

## HYPOCHOLESTEROL EFFECT OF INDEGENOUS PROBIOTIC CULTURE AND YOGHURT IN SPRAGUE DAWLEY RATS

Lily Arsanti Lestari<sup>1</sup>; Eni Harmayani<sup>2</sup> dan Y. Marsono<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Staf pengajar Program Studi Gizi Kesehatan, Fakultas Kedokteran UGM

<sup>2</sup>Staf pengajar Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, FTP UGM

### ABSTRACT

Probiotic was believed as an agent of lowering serum cholesterol level. However, the information about this is still controversy. *Lactobacillus* sp Dad13 is an indigenous probiotic culture isolated from traditional fermented milk. In vitro study proved that *Lactobacillus* sp Dad13 possesses the ability to assimilate cholesterol and deconjugate bile acids, however in vivo study hasn't been done yet. The purpose of this research was to study the ability of *Lactobacillus* sp Dad13 and yoghurt which was supplemented with *Lactobacillus* sp Dad13 to reduce serum cholesterol level. Twenty four male Sprague Dawley rats, 2 months old were divided into four groups and fed with an AIN-93 diet ad libitum. Rats were fed with standard diet (1 wk) and hypercholesterol diet (1 wk). At the end of the week, lipid profile was measured. Each group were then treated with 10% sterile skimmed milk, as control, *Lactobacillus* sp Dad13 culture, yoghurt, and yoghurt which supplemented with *Lactobacillus* sp Dad13 culture 1 ml each. The treatments were given by force feeding. The treatments were assigned for 4 wk and at the end of treatments, serum lipid profile, physical, chemical, and microbiological properties of cecal contents i.e. weight, water contents, pH, cholesterol, and total lactic acid bacteria were analyzed. The results showed that total cholesterol, high density lipoprotein (HDL), triglyceride (TG), low density lipoprotein (LDL), and LDL/HDL ratio decreased significantly ( $P < 0,05$ ). The highest reduction of total cholesterol, approximately 39,8%, was found in the group treated with suspension of *Lactobacillus* sp Dad13 culture. Probiotics culture feeding increased lactic acid bacteria population in cecal contents. Cholesterol level of cecal contents corresponds with low cholesterol level of serum. It can be concluded that *Lactobacillus* sp Dad13, an indigenous probiotic culture, proved to have as hypocholesterolemic effect and can be developed as functional food.

Key words : probiotic, lactic acid bacteria, yoghurt, hypocholesterolemic effect

### ABSTRAK

Probiotik diyakini sebagai agensia untuk menurunkan kadar kolesterol serum. Namun demikian, informasi mengenai hal ini masih menjadi kontroversi. *Lactobacillus* sp Dad13 merupakan probiotik lokal yang diisolasi dari susu fermentasi tradisional. Penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa *Lactobacillus* sp Dad13 mempunyai kemampuan untuk mangasimilasi kolesterol dan mendekongugasi asam empedu, akan tetapi efek hipokolesterolemiknya belum dibuktikan secara *in vivo*. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kemampuan *Lactobacillus* sp Dad13 dan yogurt yang disuplementasi sel *Lactobacillus* sp Dad13 dalam menurunkan kolesterol secara *in vivo* pada hewan coba. Dua puluh empat ekor tikus *Sprague Dawley* jantan berumur 2 bulan dibagi dalam 4 kelompok dan diberi diet standar AIN-93 secara *ad libitum*. Adaptasi dilakukan selama 1 minggu, kemudian tikus diberi diet hiperkolesterol selama 1

minggu. Selama 4 minggu perlakuan, tikus diberi susu skim steril 10% (kontrol), biomasa sel *Lactobacillus sp* Dad13, yogurt, dan yogurt yang disuplementasi sel *Lactobacillus sp* Dad13 sebanyak 1 ml. Pada akhir perlakuan dilakukan analisa profil lipida serum, sifat fisik, kimiawi, dan mikrobiologi digesta yang meliputi berat, kadar air, pH, kolesterol, dan total bakteri asam laktat (BAL). Hasil penelitian menunjukkan bahwa total kolesterol, high density lipoprotein (HDL), trigliserida (TG), low density lipoprotein (LDL), dan rasio LDL/HDL pada ketiga perlakuan turun secara signifikan ( $P < 0,05$ ) jika dibandingkan dengan kontrol. Penurunan kolesterol terbanyak pada perlakuan biomasa sel *Lactobacillus sp* Dad13 yaitu sekitar 39,8%. Pemberian sel probiotik dapat meningkatkan populasi BAL digesta. Penurunan kolesterol serum sejalan dengan rendahnya konsentrasi kolesterol digesta. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa sel probiotik lokal *Lactobacillus sp* Dad13 terbukti mempunyai efek hipokolesterolemik secara *in vivo* dan dapat dikembangkan sebagai makanan fungsional yang dapat menurunkan kolesterol.

Kata kunci : probiotik, bakteri asam laktat, yogurt, efek hipokolesterolemik

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Studi yang dilakukan World Health Organization (WHO) menyimpulkan bahwa progresi pengapuran koroner bertambah tiga persen per tahun sejak usia seseorang melewati 20 tahun. Kenyataan ini membuktikan bahwa progresivitas aterosklerosis memang meningkat secara bertahap dan pelan-pelan dengan membawa dampak yang membahayakan (Khomsan, 2002).

Kadar kolesterol darah yang tinggi merupakan salah satu faktor resiko timbulnya aterosklerosis yang selanjutnya dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti penyakit jantung koroner. Oleh karena itu menjaga kadar kolesterol darah pada level yang normal perlu dilakukan untuk menurunkan resiko penyakit jantung koroner.

Beberapa probiotik dan produk makanan probiotik seperti yogurt diketahui dapat menurunkan kolesterol serum darah. Kemampuan probiotik dan yogurt dalam menurunkan kolesterol telah banyak diteliti (Rao *et al.*, 1981; Grunewald, 1982; Pulusani dan Rao, 1983; Jaspers, 1984; Akalin *et al.*, 1997). Namun hasil yang diperoleh dari berbagai penelitian tersebut masih kontradiksi dan kemungkinan disebabkan oleh rancangan percobaan yang berbeda dan asupan yogurt atau kultur yang digunakan dalam penelitian kurang sesuai.

Jasper *et al.* (1984) mengamati efek hipokolesterolemik pada hari ke-14 sampai 21 setelah pemberian tablet yang berisi *L. acidophilus* dan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* pada sukarelawan. Penelitian pada subyek tikus telah dilakukan oleh Rao *et al.* (1981), Grunewald (1982), Pulusani dan Rao (1983), dan Akalin *et al.* (1997). Rao *et al.* (1981)

melaporkan penurunan kolesterol plasma pada tikus yang mengonsumsi susu fermentasi oleh *S. thermophilus*. Grunewald (1982) mendapatkan efek yang sama pada susu fermentasi oleh *L. acidophilus*. Pulusani dan Rao (1983) mendapatkan penurunan kolesterol plasma dan liver pada tikus yang diberi susu fermentasi oleh *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, dan *L. acidophilus*. Akalin *et al.* (1997) mempelajari pengaruh yogurt dan acidophilus yogurt terhadap kadar kolesterol tikus, didapatkan bahwa rata-rata kadar kolesterol total dan LDL kolesterol menurun dengan nyata pada pemberian acidophilus yogurt. Peningkatan jumlah *Lactobacillus* dan penurunan fecal coliform terjadi setelah konsumsi acidophilus yogurt.

Ngatirah (2000) telah melakukan seleksi pada sejumlah bakteri asam laktat dari isolat-isolat lokal sebagai probiotik yang berpotensi menurunkan kolesterol secara *in vitro* dan diperoleh isolat terpilih yaitu *Lactobacillus sp.* Dad13 yang diisolasi dari makanan fermentasi susu kerbau (dadih), *L. acidophilus* D2 yang diisolasi dari feses bayi, dan *L. plantarum* Mut7 yang diisolasi dari makanan fermentasi ketela (gatot). Ketiga isolat tersebut mampu mengasimilasi kolesterol berturut-turut 3,77%; 3,60%; 2,69% dan mempunyai kemampuan mendekongugasi garam empedu berturut-turut 3,98%; 1,97%; 0,83%. Penelitian kemampuan sel probiotik tersebut dalam menurunkan kolesterol pada hewan percobaan (*in vivo*) belum dilakukan.

Selama ini penyebab penurunan kolesterol serum darah secara *in vivo* masih berupa dugaan, dalam penelitian ini akan dianalisa kadar kolesterol digesta untuk mengetahui ada tidaknya peningkatan kolesterol digesta yang merupakan indikasi kolesterol yang berada pada saluran pencernaan diikat/ diasimilasi oleh sel bakteri. Rancangan penelitiannya juga berbeda dari penelitian sebelumnya karena tikus dibuat tinggi kadar kolesterol serumnya dengan pakan hiperkolesterol selama 1 minggu, kemudian selama perlakuan pakan yang diberikan diganti pakan standar AIN-93 (tanpa kolesterol).

### **Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh pemberian sel *Lactobacillus sp.* Dad13 pada profil lipida serum darah serta berat, kadar air, pH, kolesterol, dan total bakteri asam laktat (BAL) pada digesta tikus *Sprague Dawley*.

### **METODA PENELITIAN**

#### **Bahan Penelitian**

Kultur murni *Lactobacillus sp.* Dad13, *L. bulgaricus* FNCC 0041, dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Kultur stok disimpan dalam gliserol 20% : skim 10%

(1:1), dimasukkan dalam tabung ependorf dan disimpan pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$ . Susu sebagai bahan dasar pembuatan yogurt adalah susu pasteurisasi komersial (rendah lemak) dan susu skim bubuk. Dua puluh empat ekor tikus *Sprague Dawley* jantan berumur 2 bulan dengan berat badan  $\pm 200$  g diperoleh dari Badan POM Jakarta. Pakan diformulasikan menurut standar AIN-93 (Reeves, 1993). Komposisi pakan standar dan hiperkolesterol dapat dilihat pada Tabel 2.1. Campuran vitamin, mineral, L-sistin, dan kolin bitartrat (ICN) diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM, kasein (produksi Selandia Baru) diperoleh dari Bratako Chemicals, tepung jagung, minyak kedelai, dan sukrosa diperoleh dari Toko Intisari.

Tabel 2.1. Komposisi pakan standar dan hiperkolesterol yang diformulasikan menurut standar AIN-93 (Reeves, 1993)

| Komponen              | Komposisi (g/kg diet) |                 |
|-----------------------|-----------------------|-----------------|
|                       | Standar               | Hiperkolesterol |
| Tepung jagung         | 620,692               | 440,66          |
| Kasein                | 140                   | 140             |
| Sukrosa               | 100                   | 100             |
| Minyak kedelai        | 40                    | 40              |
| Serat                 | 50                    | 50              |
| Campuran mineral      | 35                    | 35              |
| Campuran vitamin      | 10                    | 10              |
| Lemak sapi (tallow)   | 0                     | 180             |
| L-sistin              | 1,8                   | 1,8             |
| Kolin bitartrat       | 2,5                   | 2,5             |
| Tert-butilhidroquinon | 0,008                 | 0,04            |
| Total (gr)            | 1000                  | 1000            |

Bahan-bahan kimia yang digunakan yaitu media MRS cair (Merck, Oxoid),  $\text{CaCO}_3$  (Merck). Kit untuk analisa profil lipid diperoleh dari DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co., Holzheim, Jerman, dengan nomer kit 10 130 021 (kolesterol), 10 571 021 (trigliserida), dan 10 350 022 (HDL). Bahan-bahan kimia lain dengan grade PA diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM.

#### **Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang pemeliharaan tikus, autoklaf (merk Hirayama), oven listrik (Heraius Electronic type UT 5042 EK), inkubator suhu 30 °C, 37 °C, dan 43 °C (merk Forma Scientific), spektrofotometer (tipe UV-1601 Shimadzu), sentrifus (merk Labofuge 200/Heraius), pH meter (merk ToA Jenway), deep freeze suhu -40 °C, Quebec Colony Counter (Darkfield, American Optical), dan seperangkat alat-alat gelas.

#### **Tahapan Penelitian**

Tahapan penelitian meliputi produksi biomasa sel *Lactobacillus sp* Dad13, formulasi pembuatan yogurt, dan penelitian pada hewan coba.

##### **a. Produksi biomassa sel**

Produksi biomasa sel *Lactobacillus sp* Dad13 dilakukan dengan cara basah. Sel probiotik ditumbuhkan pada media cair MRS yang diperkaya jus tomat 20% (v/v), kemudian disentrifugasi, dicuci dengan pepton water, kemudian pelet diresuspensi dalam susu skim 10% steril dan disimpan pada suhu 4 °C. Biomasa sel basah ini

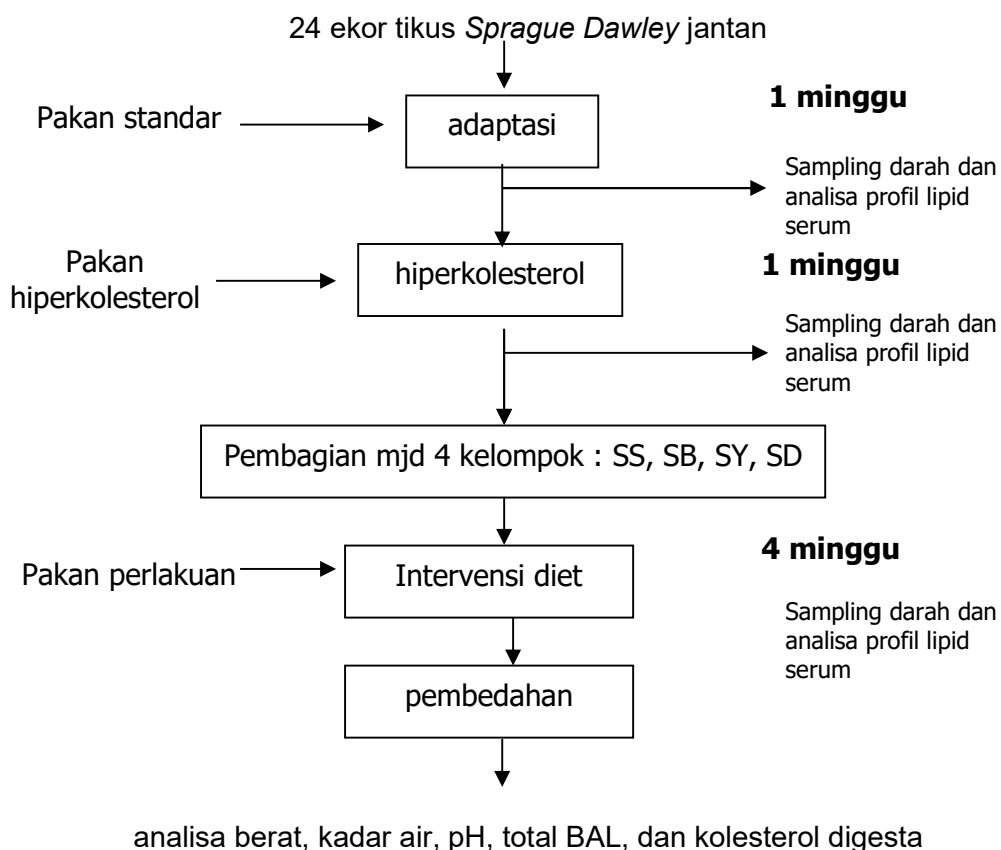
hanya dapat digunakan selama 7 hari, jika ada biomasa sel yang tersisa tidak dapat digunakan lagi untuk perlakuan *force feeding*.

**b. Formulasi pembuatan yogurt**

Yogurt dibuat dari susu pasteurisasi komersial dan susu skim, kemudian diinokulasi dengan *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* dengan perbandingan volume starter = 1:1 (sebagai kontrol) atau *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, dan *Lactobacillus sp* Dad13 (St + Lb + Dad13) dengan perbandingan = 2:1:1.

**c. Penelitian pada hewan coba**

Tikus diadaptasikan selama 1 minggu dengan diberi pakan standar dan pada akhir minggu pertama dilakukan analisa profil lipid serum (kolesterol total, HDL, LDL, dan TG). Tikus dibuat hiperkolesterol dengan pemberian pakan tinggi kolesterol selama 1 minggu, kemudian dianalisa profil lipidnya. Tikus dibagi secara acak menjadi 4 kelompok. Pemberian biomasa sel atau yogurt dilakukan pada jam 08.00 secara *force feeding* sebanyak 1,0 ml. Air minum dan pakan selama perlakuan disediakan secara *ad libitum*. Pakan diberikan sebanyak 15 gr / hari dan ditimbang pakan yang tersisa. Tikus ditimbang beratnya setiap 1 minggu sekali. Bagan penelitian dengan tikus percobaan dapat dilihat pada Gambar 2.1. berikut:



Gambar 2.1. Diagram alir percobaan *in vivo* pada tikus *Sprague Dawley*

**Keterangan :**

**SS:** pakan standar dan susu skim; **SB:** pakan standar dan biomasa sel *Lactobacillus* sp *Dad13*; **SY:** pakan standar dan yogurt; **SD:** pakan standar dan yogurt yang disuplementasi *Lactobacillus* sp *Dad13*.

**d. Pengambilan sampel**

Pada akhir minggu ke-1, ke-2, dan ke-6 semua tikus diambil darahnya lewat mata (*reorbital plexus*) dengan menggunakan tabung mikrohematokrit untuk analisis profil lipida. Pada akhir minggu ke-6 dilakukan pembedahan tikus untuk diambil digesta yang ada di caecum.

**e. Metode Analisis**

Kolesterol total, trigliserida, dan HDL kolesterol dianalisa secara enzimatis dengan menggunakan kit dari DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co., Holzheim, Jerman. LDL kolesterol dihitung secara by difference dengan rumus :

$$\text{Kolesterol LDL} = \text{Kolesterol total} - \text{Kolesterol HDL} - \text{Trigliserida}/5$$

Digesta tikus diisolasi dan diseksi dengan gunting dan isi keseluruhan digesta merupakan berat digesta. Kadar air dianalisis dengan metode gravimetri. pH caecum diukur dengan alat pH meter. Total bakteri asam laktat digesta dihitung dengan metode mikropating. Kolesterol digesta ditentukan dengan spektrofotometer menurut metode Liebermann-Burchard (Plummer, 1997).

**Analisa Statistik**

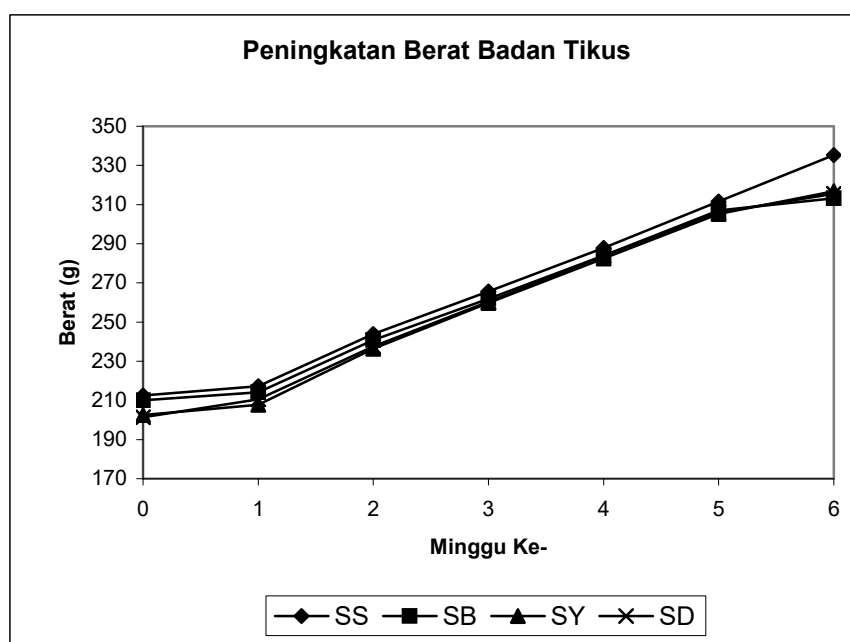
ANOVA (Analysis of Variance) dilakukan dengan menggunakan program software statistik untuk membedakan antar perlakuan dan uji Least Significant Difference (LSD) pada tingkat kepercayaan 5% (Gomez dan Gomez, 1995).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Berat badan tikus *Sprague Dawley* selama penelitian**

Selama percobaan berat badan tikus untuk semua kelompok perlakuan mengalami peningkatan, namun di antara semua perlakuan tidak terdapat perbedaan yang nyata. Grafik peningkatan berat badan tikus dapat dilihat pada Gambar 3.1. Asupan pakan pada semua perlakuan tidak berbeda nyata, rata-rata 13,26 g/tikus hari, ini berarti pemberian sel probiotik tidak menyebabkan perbedaan jumlah asupan pakan. Asupan pakan yang normal untuk tikus yaitu 5 g/100 g berat badan (Waynforth dan Flecknell, 1992). Pertambahan berat badan tikus rata-rata 10 g / minggu untuk

semua perlakuan. Pemberian sel probiotik tidak berpengaruh terhadap pertambahan berat badan tikus.



Gambar 3.1 Grafik peningkatan berat badan tikus selama penelitian

Hal yang sama juga diamati oleh Grunewald (1982) yang menguji susu acidophilus pada 3 kelompok tikus (perlakuan yang diberikan yaitu pakan + air; pakan + air + 10% susu skim; dan pakan + air + 10% susu acidophilus) secara *ad libitum*, ternyata juga tidak ada perbedaan berat badan pada ketiga kelompok pada akhir percobaan.

#### Profil lipida pada tikus *Sprague Dawley* selama penelitian

Total kolesterol, high density lipoprotein (HDL), trigliserida (TG), dan low density lipoprotein (LDL) pada ketiga perlakuan turun secara signifikan ( $P < 0,05$ ) jika dibandingkan dengan kontrol. Grafik penurunan total kolesterol, HDL kolesterol, trigliserida, dan LDL kolesterol dapat dilihat pada Gambar 3.2. Prosentase penurunan total kolesterol, HDL kolesterol, trigliserida, dan LDL kolesterol setelah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Prosentase penurunan konsentrasi lipida selama penelitian

| PERLAKUAN | PENURUNAN KONSENTRASI LIPIDA (%) |
|-----------|----------------------------------|
|-----------|----------------------------------|



|                    | KOLESTEROL         | HDL                | TG                 | LDL                |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Skim (kontrol)     | 11,97 <sup>a</sup> | 11,30 <sup>a</sup> | 10,64 <sup>a</sup> | 13,67 <sup>a</sup> |
| Biomassa sel Dad13 | 39,76 <sup>b</sup> | 36,11 <sup>b</sup> | 36,82 <sup>b</sup> | 48,03 <sup>b</sup> |
| Yogurt             | 35,10 <sup>b</sup> | 32,43 <sup>b</sup> | 32,33 <sup>b</sup> | 41,57 <sup>b</sup> |
| Yogurt Dad13       | 36,14 <sup>b</sup> | 32,98 <sup>b</sup> | 32,97 <sup>b</sup> | 43,66 <sup>b</sup> |

<sup>a, b</sup> : superskrip huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak beda nyata

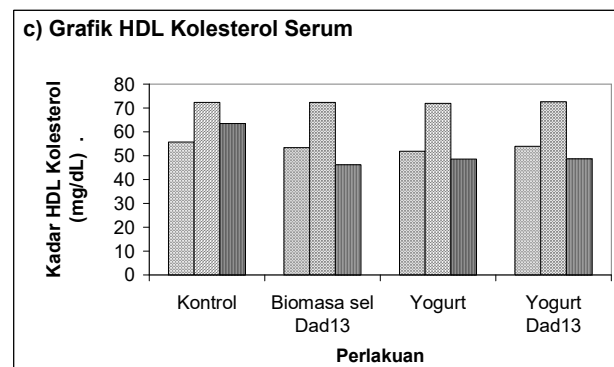
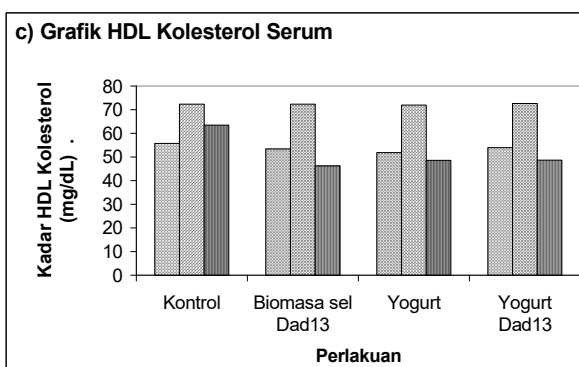
HDL: High Density Lipoprotein, LDL: Low Density Lipoprotein, TG: Triglycerid

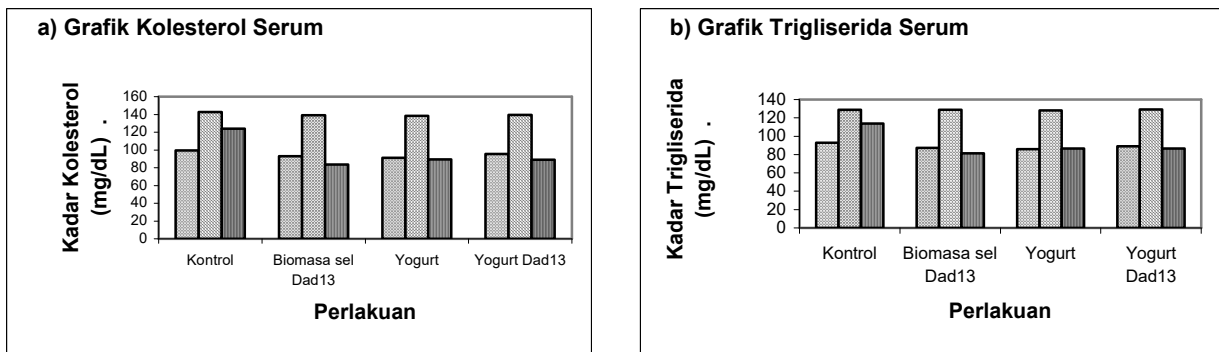
Total kolesterol serum pada tikus untuk semua perlakuan mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ). Penurunan total kolesterol tertinggi pada perlakuan biomassa sel Dad13 yaitu sebesar 39,76%, diikuti perlakuan yogurt Dad13 (36,14%) dan yogurt (35,10%) dibandingkan dengan kontrol skim (11,97%). Secara statistik ketiga perlakuan tidak berbeda nyata.

Trigliserida serum tikus pada ketiga perlakuan mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ). Penurunan total trigliserida tertinggi pada perlakuan biomassa sel Dad13 yaitu sebesar 36,82%, diikuti perlakuan yogurt Dad13 (32,97%) dan yogurt (32,33%).

HDL kolesterol serum tikus pada ketiga perlakuan mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ). Penurunan HDL kolesterol tertinggi pada perlakuan biomassa sel Dad13 yaitu sebesar 36,11%, diikuti yogurt Dad13 (32,98%) dan yogurt (32,43%).

LDL kolesterol serum tikus pada ketiga perlakuan mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ). Penurunan LDL kolesterol tertinggi pada perlakuan biomassa sel Dad13 yaitu sebesar 48,03%, diikuti perlakuan yogurt Dad13 (43,66%) dan yogurt (41,57%).





Gambar 3.2. Profil lipid tikus *Sprague Dawley* selama penelitian

Rasio total kolesterol/HDL (Tabel 3.2.) mengalami penurunan yang tidak berbeda nyata pada ketiga perlakuan. Penurunan rasio total kolesterol/HDL merupakan hasil yang baik karena rasio ini menunjukkan *coronary risk ratio* dan nilai rasio yang normal untuk manusia adalah  $< 5$  (Anonim, 2002). Rasio ini ditujukan untuk memberikan gambaran bagaimana kadar kolesterol berpengaruh terhadap kesehatan dengan mempertimbangkan kolesterol “baik” dan kolesterol “jahat”.

Tabel 3.2. Rasio total kolesterol/HDL selama penelitian

| PERLAKU<br>AN        | RASIO TOTAL KOLESTEROL/HDL |                              |                          |
|----------------------|----------------------------|------------------------------|--------------------------|
|                      | ADAPTA<br>SI               | HIPER<br>KO-<br>LESTE<br>ROL | SETELAH<br>PERLAKUA<br>N |
| Skim<br>(kontrol)    | 1,785 <sup>a</sup>         | 1,970 <sup>a</sup>           | 1,954 <sup>a</sup>       |
| Biomasa sel<br>Dad13 | 1,745 <sup>b</sup>         | 1,921 <sup>b</sup>           | 1,811 <sup>b</sup>       |
| Yogurt               | 1,757 <sup>b</sup>         | 1,926 <sup>b</sup>           | 1,842 <sup>b</sup>       |
| Yogurt<br>Dad13      | 1,767 <sup>b</sup>         | 1,921 <sup>b</sup>           | 1,829 <sup>b</sup>       |

<sup>a, b</sup> : superskrip huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak beda nyata

Rasio LDL/HDL (Tabel 3.3.) mengalami penurunan pada semua perlakuan. Penurunan rasio LDL/HDL merupakan dampak dari penurunan LDL kolesterol (Eichholzer dan Stahelin, 1993) dan ini menunjukkan hal yang baik karena resiko aterosklerosis turun.

Nilai rasio LDL/HDL normal untuk wanita yaitu  $< 3,2$  dan untuk pria  $< 3,5$ . Rasio LDL/HDL juga ditujukan untuk memberikan gambaran korelasi yang lebih baik antara kadar kolesterol darah dengan potensi kesehatan tubuh. Pada dasarnya

nilai rasio ini hampir sama dengan *coronary risk ratio*, hanya tanpa mempertimbangkan nilai trigliserida ( Anonim, 2002).

Tabel 3.3. Rasio LDL/HDL selama penelitian

| PERLAKUAN            | RASIO LDL/HDL      |                              |                          |
|----------------------|--------------------|------------------------------|--------------------------|
|                      | ADAPTA<br>SI       | HIPE<br>RKO-<br>LEST<br>EROL | SETELAH<br>PERLAKUA<br>N |
| Skim                 | 0,451 <sup>a</sup> | 0,614<br><sub>a</sub>        | 0,596 <sup>a</sup>       |
| Biomasa sel<br>Dad13 | 0,419 <sup>b</sup> | 0,564<br><sub>b</sub>        | 0,459 <sup>b</sup>       |
| Yogurt               | 0,426 <sup>b</sup> | 0,569<br><sub>b</sub>        | 0,485 <sup>b</sup>       |
| Yogurt Dad13         | 0,437 <sup>b</sup> | 0,565<br><sub>b</sub>        | 0,474 <sup>b</sup>       |

<sup>a, b</sup> : superskrip huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak beda nyata

***Penelitian secara in vivo ini menunjukkan bahwa sel bakteri Lactobacillus sp Dad13 mempunyai kemampuan dalam menurunkan kolesterol yang lebih tinggi dibanding sel bakteri L. bulgaricus dan S. thermophilus. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Ngatirah et al. (2000) yang telah meneliti dan menseleksi kemampuan beberapa bakteri asam laktat dalam mengasimilasi kolesterol dan mendekongugasi garam empedu secara in vitro. Kemampuan asimilasi kolesterol dan dekonjugasi garam empedu oleh Lactobacillus sp Dad13 lebih besar dibanding L. bulgaricus maupun S. thermophilus. Oleh karena itu penurunan kolesterol serum oleh biomasa sel Dad13 dan yogurt Dad13 lebih tinggi dibanding dengan yogurt meskipun jumlah sel yogurt Dad13 dan yogurt hampir sama.***

Jackson et al. (1999) menyimpulkan bahwa bukti penelitian tidak mendukung efek hipokolesterolemik oleh probiotik ketika diberikan/dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (tidak berlebihan). Akan tetapi dalam penelitian ini pemberian probiotik dan yogurt tidak dalam jumlah yang berlebihan, hanya 1 ml/tikus setiap harinya dan ternyata dapat menghasilkan efek hipokolesterolemik.

Sifat fisik, kimiawi, dan mikrobiologi digesta

**Berat, kadar air, pH, populasi bakteri asam laktat, dan kolesterol digesta dapat dilihat pada Tabel 3.4. Berat digesta untuk masing-masing kelompok dan perlakuan berbeda nyata jika dibanding dengan kontrol ( $P<0,05$ ).**

Menurut Brown *et al.* (1997), *fecal bulk* tidak dipengaruhi oleh adanya bakteri probiotik. Bakteri merupakan kontributor terbesar untuk meningkatkan *fecal bulk* jika *supply* karbohidrat kompleks pada usus besar meningkat, sedangkan dalam penelitian ini kandungan serat pada pakan dan perlakuan dibuat sama, sehingga adanya peningkatan jumlah total bakteri asam laktat tidak dapat meningkatkan *fecal bulk*. Stephen dan Cummings (1980) adalah yang pertama kali menunjukkan bahwa pada manusia peningkatan *fecal bulk* oleh karena konsumsi serat pangan disebabkan karena jumlah bakteri yang lebih besar pada digesta. Sementara itu, Grunewald (1982) melaporkan bahwa konsumsi susu fermentasi tidak dapat meningkatkan *fecal lactobacilli* dan *fecal bulk*.

Kadar air digesta dengan perlakuan biomasa sel Dad13 atau yogurt memberikan hasil yang tidak berbeda nyata, sebaliknya yogurt Dad13 berbeda nyata jika dibanding kontrol.

Tabel 3.4. Berat, kadar air, pH, total BAL, dan kolesterol digesta setelah perlakuan

| NO | KELOMPOK             | BERAT<br>DIGEST<br>A (g) | %<br>KADAR<br>AIR  | pH                | BAL<br>(log<br>CFU/g) | KOLESTER<br>OL<br>DIGESTA<br>(mg/100g) |
|----|----------------------|--------------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|----------------------------------------|
| 1  | Skim                 | 3,73 <sup>a</sup>        | 88,68 <sup>a</sup> | 6,70 <sup>a</sup> | 8,78 <sup>a</sup>     | 114,6 <sup>a</sup>                     |
| 2  | Biomasa<br>sel Dad13 | 3,18 <sup>a</sup>        | 87,73 <sup>a</sup> | 6,50 <sup>b</sup> | 9,00 <sup>a</sup>     | 76,7 <sup>b</sup>                      |
| 3  | Yogurt               | 3,05 <sup>a</sup>        | 87,77 <sup>a</sup> | 6,72 <sup>a</sup> | 8,88 <sup>a</sup>     | 92,5 <sup>b</sup>                      |
| 4  | Yogurt<br>Dad13      | 3,53 <sup>a</sup>        | 86,53 <sup>b</sup> | 6,50 <sup>b</sup> | 9,09 <sup>b</sup>     | 94,7 <sup>b</sup>                      |

<sup>a, b</sup> superscript yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Sel probiotik dapat meningkatkan *fecal bulk* sehingga kadar air pada perlakuan biomasa sel Dad13 dan yogurt lebih besar daripada kontrol skim, akan tetapi hasil penelitian menunjukkan tidak berbeda nyata, kecuali pada perlakuan yogurt Dad13. Brown *et al.* (1997) juga mendapatkan bahwa tidak ada perbedaan kadar air feses pada

babi yang diberi perlakuan sel probiotik *Bifidobacterium longum* dan tepung jagung dengan kandungan amilosa yang tinggi dan rendah.

Sel probiotik dapat memfermentasi serat di usus besar menjadi asam lemak rantai pendek (ALRP), akan tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan variasi terhadap kandungan serat pada pakan dan perlakuan sehingga meskipun jumlah asupan sel probiotik pada biomasa sel Dad13 lebih besar dibanding pada yogurt dan yogurt Dad13, akan tetapi tidak dihasilkan pH digesta yang lebih rendah. Sedangkan pada perlakuan biomasa sel Dad13 atau yogurt Dad13 menunjukkan pH digesta yang berbeda nyata, sebaliknya yogurt tidak berbeda nyata jika dibanding kontrol. Hal ini mungkin disebabkan sel bakteri *Lactobacillus sp* Dad13 dapat memfermentasi serat dengan lebih baik sehingga dapat dihasilkan asam lemak rantai pendek yang lebih banyak dan pH digesta menjadi lebih rendah.

Beberapa komponen diet (misal jenis lipida) dapat mempengaruhi level pH digesta tergantung pada konsentrasi asam lemak rantai pendek (Topping *et al.*, 1993). Pada bagian akhir usus besar babi, tidak ada korelasi antara total ALRP dan nilai pH. Topping *et al.* (1993) juga tidak menemukan hubungan antara asam lemak individual dan nilai pH. Bartram *et al.* (1994) mendapatkan bahwa tidak ada efek yang nyata dari konsumsi probiotik pada total dan individual asam lemak volatil, sehingga pH tidak berbeda antara perlakuan probiotik dan tanpa probiotik. Penurunan pH terjadi karena produksi asam karboksilik dalam jumlah besar terutama asetat dan laktat.

Populasi bakteri asam laktat digesta meningkat 0,1-0,31 log cycle pada perlakuan dengan sel probiotik. Grunewald (1982) mendapatkan bahwa konsumsi susu fermentasi tidak meningkatkan fecal lactobacilli.

Kolesterol digesta pada ketiga perlakuan berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol skim ( $P < 0,05$ ). Ada korelasi positif antara kadar kolesterol serum darah dengan kadar kolesterol digesta. Semakin rendah kadar kolesterol serum darah, semakin rendah pula kadar kolesterol digesta.

Menurut Ersminger (1995), absorpsi kolesterol tergantung pada availabilitas asam empedu dari hati dan kolesterol pankreatik esterase dan jumlah asupan kolesterol. Peningkatan asupan kolesterol dapat menurunkan prosentase kolesterol yang terserap. Pada konsentrasi kolesterol yang tinggi, manusia menyerap kolesterol kurang dari 10% dan sisanya meninggalkan tubuh melalui feses. Kontrol terhadap sintesa kolesterol oleh asupan kolesterol sangat penting karena ketika asupan kolesterol tinggi, maka sintesa kolesterol turun dan sebaliknya.

Berdasarkan hasil analisa kadar kolesterol digesta, maka mekanisme penurunan kolesterol karena asimilasi/pengikatan kolesterol oleh bakteri probiotik seperti yang dikemukakan oleh Gilliland *et al.* (1985) belum dapat dibuktikan karena tidak terjadi peningkatan kadar kolesterol digesta. Penyebab turunnya kadar kolesterol serum darah mungkin disebabkan oleh dekonjugasi garam empedu karena adanya aktivitas enzim *bile salt hydrolase* (BSH) yang dimiliki oleh *Lactobacillus sp* Dad13. Mekanisme dekonjugasi garam empedu ini masih perlu dibuktikan pada penelitian-penelitian yang akan datang.

## ***KESIMPULAN DAN SARAN***

### **Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa biomasa sel bakteri *Lactobacillus sp* Dad13, yogurt, dan yogurt Dad13 dapat menurunkan kolesterol total, HDL kolesterol, trigliserida, LDL kolesterol, dan rasio LDL/HDL serum darah tikus *Sprague Dawley* secara signifikan, sehingga dapat menurunkan resiko aterosklerosis. Penurunan kolesterol terbesar pada perlakuan biomasa sel *Lactobacillus sp* Dad13 yaitu 39,76%. Pemberian sel probiotik dapat meningkatkan populasi bakteri asam laktat digesta. Penurunan kolesterol serum sejalan dengan rendahnya konsentrasi kolesterol digesta. Mekanisme asimilasi/pengikatan kolesterol oleh sel *Lactobacillus sp* Dad13 tidak dapat dibuktikan karena tidak terjadi peningkatan kolesterol digesta pada tikus yang turun kadar kolesterol serum darahnya. Sel probiotik lokal *Lactobacillus sp* Dad13 terbukti mempunyai efek hipokolesterolemik secara *in vivo* dan dapat dikembangkan sebagai makanan fungsional yang dapat menurunkan kolesterol.

### **Saran**

Diperlukan penelitian lebih lanjut pada manusia dengan pemberian probiotik pada dosis yang sebanding untuk mengkonfirmasi apakah dapat memberikan efek hipokolesterolemik yang sama seperti pada tikus.

## ***UCAPAN TERIMA KASIH***

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana untuk penelitian ini melalui proyek Hibah Bersaing IX.

## **RUJUKAN**

1. Akalin, AS, S. Gonc dan S. Duzell, *Influence of yogurt and acidophilus yogurt on serum cholesterol levels in mice*. J. Dairy Science. 80:271. 1997.
2. Anonim, <http://www.lipoproteins.net/>. 2002
3. Bartram, H.P., W. Scheppach, S. Gerlach, G. Ruckdeschel, E. Kelber, dan H. Kaspar, *Does yoghurt enriched with Bifidobacterium longum affect colonic microbiology and fecal metabolites in healthy humans?*. American J. Clin. Nutrition 59: 428-432. 1994.
4. Brown, I., M. Warhurst, J. Arcot, M. Playne, R.J. Illman, dan D.L. Topping, *Fecal numbers of Bifidobacteria are higher in pigs fed Bifidobacterium longum with a high amylose cornstarch than with a low amylose cornstarch*. Journal Nutrition. 127: 1822-1827. 1997.
5. Eichholzer, M. dan H. Stahelin, *Is there a hypocholesterolemic factor in milk and milk products?* Int. J. Vitam. Nutr. Res. 63: 159-167. MEDLINE. 1993.
6. Ersminger, A.H., M.E. Ersminger, J.E. Konlande, J.R.K. Robson, *The Concise Encyclopedia of Food and Nutrition*. CRC Press Inc., Florida. 1995.
7. Gilliland, S.E., C.R. Nelson, dan C Maxwell, *Assimilation of cholesterol by Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environment Microbiology. 49:377. 1985.
8. Gomez, K.A., dan Gomez, A.A., *Statistical procedures for agricultural research*. John Wiley & Sons, New York. 1995.
9. Grunewald, KK. *Serum cholesterol level in rats fed skim milk fermented by Lactobacillus acidophilus*. J. Food Science 47:2078. 1982.
10. Jackson, T.G., G.R.J. Taylor, A.M. Clohessy, *The effect of the daily intake of inulin on fasting lipid, insulin, and glucose concentrations in middle-aged men and women*. Br. J. Nutr. 89: 23-30. 1999.
11. Jaspers, DA, LK Massey, dan LO Luedecke. 1984. *effect of consuming yogurts prepared with three culture strain on human serum lipoprotein*. J. Food Science 49:1178.
12. Khomsan, A., *Vitamin C dan E Cegah Penyakit Jantung*. Kompas, 4 Juni 2002, Jakarta. 2002.
13. Ngatirah, Harmayani, E., Rahayu, E.S. dan Utami, T., *Seleksi bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik yang berpotensi menurunkan kolesterol*. Proceeding National Seminar on Food Industry. Surabaya. 10-11 Oktober 2000.
14. Ngatirah, *Seleksi Bakteri Asam Laktat sebagai Probiotik yang Berpotensi Menurunkan Kolesterol*. Tesis S-2. Program Pasca Sarjana, UGM, Yogyakarta. 2000.
15. Plummer, D.T., *An introduction to practical biochemistry*. Tata McGraw-Hill Pub. Co. Ltd, Bombay, New Delhi. 1997.
16. Pulusani, SR dan DR Rao, *Whole body liver and plasma cholesterol level in rats fed thermophilus, bulgaricus, and acidophilus milk*. J. Food Science. 48:280. 1983.

17. Rao, DR, CB Chawan, dan SR Pulusani, *Influence of milk and themophilus milk on plasma cholesterol level and hepatic cholesterolgenesis in rats*. J. Food Sci 46:1339. 1981.
18. Reeves, P. G., Nielssen, F.H., dan Fahey, G.C., *AIN-93 purified diets for laboratory rodents : final report of the American Institute of Nutrition ad hoc wrirting committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet*. J. Nutr. 123:1939-1951. 1993.
19. Stephen, A.M., dan J.H. Cummings, *Mechanism of action of dietary fiber in the colon*. Nature 284: 283-284. 1980.
20. Topping, D.L., R.J. Illman, J.M. Clarke, R.P. Trimble, K.A. Jackson, Y. Marsono, *Dietary fat and fiber alter large bowel and portal venous volatile fatty acids and plasma cholesterol but not biliary steroids in pigs*. Journal Nutrition. 123: 33-43. 1993.
21. Waynforth, H.B., dan P.A. Flecknell, *Experimental and Surgical Technique in the Rat*. Academic Press Limited, London. p : 347. 1992.