

PENGARUH SUMBER KARBON TERHADAP PENINGKATAN PRODUKSI ASAM GAMMA AMINOBUTIRAT (GABA) *LACTOBACILLUS PLANTARUM* PH715

Ni Wayan Nursini¹, Ida Bagus Agung Yogeswara²

^{1,2}Universitas Dhyana Pura

Email : nursini@undhirabali.ac.id

ABSTRAK

Asam Gamma-Aminobutyric (GABA) adalah asam amino non-protein yang diproduksi melalui dekarboksilasi glutamate oleh enzim glutamate dekarboksilase (GAD). Produksi GABA oleh bakteri asam laktat dapat ditingkatkan melalui pengaturan komposisi nutrisi pada media tumbuh salah satunya adalah penggunaan sumber karbon. Penelitian ini bertujuan mengetahui peningkatan produksi GABA *Lactobacillus plantarum* PH715 pada berbagai sumber karbon. Media pertumbuhan yang digunakan ada;ah MRS dengan 2% MSG dan 1% sumber karbon. Sumber karbon yang digunakan yaitu fruktosa, glukosa, laktosa dan sukrosa. Peningkatan konsentrasi GABA menggunakan metode TLC densitometry, populasi bakteri dengan metode pengenceran dan sebar, pH dengan pH meter. Dari hasil penelitian didapatkan penambahan 1% fruktosa menghasilkan GABA $341,67 \pm 4,55$ $\mu\text{g/ml}$, pada pH $3,9533 \pm 0,006$ dan populasi $8,9433 \pm 0,17$ cfu/ml, penambahan 1% glukosa menghasilkan GABA $338,60 \pm 8,64$ $\mu\text{g/ml}$, dengan pH $3,9567 \pm 0,006$ dan populasi $9,1400 \pm 0,11$ cfu/ml, penambahan 1% laktosa menghasilkan GABA tertinggi $383,86 \pm 2,39$ $\mu\text{g/ml}$ pada pH $4,0233 \pm 0,011$ dan populasi $9,3900 \pm 0,10$ cfu/ml dan penambahan 1% sukrosa menghasilkan GABA $312,70 \pm 5,70$ $\mu\text{g/ml}$, pada pH $3,9433 \pm 0,006$ dan populasi $8,9410 \pm 0,07$ cfu/ml. Simpulannya adalah penambahan 1% sumber karbon mampu meningkatkan produksi GABA secara signifikan ($p < 0,05$).

Kata Kunci : gaba, *lactobacillus plantarum*, sumber karbon

1. PENDAHULUAN

Nutrisi yang tersedia ini seperti karbon dan nitrogen dalam media pertumbuhan akan digunakan untuk menghasilkan metabolit primer dan sekunder (Thirumurugan et al., 2018). Metabolit primer adalah terbentuk secara intraseluler dan memiliki fungsi penting untuk kelangsungan hidup mikroba, sedangkan metabolit sekunder bisa digunakan sebagai nutrisi darurat untuk bertahan hidup atau untuk bertahan diri mereka dalam fase akhir fase pertumbuhan atau kematian (Thirumurugan et al., 2018) (Thirumurugan et al., 2018).

Asam Gamma-Aminobutyric (GABA) adalah salah satunya metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai anti stres agen untuk manusia atau ternak. GABA adalah asam amino non-protein yang diproduksi melalui dekarboksilasi glutamate oleh enzim glutamate dekarboksilase (GAD) (Li & Cao, 2010; Yalçinkaya et al., 2019; Zhuang et al., 2018). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa BAL penghasil GABA memiliki efek fungsional dalam tubuh untuk mengatasi sindrom metabolik seperti jantung koroner, diabetes mellitus, arteriosclerosis dan hipertensi. Senyawa tersebut juga merupakan neurotransmitter inhibitor utama pada sistem syaraf pusat dan berperan dalam mengatur proses fisiologi (tekanan darah dan detak jantung), psikologi, meningkatkan konsentrasi plasma, hormon pertumbuhan dan sintesis protein di dalam otak (Cho et al., 2007; Villegas et al., 2016). Konsumsi makanan yang diperkaya GABA dapat menghambat proliferasi sel kanker (Park & Oh, 2007), meningkatkan daya ingat serta kemampuan belajar (Miura et al., 2006). Kekurangan GABA dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti Huntington, Parkinson, Alzheimer, skizofrenia dan depresi (Diana et al., 2014). Hal ini menunjukkan bahwa GABA juga dapat diproduksi Bakteri asam laktat (BAL) adalah dianggap sebagai mikroorganisme yang berguna, aman dan mampu menghasilkan GABA (Li & Cao, 2010). Produksi GABA yang dihasilkan oleh

masing-masing strain itu berbeda-beda. Produksi GABA oleh bakteri asam laktat dapat ditingkatkan melalui pengaturan komposisi nutrisi pada media tumbuh. Komponen nutrisi yang juga berpengaruh terhadap produksi GABA selain L-glutamat adalah sumber karbon, sumber nitrogen dan konsentrasi PLP (Pyridoxal -5- Phospat), selain itu pH dan waktu inkubasi juga mempengaruhi produksi GABA (Cho et al., 2007; Lim et al., 2017).

Lactobacillus plantarum PH715 adalah salah satu Bakteri Asam Laktat (BAL) yang mampu menghasilkan GABA yang membutuhkan karbon dan nitrogen untuk memenuhi kebutuhan hidup atau memproduksi GABA. Kebanyakan strain BAL biasanya lebih suka glukosa sebagai sumber karbon (Kim et al., 2009). Penggantian glukosa dengan fruktosa, laktosa, maltosa, arabinosa, dan galaktosa dapat mengurangi produksi GABA (Cho et al., (Cho et al., 2007). Menggunakan nitrogen anorganik atau organik juga dapat mempengaruhi pertumbuhan dari BAL. Administrasi nitrogen anorganik menyebabkan pertumbuhan *Lactobacillus buchneri* WPZ001 menjadi sangat parah dihambat, tetapi menyediakan sumber nitrogen organik mengarah ke pertumbuhan *L. buchneri* WPZ001 yang lebih baik (Zhao et al., 2015). Penelitian yang dilakukan (Anggraini et al., 2019) menyatakan *Pediococcus acidilactici* DS15 menghasilkan 311,485mg/L GABA dengan penambahan 100% whey tofu dan 15% palm sugar. Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui peningkatan produksi GABA *Lactobacillus plantarum* PH715 pada berbagai sumber karbon.

2. METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi (iwaki-pyrex), erlenmeyer (iwaki-pyrex), gelas beker (iwaki-pyrex), gelas ukur (iwaki-pyrex), magnetic stirer, stirer bar (iwaki BS-38), cawan petri (iwaki-pyrex), kaca objek, cover glass, tabung eppendorf 1,5ml, timbangan (Shimadzu AUX 220), autoklave (Tomy), laminar air flow cabinet (ESCO), inkubator (Memmert), mikroskop (Olympus), jarum ose, pipetman (Gilson) ukuran 1000µl, 200µl, 20µl tips biru, kuning, kristal (porex bio product), sentrifugasi (Hitachi), vortex (Labinco), kulkas (Toshiba), freezer -200C, TLC chamber, plat TLC RP F254, TLC scanner, lampu bunsen, selop tangan, masker dan kertas tissue. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MRS broth (Oxoid), MRS agar (Oxoid, Natrium Clorida (merck), Mono Sodium Glutamat (MSG), standar GABA (γ-Aminobutyric acid, Sigma), 1-butanol (Merck), asam asetat (Merck), ninyhidrin (Merck), sumber karbon (fruktosa, glukosa, laktosa, sukrosa dan palm sugar), akuades, alkohol 70% (Brataco chemika), dan spiritus.

Penyegaran *L. plantarum* PH715

Isolat *L. plantarum* PH715 yang disimpan dalam gliserol 30% pada suhu -200C diambil sebanyak satu loop ose dan diinokulasikan kedalam tabung reaksi yang berisi 5ml media MRS broth. Tabung reaksi diinkubasi secara aerob selama 24 jam pada suhu 370C. Hasil positif ditunjukkan oleh timbulnya kekeruhan pada tabung (Anggraini et al., 2019; Ko et al., 2013).

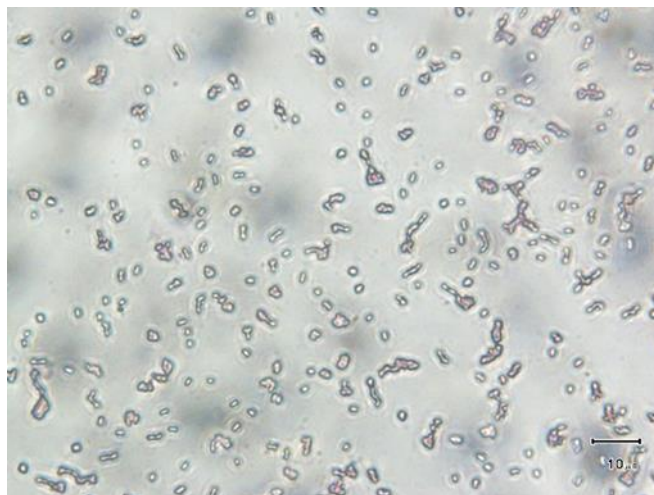
Uji Poduksi GABA pada Berbagai Sumber Karbon

Produksi GABA pada beberapa sumber karbon (fruktosa, glukosa, laktosa, sukrosa dan palm sugar) dilakukan dengan diinokulasi 50µl kultur ke dalam 5ml MRS broth yang ditambahkan 2% (b/v) MSG dan 1% (b/v) sumber karbon sesuai perlakuan. Selanjutnya diinkubasi pada 370C selama 48 jam. Setelah 48 jam dianalisa populasi bakteri (metode pengenceran dan sebar), pH, dan konsentrasi GABA (metode TLC dan TLC densitometri) (Anggraini et al., 2019).

3. Hasil dan Pembahasan

Penyegaran *Lactobacillus plantarum* PH715

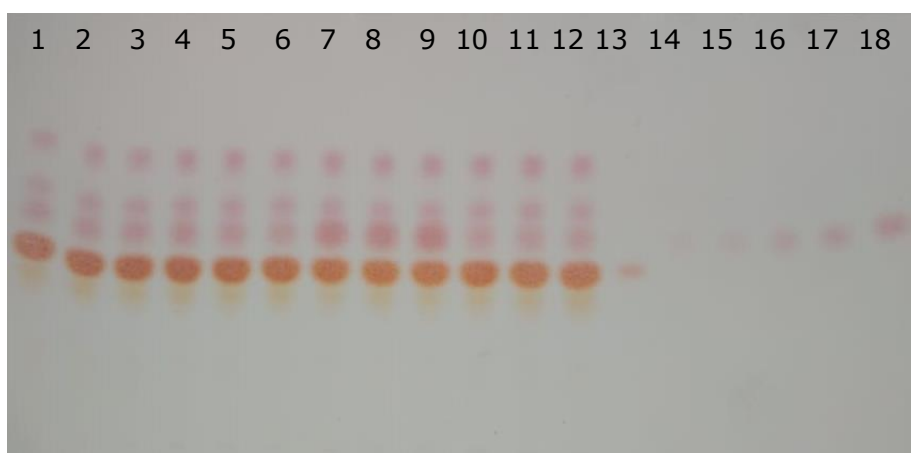
Lactobacillus plantarum PH715 merupakan isolat yang diisolasi dari *pikle* rebung dan merupakan koleksi UPT. Laboratorium biosains dan bioteknologi, Universitas Udayana. Isolat ini merupakan isolat gram positif, secara morfologi berbentuk *bacil*, katalase negatif, tidak membentuk gas pada proses metabolismenya (homofermentatif).



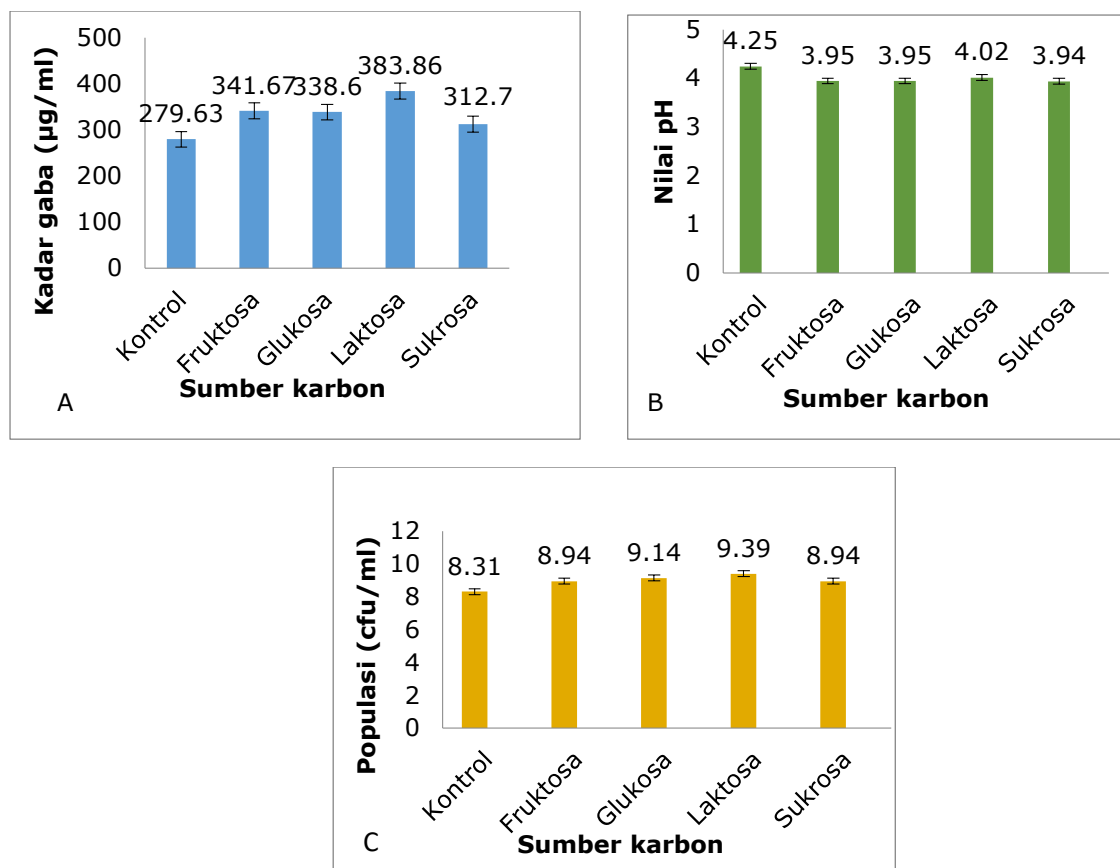
Gambar 1. Morfologi sel *Lactobacillus plantarum* PH715
Sumber : dokumentasi pribadi

Produksi GABA pada berbagai Sumber Karbon

Penggunaan beberapa sumber karbon dalam bentuk gula sederhana dipergunakan dalam penelitian ini untuk mengetahui peningkatan produksi GABA dari *Lactobacillus plantarum* PH715. Hasil TLC *Lactobacillus plantarum* PH715 dapat dilihat pada gambar 1 dan pada gambar 2 dapat dilihat produksi GABA, pH dan populasi *L. plantarum* PH715 pada beberapa sumber karbon.



Gambar 1. Hasil TLC *L. plantarum* PH715 pada berbagai sumber karbon
1-3 : Sukrosa, 4-6 : Fruktosa, 7-9 : Laktosa, 10-12 : Glukosa,
13 : MSG, 14-18 : Standar GABA



Gambar 2. A. Produksi GABA *L. plantarum* PH715 pada beberapa sumber karbon; B. Nilai pH *L. plantarum* PH 715 pada beberapa sumber karbon; C. Populasi *L. plantarum* PH715 pada beberapa sumber karbon

Pada gambar 1 dapat dilihat bahwa *Lactobacillus plantarum* PH 715 mampu menghasilkan GABA dilihat dari nilai Rf yang dihasilkan oleh masing-masing sampel dan sama dengan nilai Rf standar ($R_f = 0,35$). Gambar 2.A. dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan produksi GABA dari pada semua sumber karbon yang digunakan bila dibandingkan dengan kontrol, dan produksi GABA tertinggi pada penambahan 1% laktosa yaitu 383,86 µg/ml pada media MRS broth dan 2% MSG. Peningkatan produksi GABA pada berbagai sumber karbon sejalan dengan penelitian (Cho et al., 2007), menyatakan *Lactobacillus buchneri* yang diisolasi dari kimci menghasilkan GABA pada medium MRS dengan 5% MSG, 1% NaCl dan 1% glukosa pada pH 5 yang diinkubasi pada suhu 30°C selama 36 jam. Menurut (Ko et al., 2013) bahwa *Lactobacillus brevis* FVA 3709 dapat menghasilkan GABA pada medium kedelai hitam dengan 1% MSG, 1% gula merah dan 0,1% pepton yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. *Lactobacillus rhamnosus* GG yang dipergunakan dalam fermentasi kacang adzuki yang menggunakan 2,27% MSG, 1,44% galaktosa, 0,20% PLP pada suhu inkubasi 37°C pada pH medium 4,4 mampu menghasilkan 1,12 mg/mL GABA (Song & Yu, 2018).

Gambar 2.B. menunjukkan kemampuan *L. plantarum* PH715 untuk menurunkan nilai pH dari pH awal media 6,8 menjadi berkisar antara 3,94-4,25. pH optimal untuk produksi GABA dari BAL itu berbeda-beda namun sebagian besar menunjukkan pada kisaran 4-6 (Dhakal et al., 2012). Namun *Lactobacillus lactis* menghasilkan GABA tertinggi 7,2 g/L pada pH 7,5-8 dan produksi GABA menurun pada pH diatas 8 (Yang et al., 2008). Secara umum pH media berubah selama proses fermentasi, oleh karena itu pH awal mempengaruhi hasil akhir GABA dan pH media harus disesuaikan untuk

mempertahankan pH optimum (Dhakal et al., 2012). Nilai pH menurun secara signifikan karena pembentukan asam pada fase eksponensial, dimana pH diturunkan dan sesuai untuk aktivitas GAD untuk peningkatan produksi GABA dimulai (Cho et al., 2007; Sanchart et al., 2017). Small & Waterman (1998) menyatakan bahwa dekarboksilasi sitoplasma menghasilkan konsumsi proton intraseluler setelah pengambilan glutamat oleh transporter spesifiknya, secara bersamaan mengekskpor GABA dari sel oleh antiporter, sehingga terjadi penurunan pH.

Populasi *L. plantarum* PH715 pada gambar 2.C. dapat dilihat bahwa berkisar antara 10^8 - 10^9 , dan populasi tertinggi adalah pertumbuhan pada media MRS dengan 2% MSG dan 1% laktosa yaitu 9,39 log 10 cfu/ml. Peningkatan populasi ini sejalan dengan peningkatan produksi GABA.

4. Simpulan

Simpulan dari Penelitian ini adalah secara umum penambahan 1% sumber karbon mampu meningkatkan produksi GABA. Produksi GABA tertinggi adalah dengan penambahan 1% laktosa yaitu 383,86 µg/ml. Nilai pH produksi GABA berkisar 3,94-4,25. Populasi *Lactobacillus plantarum* PH 715 adalah 10^8 - 10^9 .

5. Daftar Rujukan

- Anggraini, L., Marlida, Y., Wizna, W., Jamsari, J., & Mirzah, M. (2019). Optimization of nutrient medium for *Pediococcus acidilactici* DS15 to produce GABA. *Journal of World's Poultry Research*, 9(3), 139–146. <https://doi.org/10.36380/jwpr.2019.17>
- Cho, Y. R., Chang, J. Y., & Chang, H. C. (2007). Production of γ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from Kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(1), 104–109. <https://doi.org/10.1271/nogeikagaku1924.61.1449>
- Dhakal, R., Bajpai, V. K., & Baek, K. H. (2012). Production of GABA (γ -aminobutyric acid) by microorganisms: A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1230–1241. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400001>
- Diana, M., Quílez, J., & Rafecas, M. (2014). Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: A review. *Journal of Functional Foods*, 10, 407–420. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.004>
- Kim, J. Y., Lee, M. Y., Ji, G. E., Lee, Y. S., & Hwang, K. T. (2009). International Journal of Food Microbiology Production of γ -aminobutyric acid in black raspberry juice during fermentation by *Lactobacillus brevis* GABA100. *International Journal of Food Microbiology*, 130(1), 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.028>
- Ko, C. Y., Lin, H. T. V., & Tsai, G. J. (2013). Gamma-aminobutyric acid production in black soybean milk by *Lactobacillus brevis* FPA 3709 and the antidepressant effect of the fermented product on a forced swimming rat model. *Process Biochemistry*, 48(4), 559–568. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.02.021>
- Li, H., & Cao, Y. (2010). Lactic acid bacterial cell factories for gamma-aminobutyric acid. *Amino Acids*, 39(5), 1107–1116. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0582-7>
- Lim, H. S., Cha, I. T., Roh, S. W., Shin, H. H., & Seo, M. J. (2017). Enhanced production of gamma-aminobutyric acid by optimizing culture conditions of *Lactobacillus brevis* HYE1 isolated from kimchi, a Korean fermented food. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(3), 450–459. <https://doi.org/10.4014/jmb.1610.10008>
- Miura, D., Ito, Y., Mizukuchi, A., Kise, M., Aoto, H., & Yagasaki, K. (2006).

- Hypocholesterolemic action of pre-germinated brown rice in hepatoma-bearing rats. *Life Sciences*, 79(3), 259–264. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.01.001>
- Park, K. B., & Oh, S. H. (2007). Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. *Bioresource Technology*, 98(8), 1675–1679. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.06.006>
- Sanchart, C., Rattanaporn, O., Haltrich, D., Phukpattaranont, P., & Maneerat, S. (2017). *Lactobacillus futsaii* CS3, a New GABA-Producing Strain Isolated from Thai Fermented Shrimp (Kung-Som). *Indian Journal of Microbiology*, 57(2), 211–217. <https://doi.org/10.1007/s12088-016-0632-2>
- Song, H. Y., & Yu, R. C. (2018). Optimization of culture conditions for gamma-aminobutyric acid production in fermented adzuki bean milk. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(1), 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.024>
- Thirumurugan, D., Vijayakumar, R., Vadivalagan, C., Karthika, P., & Alam Khan, M. K. (2018). Isolation, structure elucidation and antibacterial activity of methyl-4,8-dimethylundecanate from the marine actinobacterium *Streptomyces albobogriseolus* ECR64. *Microbial Pathogenesis*, 121(April), 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.025>
- Villegas, J. M., Brown, L., Savoy de Giori, G., & Hebert, E. M. (2016). Optimization of batch culture conditions for GABA production by *Lactobacillus brevis* CRL 1942, isolated from quinoa sourdough. *LWT - Food Science and Technology*, 67, 22–26. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.027>
- Yalçınkaya, S., Başıyigit, G., Gül Karahan, A., & Çakmakçı. (2019). Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology The Importance of Gamma Aminobutyric Acid Produced by Lactic Acid Bacteria Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Gamma Aminobütirik Asitin. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(8), 1094–1099.
- Yang, S. Y., Lü, F. X., Lu, Z. X., Bie, X. M., Jiao, Y., Sun, L. J., & Yu, B. (2008). Production of γ -aminobutyric acid by *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* Y2 under submerged fermentation. *Amino Acids*, 34(3), 473–478. <https://doi.org/10.1007/s00726-007-0544-x>
- Zhuang, K., Jiang, Y., Feng, X., Li, L., Dang, F., Zhang, W., & Man, C. (2018). Transcriptomic response to GABA-producing *Lactobacillus plantarum* CGMCC 1.2437T induced by L-MSG. *PLoS ONE*, 13(6), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199021>