


Pembagian Presentasi



1. Konsep Probiotik
2. Isolasi, Identifikasi dan Konfirmasi Probiotik asal Sistem Pencernaan Bayi secara in vitro
3. Uji Probiotik sebagai Agen Anti-Hiperglikemia dan Penurun Kolesterol secara in vivo pada Tikus Percobaan
4. Intervensi pada Responden penyandang Obesitas



Probiotics are defined as live microorganisms that provide beneficial effects on human health (FAO/WHO, 2002).



The suggested concentration for probiotic bacteria is 10^7 CFU/g product (Shah, 2000)

Manfaat Kesehatan Probiotik

- ✓ Mencegah intoleransi laktosa (Heyman, 2000; Marteau *et al.*, 2001)
- ✓ Menurunkan terjadinya alergi (Parvez *et al.*, 2006)
- ✓ Memacu sistem imun tubuh (Gill, 1998; Nagao *et al.*, 2000; Xiao *et al.*, 2006)
- ✓ Mencegah dan mengurangi resiko terjadinya penyakit kanker (Ohashi *et al.*, 2000; Wollowski *et al.*, 2001)
- ✓ Menurunkan kadar kolesterol serum (Anderson *et al.*, 1999; Tok and Aslim, 2010)

Bakteri Yakult (*L. casei* strain shirota)

- ▶ Dalam bidang kesehatan telah diteliti pemanfaatan *Lactobacillus casei* strain *Shirota* (bakteri yakult) sebagai bakteri starter dalam fermentasi susu menjadi minuman kesehatan



Susu Fermentasi "LowKol"



Persyaratan Spesifik Probiotik

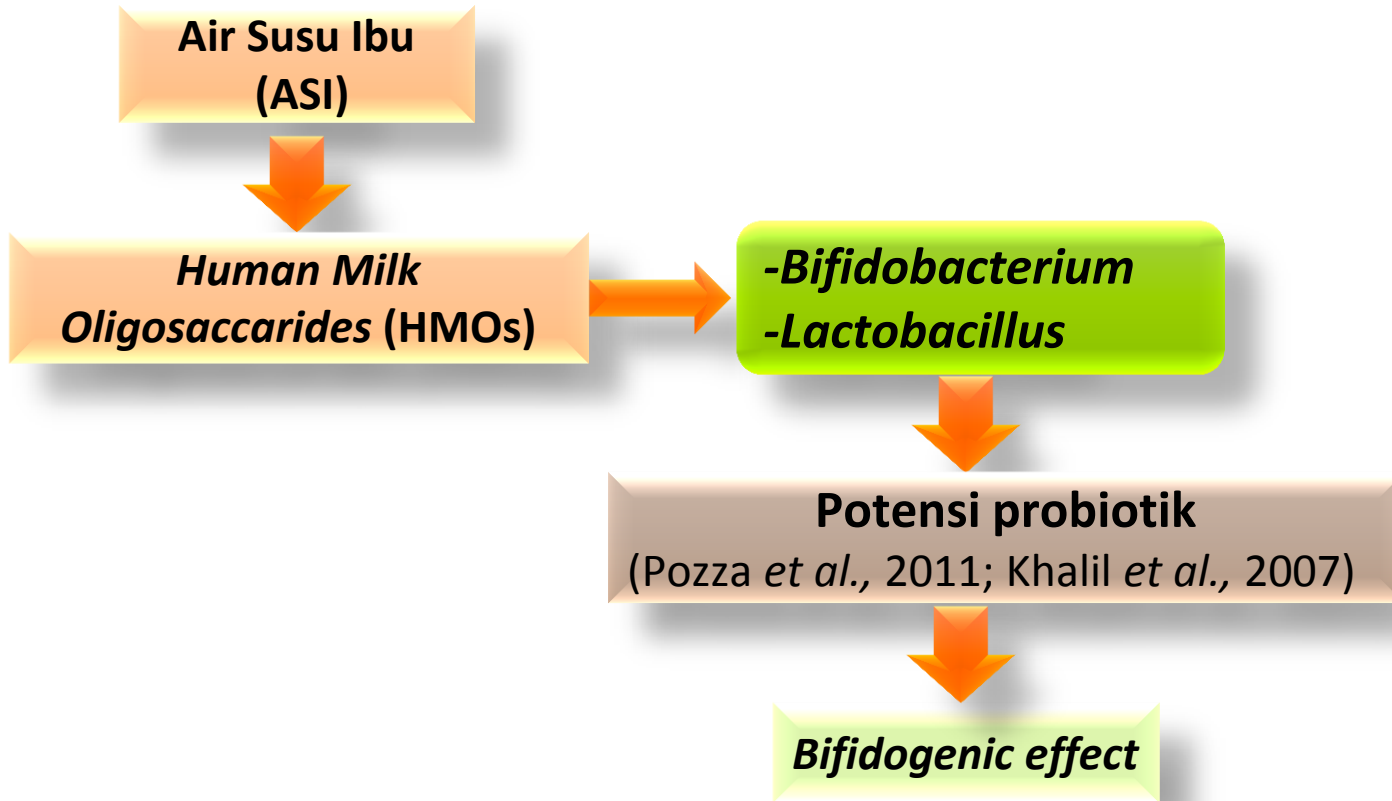
- ✓ Tidak bersifat patogen dan aman dikonsumsi
- ✓ Tahan terhadap adanya garam dan asam lambung
- ✓ Mampu menempel dan melakukan kolonisasi pada saluran pencernaan (*gastrointestinal tract*, GIT)
- ✓ *Human origin*

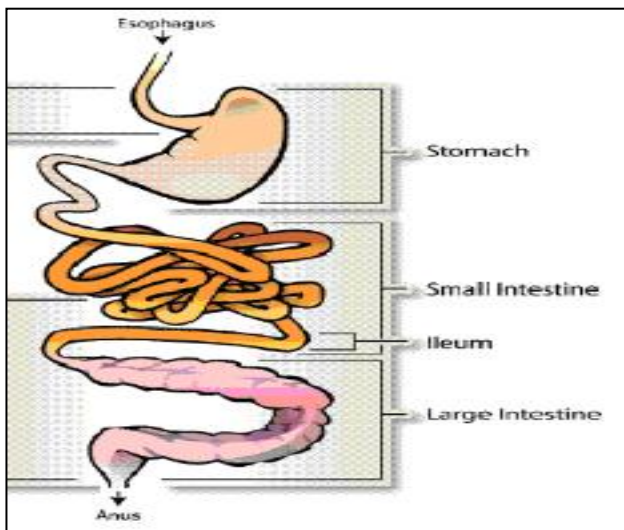
(Collins *et al.*, 1998; Dunne *et al.*, 2001)

Gastrointestinal Tract (GIT) Sumber Probiotik

- GIT adalah habitat dari 400 spesies bakteri dari 50 genus berbeda (Margolles *et al.*, 2009)
- Pertumbuhan microbiota bayi yang baru lahir sangat terkait dengan kandungan human milk oligosaccharides (HMOs) pada Air Susu Ibu (Favier *et al.*, 2003)
- Bayi yang meminum ASI sistem pencernaan didominasi *Bidifobacterium* and *Lactobacillus* (Boehm and Stahl, 2007; Favier *et al.*, 2003)

Gastrointestinal Tract (GIT)



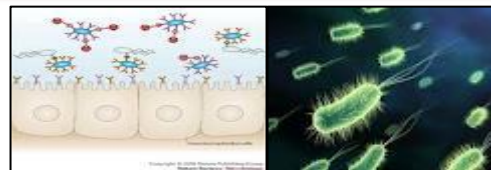


**POTENSI ISOLASI
PROBIOTIK**

**Senyawa bioaktif asam
lemak**



Conjugated Linoleic Acid (CLA)



Efek kesehatan

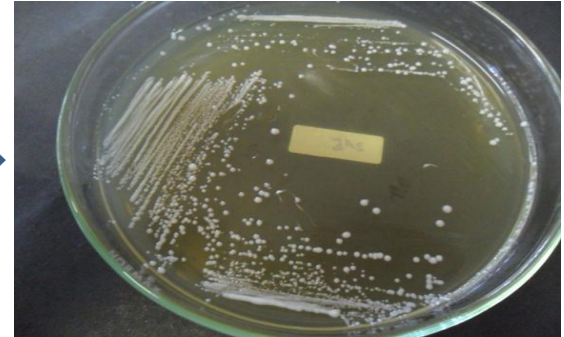
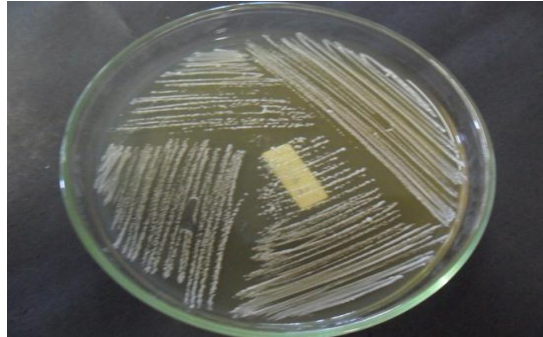
**Fungsionalitas
probiotik**

<http://www.google.co.id/search?q=probiotik&hl=id&biw=853&bih=358&site=img&tbm=isch&ei=unYMUkKvJ4LLrQf05cTKCA&start=20&sa=N>

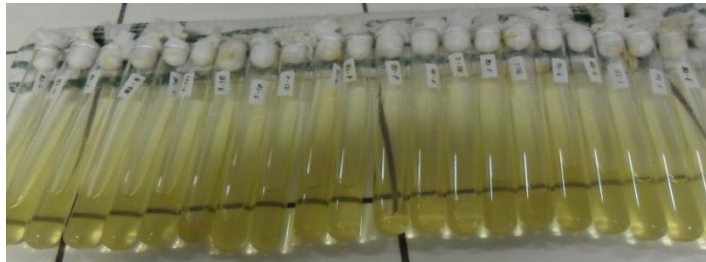


**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN
KONFIRMASI PROBIOTIK ASAL
SISTEM PENCERNAAN BAYI YANG
MINUM ASI**

Isolasi Probiotik Asal Sistem Pencernaan Bayi



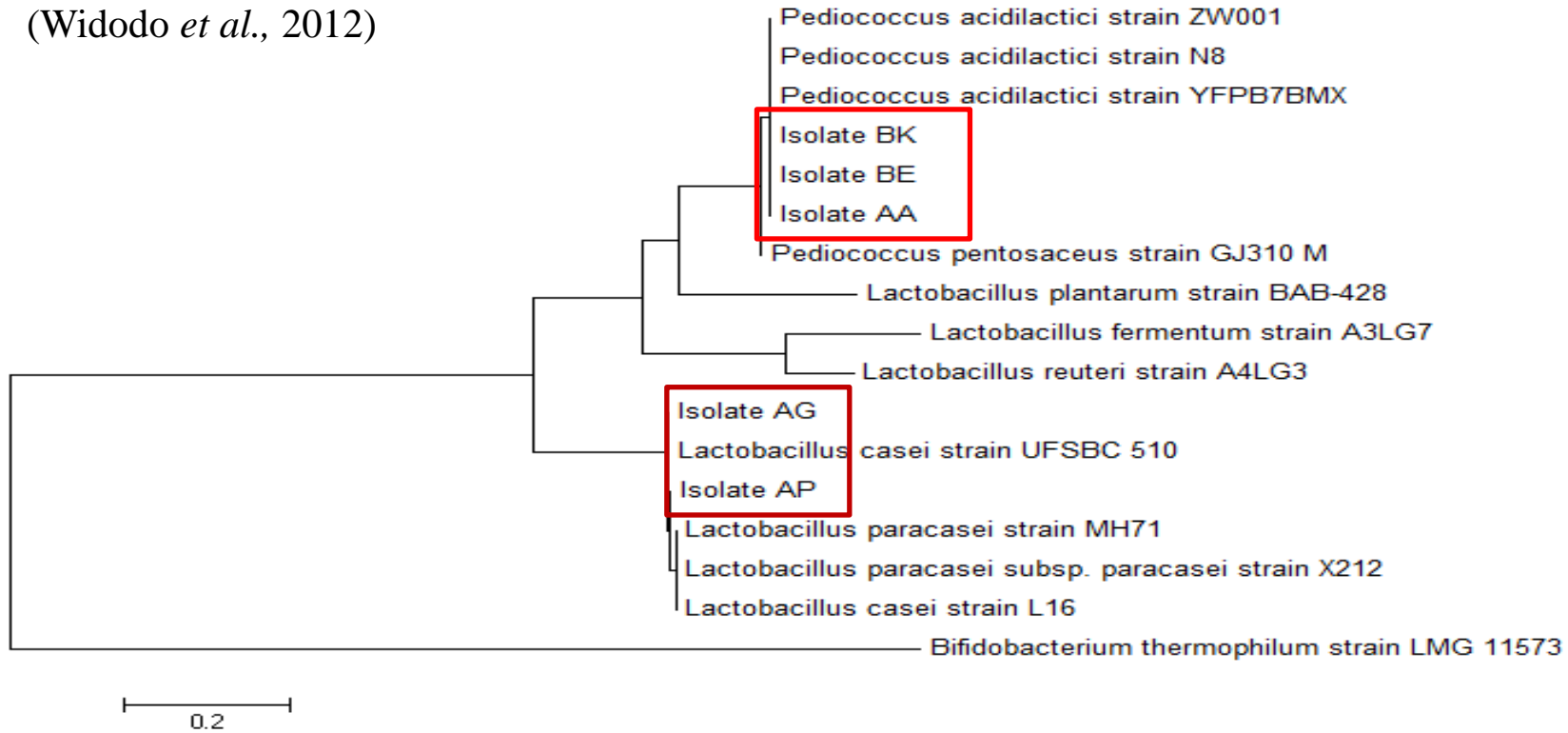
Identifikasi Bakteri



- Media untuk isolasi: De Man-Rogosa-Sharpe (MRS, Oxoid) disuplementasi L-cysteine 0.5 g/l
- Petridis diinkubasi pada suhu 37°C selama 48h pada kondisi Mikro aerobik dengan menginjeksikan gas nitrogen

Identifikasi Probiotik Asal Sistem Pencernaan Bayi

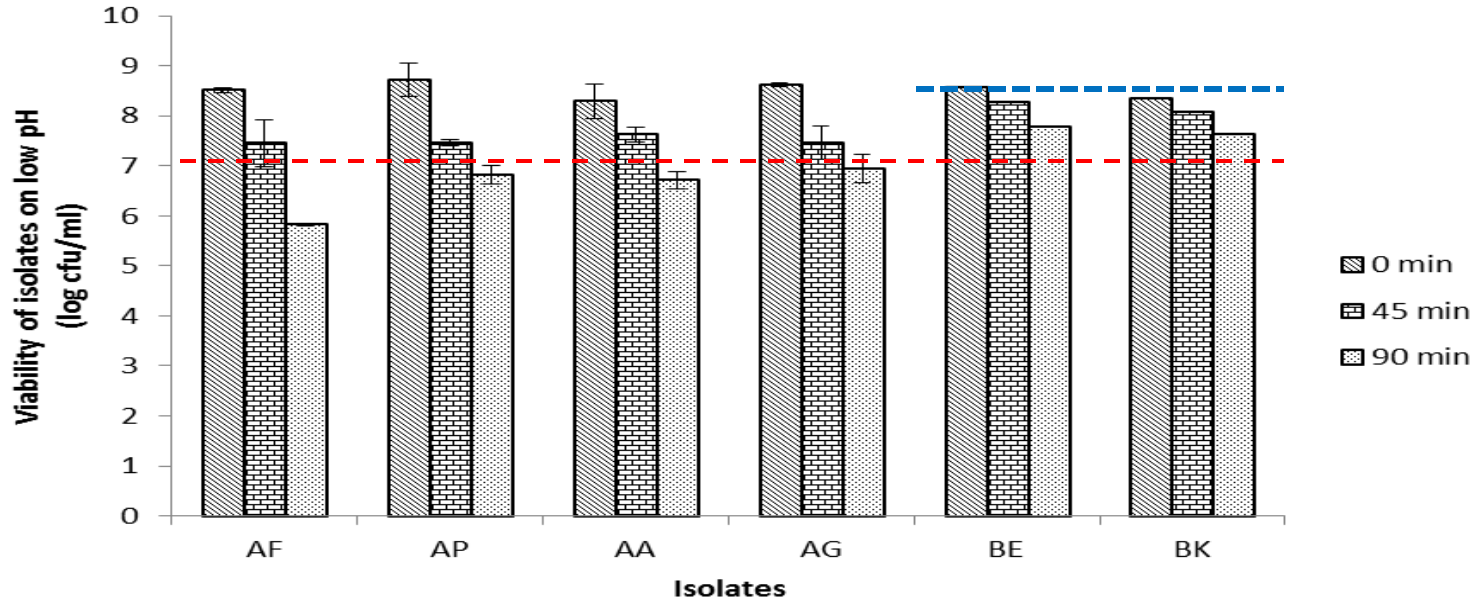
(Widodo *et al.*, 2012)



Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) 5.05 using Neighbour-joining Algorithm
(Saitou and Nei, 1987)

Viabilitas Sel pada pH rendah

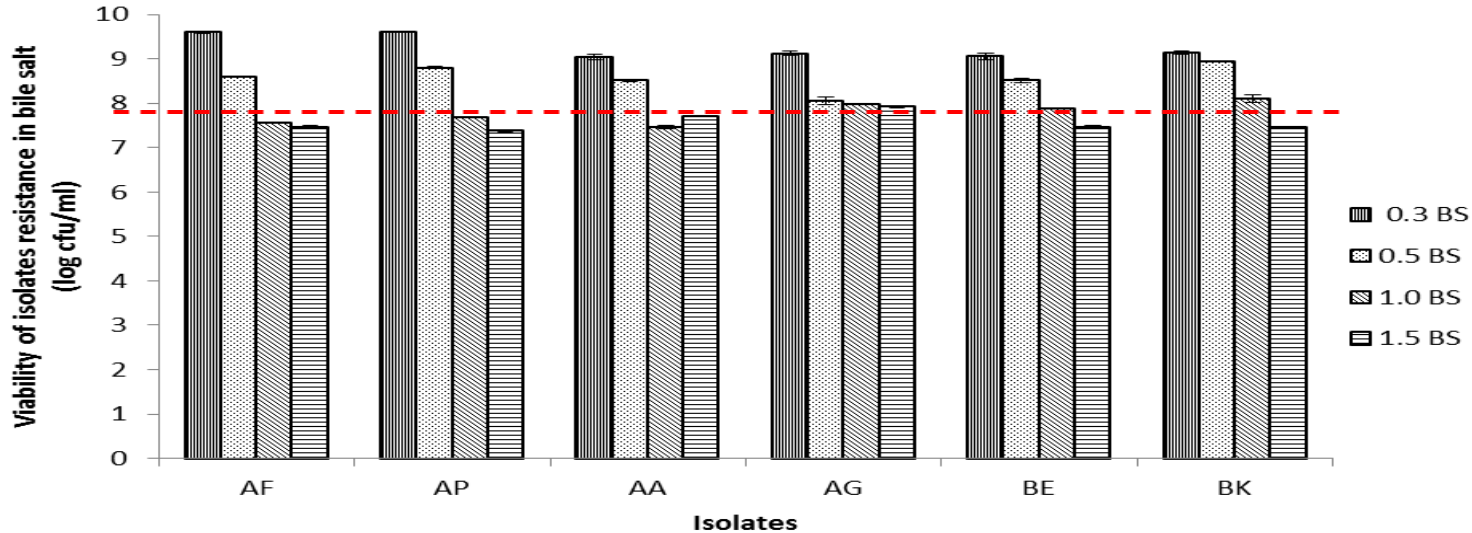
(Widodo *et al.*, 2012)



- Lebih dari 50% sel bertahan hidup setelah 90 minutes pada pH 2.0
- Isolat BE dan BK mempunyai viabilitas tertinggi pada 91%

Viabilitas Sel pada Garam Empedu

(Widodo *et al.*, 2012)



- Sel ditumbuhkan pada berbagai konsentrasi bile salts (0.3; 0.5; 1.0; and 1.5% to mimic intestinal bile concentration) selama 2h
- Lebih dari 80% sel bertahan hidup selama 2 hours

Penghambatan Patogen in Vitro

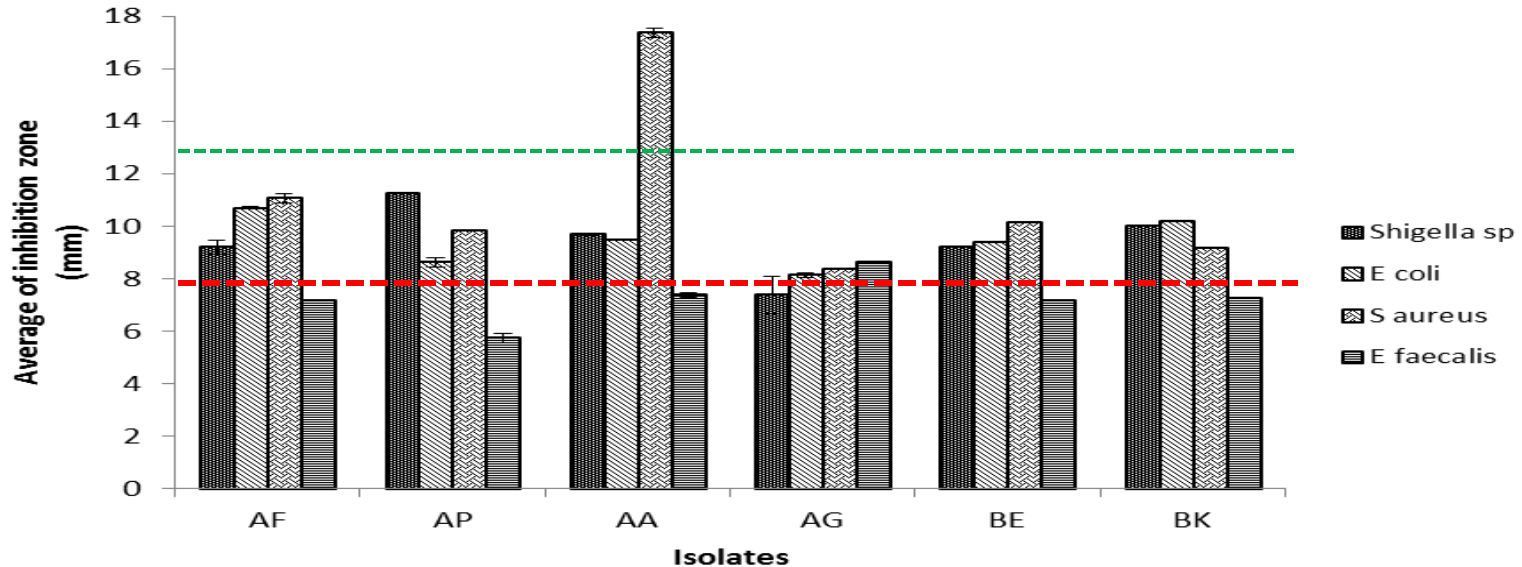
terhadap:

1. *Shigella* sp.
2. *Escherichia coli*
3. *Streptococcus aureus*
4. *Enterococcus faecalis*



Penghambatan Patogen secara *In vitro*

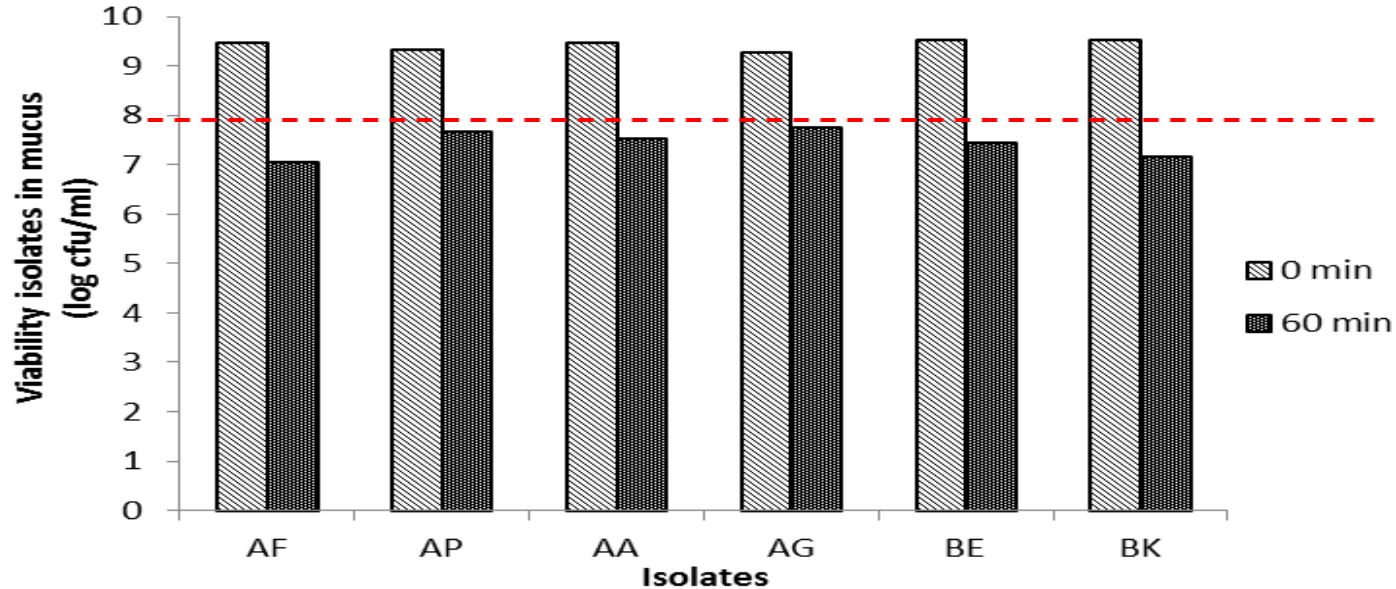
(Widodo *et al.*, 2012)



- *L. casei* AA menunjukkan penghambatan tertinggi pada *E. coli* (18 mm)
- Semua strain mampu menghambat *E. faecalis* (6-8 mm)

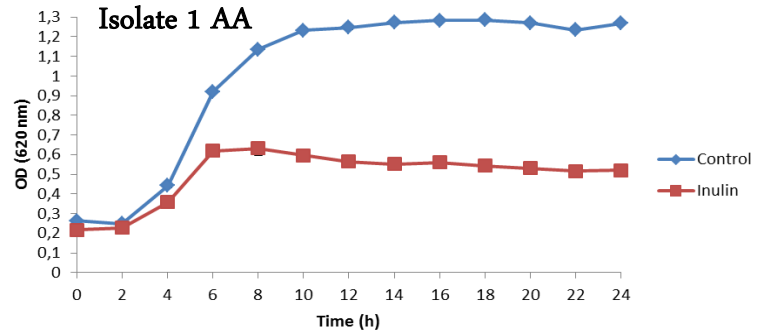
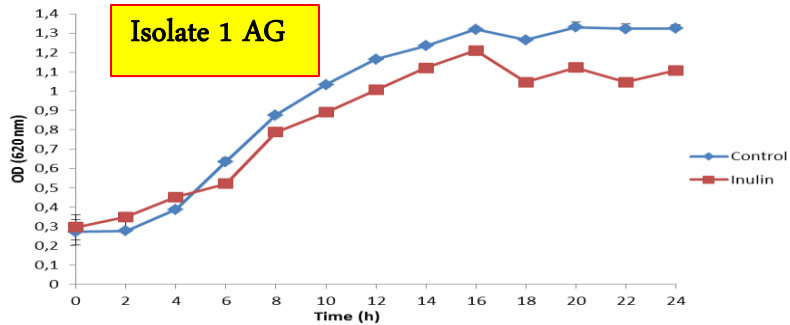
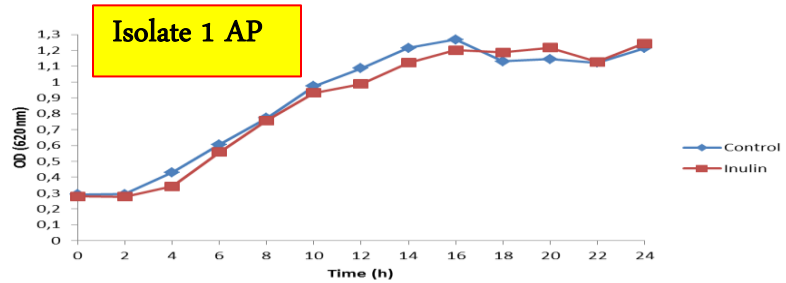
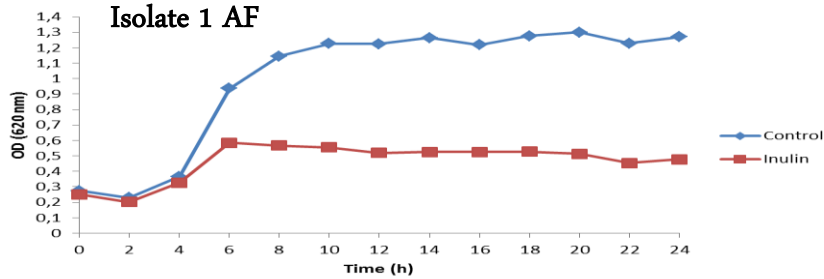
Kemampuan Penempelan pada Mucus in Vitro

(Widodo *et al.*, 2015)



- Lebih dari 75% sel mampu menempel pada *gastric mucin* setelah 60 min
- Strain AA, AP dan AG mempunyai kemampuan tertinggi (80%)

Evaluasi Pemanfaatan Prebiotik Inulin



(Widodo *et al.*, 2014)

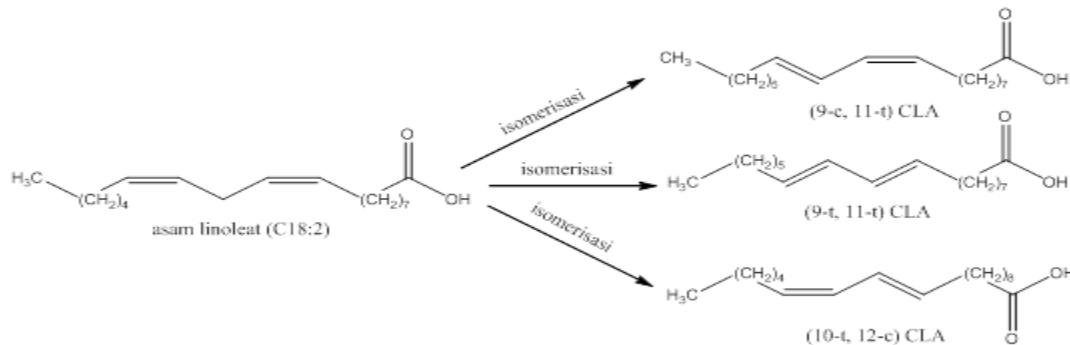
Produksi *Short Chain Fatty Acids* (SCFAs) (Unpublished data)

Analysis	MRS (%)	Inulin (%)	Inulin extract (%)
Lactic acid	33.83 ± 2.11^c	33.83 ± 1.74^c	35.53 ± 1.63^c
Acetic acid	9.83 ± 1.53^b	12.42 ± 0.56^b	10.35 ± 0.79^b
Propionic acid	0.05 ± 0.17^a	0.36 ± 0.16^a	0.43 ± 0.10^a
Butyric acid	0.03 ± 0.41^a	0.28 ± 0.11^a	0.49 ± 0.28^a

Lactobacillus casei strain AP mampu mensintesis CLA

No. puncak	Waktu retensi	Nama senyawa	Kadar (%)
1	21,548	Asam palmitat	12,85
3	22,936	Asam linoleat	12,71
4	23,310	CLA	46,77
5	23,563	CLA	10,36
6	23,710	CLA	9,43

(Widodo *et al.*, 2015)



**UJI KEMAMPUAN PROBIOTIK SEBAGAI
AGENSIA ANTI-HIPERGLIKEMIA DAN
ANTI-HIPERLIPIDEMIA SECARA IN
VIVO PADA TIKUS PERCOBAAN**

Uji Anti-hiperglikemia dan Penurun Kolesterol pada Tikus

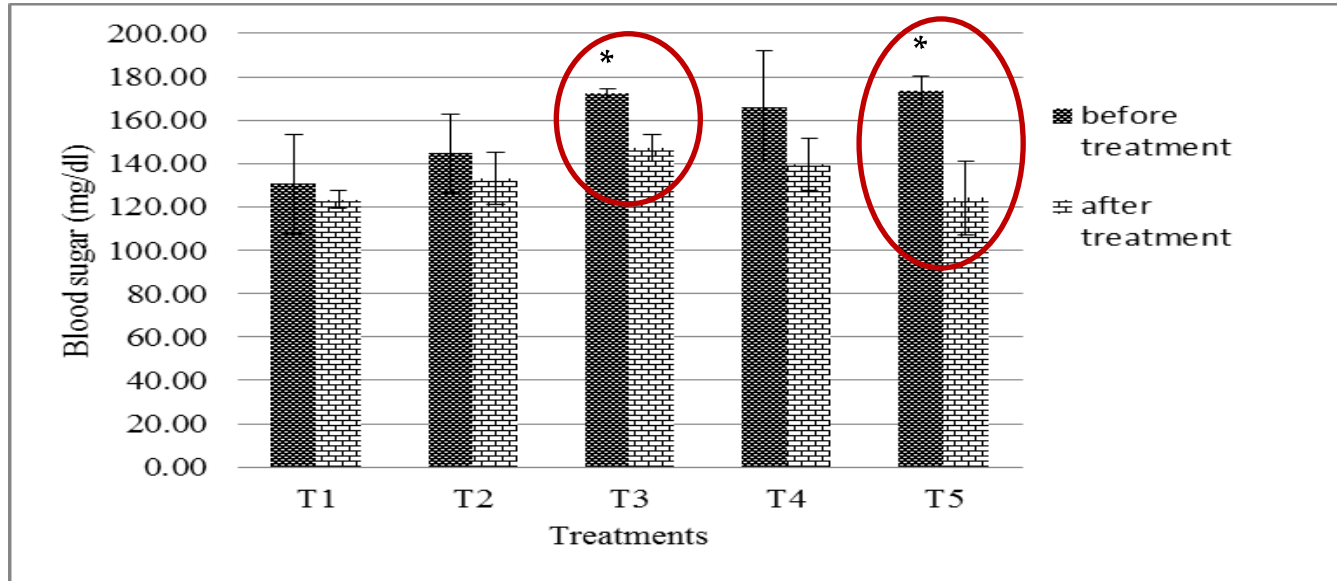
Tikus umur 2 bulan (*Ratus norvegicus*)
strain *Sprague dawley*

Perlakuan:

1. T1: standard feed (AIN-93) + water *ad libitum*
2. T2: Lemak tinggi+Fruktosa+ water
3. T3: T2 + 2 ml fermented milk containing *L. casei* strain AP (10^8 cfu/ml), orally provided for 15 days
4. T4: T2 + 2 ml fermented milk containing *L.*casei* strain AG (10^8 cfu/ml), orally provided for 15 days
5. T5: T2 + Metformin (Positive control)



Penurunan Kadar Glukosa Darah



* Statistically different at $P < 0.05$

Harsita *et al.*, (2017) in Widodo (2017)

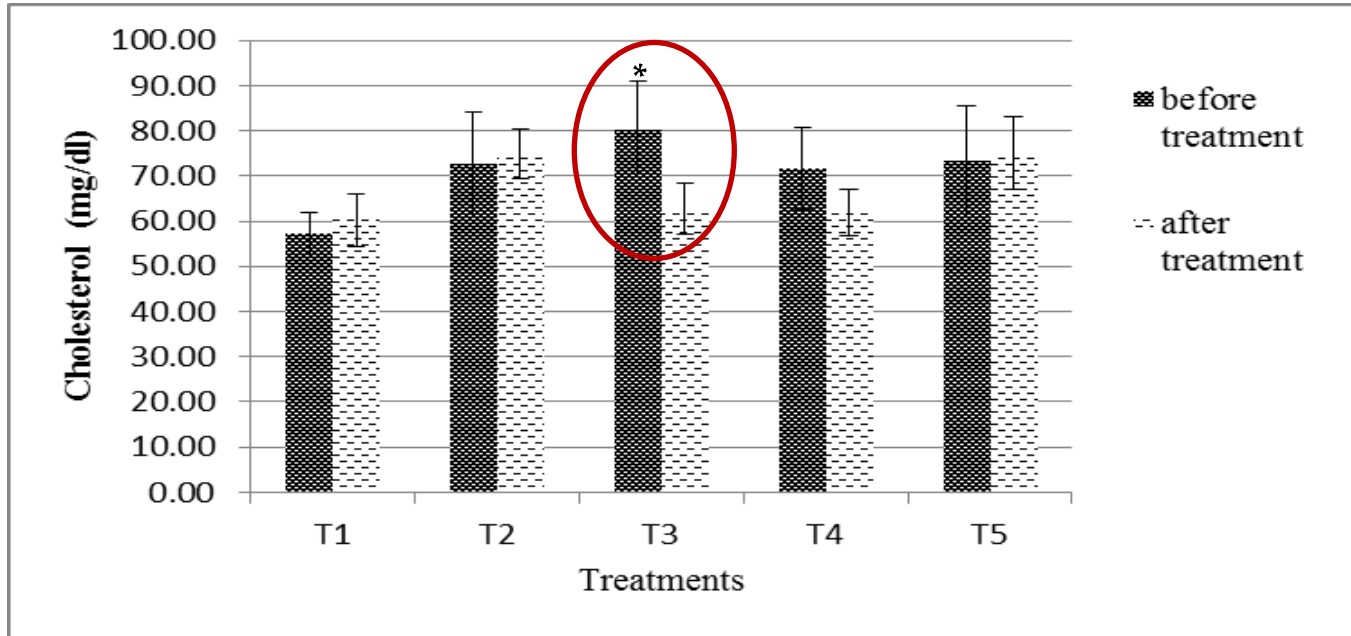
Penurunan Kadar Glukosa Darah

Treatment	Day 120 Before treatments (mg/dL)	Day 135 After Treatments (mg/dL)
T1	130,65 ^a ± 22,85	123,48 ^a ± 3,82
T2	144,80 ^a ± 18,18	133,18 ^a ± 12,12
T3	172,45^a ± 2,15	147,20^b ± 6,01
T4	165,98 ^a ± 26,02	139,40 ^a ± 12,10
T5	173,52^a ± 6,55	124,18^b ± 16,90

^{a,b} Statistically different at $p < 0.05$

Harsita *et al.*, (2017) in Widodo (2017)

Penurunan Total Cholesterol



* Statistically different at $P < 0.05$

Unpublished data

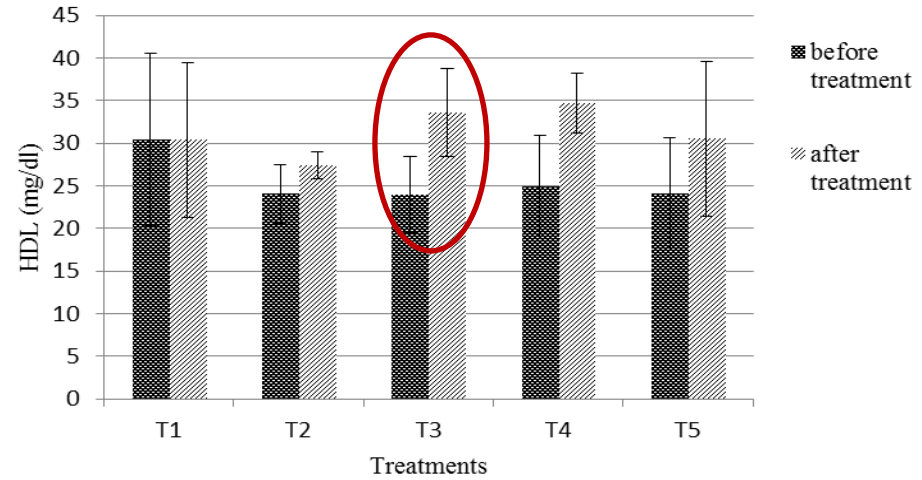
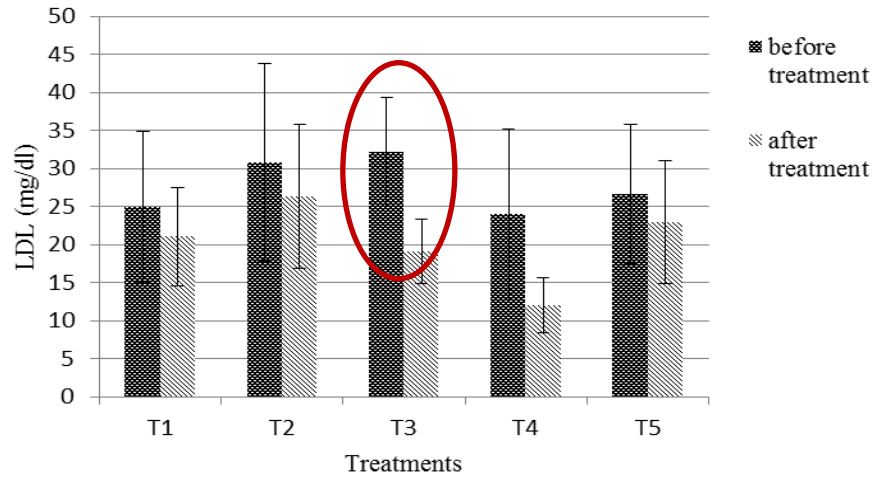
Penurunan Total Cholesterol

Treatments	Day 120 Before treatments (mg/dL)	Day 135 After treatments (mg/dL)
T1	57,28 ^a ±4,49	60,18 ^a ±5,77
T2	72,54 ^a ±11,50	74,94 ^a ±5,36
T3	80,30 ^a ±10,70	62,84 ^b ±5,67
T4	71,62 ^a ±8,93	61,88 ^a ±5,20
T5	73,24 ^a ±12,28	75,10 ^a ±8,13

^{a,b} Statistically different at $P < 0.05$

Harsita *et al.*, (2017) in Widodo (2017)

Penurunan LDL and Peningkatan HDL



Harsita *et al.*, (2017) in Widodo (2017)

**INTERVENSI PADA RESPONDEN
PENYANDANG OBESITAS
(BODY MASS INDEX > 25)**

Intervensi Produk Susu Fermentasi Probiotik (Anggeria, *unpublished data*)



Data	Jumlah
Jumlah responden	29
Pria	15
Perempuan	14
Rerata Umur	25.3
Rerata BMI	29.7
Rerata Berat badan	72.5
Rerata Lingkar pinggang	97.9
Rerata Lingkar panggul	111.4

Intervensi pada Penderita Obesitas (BMI > 25)

1. Sertifikat *Clinical Trials* dari NIDA (*online*)
2. Ethical Clearance (Komisi Etik)



Subyek Penelitian:

1. Responden penderita obesitas (BMI > 25)

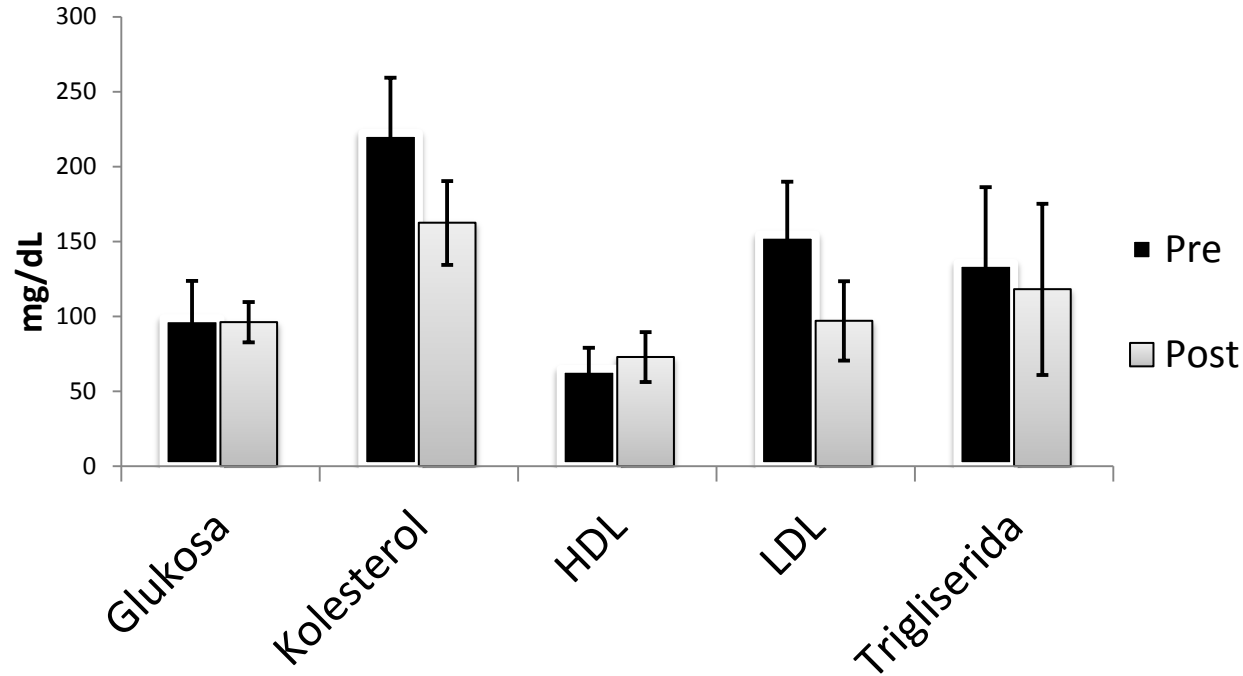
Sebelum Intervensi:

1. Berat badan
2. Lingkar pinggang
3. Kadar gula darah
4. Profil Lipid
5. Kadar Insulin
6. Profil Mikrobiota

Sebelum Intervensi:

1. Berat badan
2. Lingkar pinggang
3. Kadar gula darah
4. Profil Lipid
5. Kadar Insulin
6. Profil Mikrobiota

Hasil Intervensi pada Pasien (Anggeria, *unpublished data*)



n = 29

DISKUSI

Penurunan kolesterol bisa terjadi karena:

1. Kemampuan asimilasi kolesterol,
2. Dekonjugasi garam empedu (*bile salt*) oleh enzim *bile salt hydrolase* dari probiotik,
3. Peran SCFA yang dihasilkan,
4. Peran *Conjugated Linoleic Acid* (CLA) yang dihasilkan,
5. Peran eksopolisakarida yang dihasilkan probiotik



Down-regulation gen gen yang terlibat dalam cholesterol biosynthetic pathways Alvaro et al., 2008

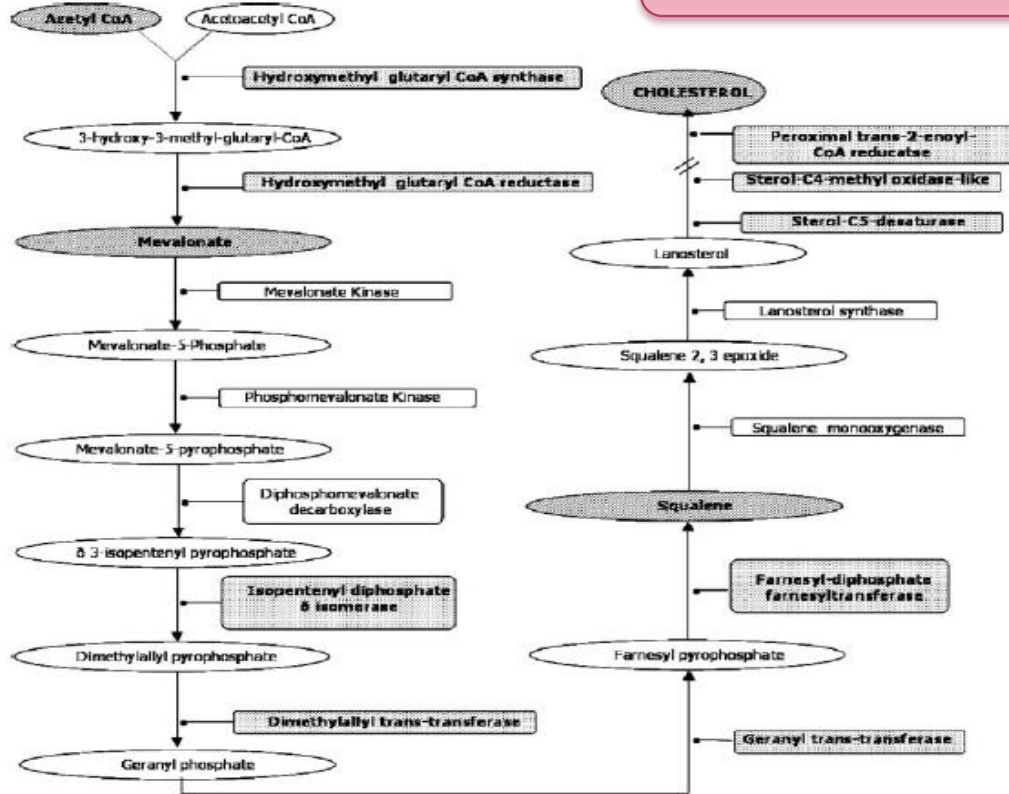
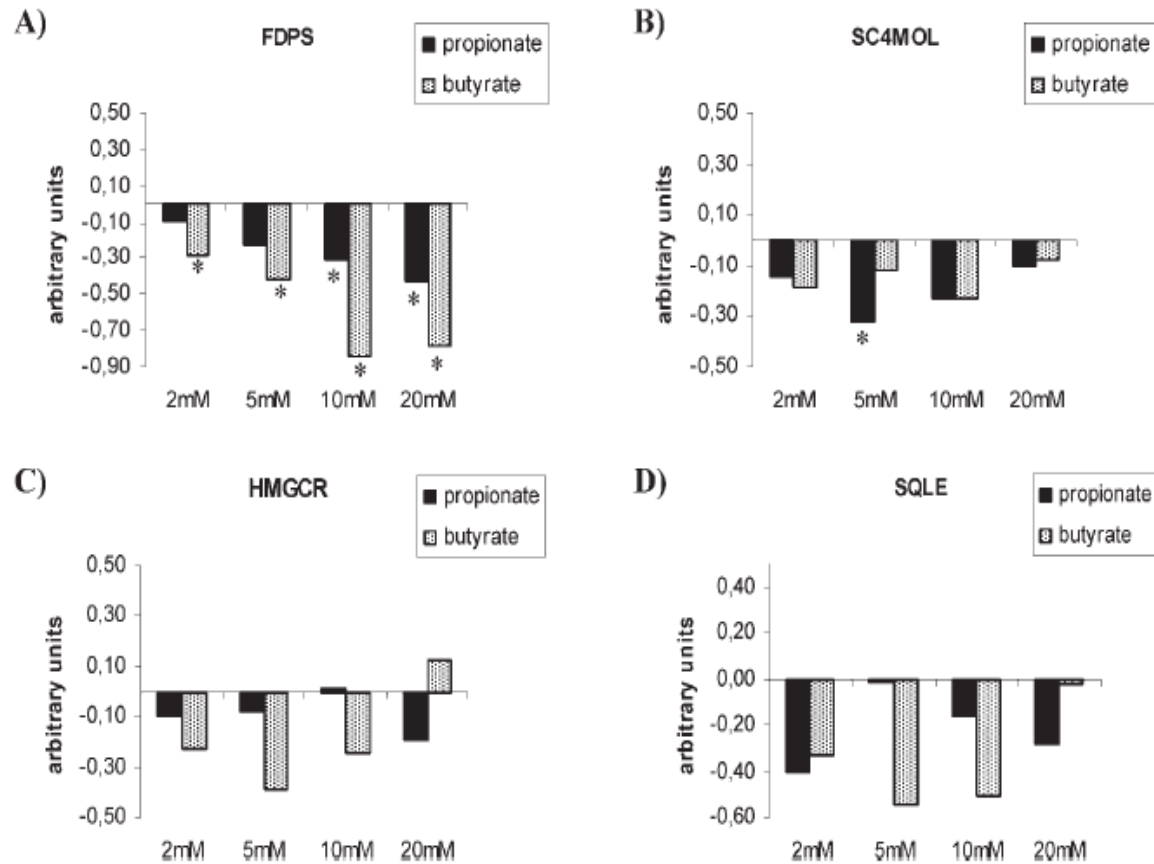


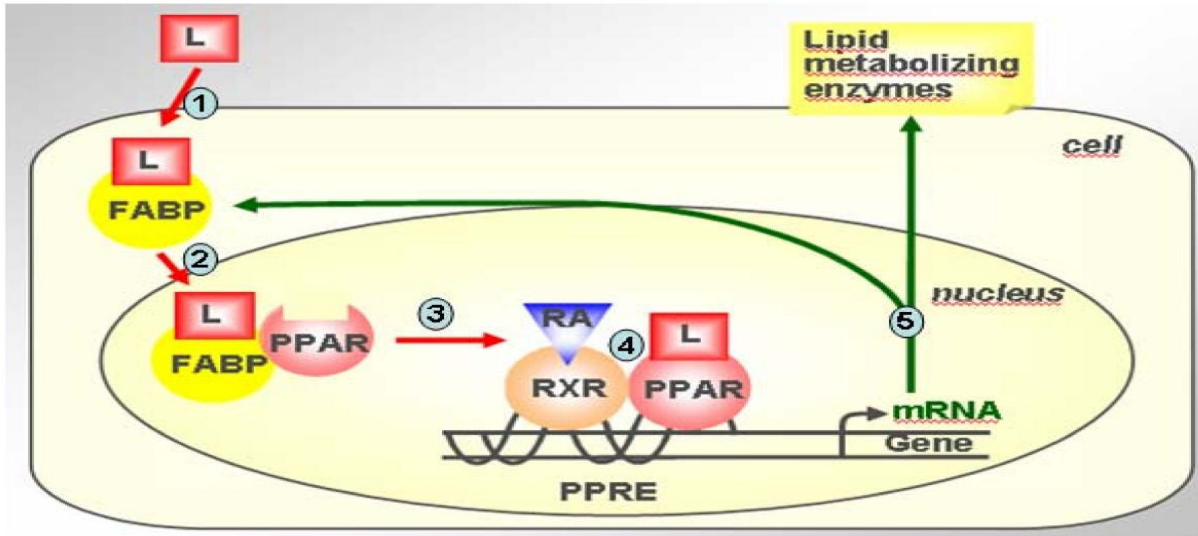
Figure 2. Cholesterol biosynthesis pathway. Downregulated genes are represented in bold letters and in gray boxes (Adapted from PANTHER).



Alvaro et al., 2008

Figure 3. Differential expression of selected genes in response to Pr and Bu by quantitative real-time PCR analysis. * $P < 0.05$

CLA-mediated Signal Transduction



(Benyamin and Spener, 2009)

- **Proposed CLA-mediated signal transduction.** CLA (L) crossing the cell membrane through membrane-bound fatty acid transporters and binds to tissue-specific fatty acid binding protein (FABP) in the cytosol; 2. The L/FABP complex enters in to the nucleoplasm, where L is transferred to the specific peroxisome proliferators activated receptor (PPAR) subtype; 3. The L/PPAR complex heterodimerises with retinoic acid (RA)/retinoic acid receptor (RXR) subtype; 4. This heterodimer binds to the peroxisome proliferator responsive element (PPRE) on the target gene; and 5. Specific gene expression occurs, whose products act intra- or extracellularly to elicit a host of various biological functions



UNIVERSITAS GADJAH MADA

THANK YOU



Dr. Widodo, M.Sc

BAKTERI ASAM LAKTAT STRAIN LOKAL

ISOLASI SAMPAI APLIKASI
SEBAGAI PROBIOTIK DAN
STARTER FERMENTASI SUSU

Tren saat ini terkait kultur starter untuk fermentasi susu mensyaratkan adanya jaminan keamanan (*safety*), yakni dapat bersifat sebagai probiotik dengan mampu memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh. Untuk memberikan jaminan keamanan bagi manusia yang mengonsumsinya, perlu digunakan bakteri starter yang diketahui aman dikonsumsi (*generally recognized as safe*; GRAS) dan diisolasi dari sistem pencernaan manusia. Dalam konteks aplikasi fermentasi susu, bakteri asam laktat (BAL) diketahui aman dikonsumsi dan mampu digunakan sebagai starter dalam berbagai produk susu fermentasi. Probiotik didefinisikan sebagai bakteri hidup yang ditambahkan untuk meningkatkan status kesehatan. Agar dapat digunakan sebagai probiotik, BAL yang telah diisolasi dari sistem pencernaan manusia perlu diuji dalam hal ketahanan hidup dengan kondisi pH rendah dan keberadaan garam empedu, kemampuan penghambatan patogen, dan kemampuan perlekatan dalam sistem pencernaan. Selanjutnya, untuk memberikan manfaat kesehatan bagi manusia, BAL sebagai kultur starter perlu diuji dalam hal kemampuan mendegradasi prebiotik sebagai substrat bagi probiotik, serta kemampuan sintesis molekul bioaktif seperti *conjugated linoleic acid* (CLA) yang diketahui mampu berperan sebagai agensia antikanker, antihiperkolesterolemia, dan antidiabetik.

Buku ini membahas tentang isolasi dan identifikasi BAL dari sistem pencernaan bayi yang minum air susu ibu (ASI), kemampuan isolat terpilih sebagai probiotik, kemampuan perlekatan secara *in vitro* dengan menggunakan gastric mucin, kemampuan degradasi prebiotik inulin, serta kemampuan memfermentasi susu dan sintesis CLA. Berdasarkan hasil seleksi, terpilih tiga strain probiotik yang mampu mendegradasi inulin, yaitu *Lactobacillus casei* strain AP, *Lactobacillus casei* strain AG, dan *Pediococcus acidilactici* strain BE. Pengujian lanjut terkait kemampuan sintesis CLA hanya ada satu strain, yaitu *Lactobacillus strain AP* yang mampu menyintesis CLA dari *Linoleic Acid* (LA). Kemampuan probiotik dalam hal mendegradasi inulin dan menyintesis CLA merupakan keunggulan untuk aplikasi pada produk pangan. Dengan kemampuan ini, viabilitas probiotik meningkat dalam sistem pencernaan dan dampaknya bagi kesehatan diharapkan juga akan meningkat. Penerapan hasil penelitian ini adalah aplikasi probiotik unggul asal manusia (*human-origin*) yang aman dan sehat yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional sekaligus agensia pemacu kesehatan tubuh.



Gadjah Mada University Press
Jl. Grafika No. 1, Kampus UGM, Yogyakarta 55281
Telp./Faks: +62 274 561037, Mobile/WA: 081 228 47 8888
@ugmpress @ugmpress @ugmpress.ugm.ac.id



Gadjah Mada University Press

Dr. Widodo, M.Sc

BAKTERI ASAM LAKTAT STRAIN LOKAL

ISOLASI SAMPAI APLIKASI SEBAGAI PROBIOTIK DAN STARTER FERMENTASI SUSU