimbangan ekosistem mikroflora dalam usus. Bakteri-bakteri tersebut menunjukkan aktivitas penghambat terhadap bakteri patogen. Mikroflora yang digolongkan sebagai probiotik adalah Bakteri Asam Laktat (BAL) yang dapat memproduksi asam laktat terutama dari golongan *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* (Dewi L. F., Sartini, & Rahmiati, 2019).

Lactobacillus acidophilus yang termasuk dalam marga *Lactobacillus* sp. merupakan bakteri flora normal saluran pencernaan, bakteri tersebut mempunyai peran penting dalam menjaga kesehatan saluran pencernaan seperti mempertahankan pH, menekan pertumbuhan bakteri patogen dan membantu absorbs nutrisi yang dibutuhkan tubuh. Ketidakseimbangan pertumbuhan bakteri flora normal dan bakteri patogen dapat menyebabkan timbulnya manifestasi klinis salah satunya yaitu diare

(Herawati, Herawati, & Fauziah, 2018). Bakteri ini banyak dimanfaatkan sebagai bahan dalam pembuatan minuman fermentasi diantaranya adalah yoghurt.

Beragam produk yoghurt dengan campuran buah-buahan saat ini banyak diproduksi dan diperjual belikan di masyarakat. Selain dengan buah-buahan ternyata di pasaran ditemukan pula yoghurt dengan campuran daun kelor dengan merk Moringa Yoghurt. Tanaman kelor telah dikenal sebagai tanaman multiguna padat nutrisi dan berkhasiat obat. Kelor dikenal sebagai *the miracle tree* atau pohon ajaib karena terbukti secara alamiah merupakan sumber gizi berkhasiat obat yang kandungannya diluar kebiasaan kandungantanaman pada umumnya (Rizkayanti, Diah, & Jura, 2017). Penelitian Dima dan Lolo (2016) menyebutkan bahwa daun kelor dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* mulai konsentrasi 5%. Penghambatan bakteri oleh kelor disebabkan adanya senyawa kimia flavonoid, alkaloid, fenol yang terdapat pada daun kelor.

Sifat antimikroba dari daun kelor terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Stapylococcus aureus* ternyata berbeda dengan hasil penelitian lain tentang minuman probiotik sari daun kelor dengan kultur starter bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang mana didapatkan hasil bahwa sari daun kelor dapat menjadimedia pertumbuhan untuk bakteri asam laktat yaitu bakteri *Lactobacillus acidophilus*, dilihat dari hasil perhitungan jumlah koloni bakterinya yaitu sebanyak $1,9 \times 10^5$ koloni/mL. Minuman probiotik yang dibuat dari sari daun

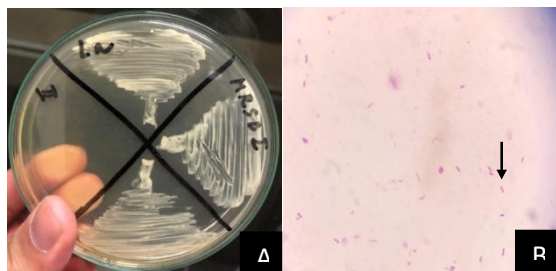
kelor menghasilkan jumlah koloni bakteri pada hari pertama sebanyak $26,6 \times 10^7$ koloni/mL (terjadi kenaikan jumlah sel bakteri) dan sampai hari ke dua puluh dua jumlah koloninya sebanyak $8,25 \times 10^6$ koloni/mL. Hasil ini menunjukkan adanya penurunan jumlah *Lactobacillus acidophilus* setelah penyimpanan 22 hari (Diyaulhaq, Miftah, & Arumsari, 2020).

METODE

Metode penelitian bersifat eksperimen yaitu dengan melakukan pengujian perbandingan jumlah *Lactobacillus acidophilus* pada media *deMan Rogosa and Sharpe* (MRS) dengan atau tanpa penambahan daun kelor.

HASIL

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media MRSA dan pewarnaan Fram terlihat pada gambar 1.



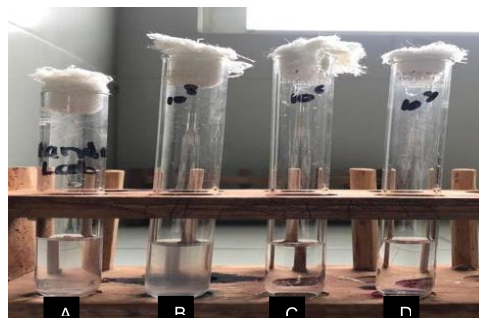
Gambar 1. Kultur dan Mikroskopis Gram *Lactobacillus acidophilus*
Keterangan : A. *Lactobacillus acidophilus* pada media MRS agar

B. *Lactobacillus acidophilus* pewarnaan Gram pada mikroskop, Gram positif basil

Dari gambar 1 diketahui bahwa secara makroskopis didapatkan ciri- ciri koloni berwarna putih hingga putih kekuningan, berbentuk bulat dengan tepian rata dan elevasi

umbonate atau berbentuk cembung namun bagian tengahnya lebih menonjol. Hasil pewarnaan Gram mengkonfirmasi bahwa koloni bakteri yang tumbuh pada media MRSA tersebut berbentuk batang dan bersifat Gram positif, beberapa karakteristik tersebut merupakan ciri-ciri morfologi *Lactobacillus acidophilus*.

Hasil persiapan bakteri uji yang ditanam pada media MRSA dan dilanjutkan dengan pembuatan suspensi dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Persiapan Bakteri Uji Dalam Beberapa Konsentrasi (Mc Farland)Keterangan : A. Standar 0,5 Mc Farland, B. Suspensi Bakteri Setara Dengan 0,5, Mc Farland, C. Suspensi Bakteri Setara Dengan 0,005, Mc Farland, D. Suspensi Bakteri Setara Dengan 0,00005 Mc Farland

Dari gambar 2. dapat dilihat hasil pembuatan suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang setara dengan konsentrasi 0,5 Mc Farland (B), kemudian hasil pengenceran 100 kali (C) dan hasil pengenceran 10.000 kali atau yang setara dengan 15.000 bakteri per mililiter (D). Dari pengenceran terakhir digunakan sebanyak 50 μ l untuk setiap perlakuan.

Hasil pertumbuhan bakteri uji pada media MRSB dengan atau tanpa penambahan daun kelor dengan berbagai konsentrasi dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 4. Hasil Penambahan Bakteri Uji Pada Media MRSB Dengan Atau Tanpa Daun Kelor Berbagai Konsentrasi

Dari gambar 4.3 dapat diketahui bahwa setelah diinkubasi selama 48 jam bakteri uji tumbuh pada media MRSB untuk semua perlakuan, hal ini ditandai oleh perubahan media MRSB menjadi keruh. Sampai 48 jam semua konsentrasi daun kelor yang digunakan tidak menyebabkan kematian bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Hasil rerata jumlah bakteri uji pada media MRSA setelah diinkubasi selama 48 jam dapat dilihat pada tabel 1.

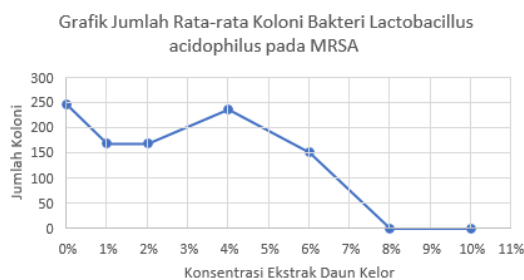
Tabel 1. Hasil Rata-rata Jumlah Koloni Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Pada Media MRSA

Konsentrasi (%)	Jumlah Koloni
0	246
1	168
2	168
4	236
6	151
8	0
10	0

Dari tabel 1. diatas diketahui bahwa rerata jumlah bakteri *Lactobacillus acidophilus* paling banyak ditemukan pada perlakuan tanpa menggunakan daun kelor (246). Sementara itu perlakuan menggunakan daun kelor jumlah terbanyak ditemukan pada konsentrasi daun kelor 4% (236). Mulai dari konsentrasi 6% terjadi penurunan pertumbuhan bakteri. Sampai 96 jam konsentrasi daun kelor 8% dan 10% sudah menyebabkan kematian bakteri

Lactobacillus acidophilus.

Grafik jumlah bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media MRSA yang diinkubasi selama 48 jam dan telah mendapatkan perlakuan dengan berbagai konsentrasi daun kelor dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Grafik Pertumbuhan Lactobacillus acidophilus Berbagai Variasi Konsentrasi

Hasil diatas menunjukkan pertumbuhan tertinggi terjadi pada media yang tidak ditambahkan daun kelor. Dari konsentrasi 1% ke 2% belum terlihat peningkatan jumlah bakteri. Pada konsentrasi 4% sudah terlihat kenaikan jumlah bakteri dan merupakan konsentrasi optimal yang menunjukkan pertumbuhan bakteri paling banyak, setelah konsentrasi 4% terlihat penurunan jumlah bakteri. Pada konsentrasi 6% masih terlihat pertumbuhan bakteri namun mulai dari konsentrasi 8% tidak terlihat lagi pertumbuhan bakteri.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian diatas memperlihatkan bahwa penambahan daun kelor semua variasi konsentrasi pada media MRSB yang diinkubasi selama 48 jam masih bisa menjadi media pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Halitu ditandai dengan warna medium menjadi keruh akan tetapi pada 48 jam pertama tidak

dilakukan perhitungan. Setelah dilakukan penumbuhan pada media MRSA selama 48 jam atau waktu interaksi antara bakteri dengan daun kelor menjadi 96 jam terjadi penghambatan terhadap bakteri uji sehingga pada beberapa konsentrasi jumlah bakteri menurun atau tidak dapat tumbuh. Dalam penelitian ini konsentrasi optimal daun kelor bagi pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* teramati pada konsentrasi 4%.

Keberhasilan pertumbuhan bakteri pada media berkaitan dengan faktor-faktor kinetik mikroba seperti suhu, pH, kebutuhan oksigen, serta substrat yang sesuai, pola pertumbuhan mikroba, periode waktu yang dibutuhkan untuk tumbuh dan beradaptasi. Kinetika pertumbuhan dari mikroba dapat digunakan untuk mengetahui faktor-faktor lingkungan yang optimal selama proses pertumbuhan mikroba (Saraswati, Nocianitri, & Arihantana, 2021).

Faktor-faktor kinetik mikroba pada penelitian ini yang disorot yaitu substrat. Daun kelor kaya akan karbohidrat, lemak, protein, besi, vitamin, dan mineral. Kandungan karbohidrat yang terdapat pada kelor belum diketahui jenisnya apakah berupa inulin, fruktooligosakarida, arabinosa atau yang lainnya sehingga daun kelor belum bisa dipastikan termasuk kedalam kriteria sebagai prebiotik. Kandungan senyawa dasar untuk pertumbuhan bakteri yang terdapat pada daun kelor menyebabkan adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi rendah dan optimal pada konsentrasi 4%, sedangkan pada konsentrasi lebih tinggi (8% dan 10%) tidak ada

pertumbuhan hal ini dapat disebabkan adanya kandungan senyawa antimikroba yang tinggi pada daun kelor.

Penghambatan pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dalam penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin yang terkandung pada daun kelor (Widiani & Pinatih, 2020). Pertumbuhan bakteri dapat dihambat oleh senyawa saponin, mekanisme utama kerja saponin pada permukaan sel bakteri yaitu menurunkan tegangannya sehingga permeabilitas sel meningkat yang akan menyebabkan kebocoran sel sehingga dapat menyebabkan kematian sel. Kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri juga dapat disebabkan oleh senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antimikroba yang merusak lisosom, dinding sel, dan mikrosom bakteri. Senyawa alkaloid juga memiliki sifat antibakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk dengan baik karena ekstrak ini mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel bakteri.

Meskipun daun kelor dapat menyebabkan kematian bakteri namun tetap memiliki manfaat bagi kesehatan antara lain sebagai stimulan jantung dan peredaran darah, memiliki antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antipenuaan, antiinflamasi, antiulser, diuretik, antihipertensi, menurunkan kolesterol, antioksidan, antidiabetic, antibakteri dan anti-jamur. Selain itu daun kelor juga dapat digunakan sebagai penurun tekanan darah tinggi dan obat diabetes (Putra, Dharmayudha, & Sudimartini, 2016).

Lactobacillus sebagai bakteri asam laktat (BAL) yang mampu menghasilkan asam laktat dan juga menghasilkan bakteriosin yang dapat mencegah ataupun membunuh bakteri patogen yang masuk ke dalam usus manusia (Aini, et al., 2021). *Lactobacillus acidophilus* memiliki kriteria sebagai probiotik, ini didasarkan pada resistensi isolate terhadap kondisi asam dan berbagai antibiotik, serta kecepatan pertumbuhan, produksi asam dan kemampuannya menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik (Fauziah, Nurhajati, & Chrysanti, 2014). Pada penelitian ini *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh pada media yang mengandung daun kelor dan sejalan dengan penelitian (Diyaulhaq, Miftah, & Arumsari, 2020) tentang daun kelor yang dapat menjadi media pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Saat ini diketahui terdapat maraknya produk yoghurt dengan campuran daun kelor, dimana diharapkan penambahan daun kelor pada yoghurt dapat menambah manfaat dan khasiat yoghurt dan merangsang pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* menjadi lebih subur. Hasil penelitian diperoleh bahwa penambahan daun kelor pada media MRSA dapat menumbuhkan *Lactobacillus acidophilus* pada konsentrasi 1%, 2%, 4%, dan 6%. Pada konsentrasi 8% dan 10% tidak ditemukannya pertumbuhan bakteri diakibatkan adanya sifat antimikroba yang tinggi. Akan tetapi penambahan daun kelor untuk pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* optimal 4% jumlah rerata koloninya masih dibawah kontrol. Hasil dari penelitian ini menunjukan daun kelor dominan sebagai antimikroba.

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh pada media *deMan Rogosa Sharpe* (MRS) dengan atau tanpa penambahan daun

kelor (*Moringa oliefera*). Jumlah bakteri yang tumbuh lebih sedikit pada media yang mengandung daun kelor dan tumbuh optimal pada konsentrasi 4% sebanyak 236 koloni. Pada konsentrasi yang lebih besar jumlah bakteri menurun hingga tidak ditemukan adanya pertumbuhan. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh disarankan perlu adanya penelitian menggunakan bakteriasam laktat lainnya yang disuplementasi dengan infusum daun kelor pada pembuatan minuman probiotik berupa yoghurt atau jenis minuman lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, N. K., Sarmanu, Utomo, B., Sabdoningrum, E. K., Lokapirnasari, W. P., & Supranianondo, K. (2020). Pengaruh Probiotik Bakteri Asam Laktat dalam Air Minum Terhadap Konversi Pakan Ayam Broiler. *Journal of Basic Medical Veterinary*, 9(2), 86-91.
- Dewi, L. F., Sartini, & Rahmiati. (2019). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Sapi (*Bos taurus*) serta Kemampuannya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella* sp. *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 21-27.
- Diyaulhaq, R. G., Miftah, A. M., & Arumsari, A. (2020). Minuman Probiotik Sari Daun Kelor (*Moringa oliefera* Lam.) dengan Kultur Starter Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *Prosiding Farmasi*, 208-214.
- Herawati, I., Herawati, E., & Fauziah, P. N. (2018). Potensi Prebiotik Ekstrak Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* CPS1 dan *Lactobacillus bulgaricus* KS1. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Nasional Penelitian & Pengabdian Masyarakat (PINLITAMAS 1)*, 608-613.
- Rizkayanti, Diah, A. W., & Jura, M. R. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Airdan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oliefera* Lam). *Jurnal Akademik Kimia*, 125-131.
- Yuniastuti, A. (2015). *Probiotik (Dalam Perspektif Kesehatan)* (1 ed.). Semarang: UNNES Press.