

# MAKALAH PENELITIAN

*Running Title: Efek Terapeutik oleh Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih*

## POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT YANG DIISOLASI DARI DADIH UNTUK MENURUNKAN KADAR KOLESTEROL DARAH

*(THE POTENTIAL OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM DADIH IN REDUCING THE BLOOD CHOLESTEROL LEVEL)*

Usman Pato<sup>1)</sup>

### ABSTRACT

*Epidemiological, laboratory and clinical studies have shown a good correlation between high serum cholesterol and increased risk for the incidence of coronary heart disease. Reduction in total cholesterol and LDL cholesterol in hypercholesterolemic men reduces the incidence of cardiovascular disease. Modification of diets such as ingestion of probiotic in the form of fermented foods or lactic acid bacteria-containing foods is considered as a more natural way to decrease serum cholesterol in humans.*

*Lactic acid bacteria isolated from dadih could reduce the total cholesterol and LDL cholesterol levels in hypercholesterolemic rats by deconjugation of bile salts. Deconjugation of bile salts by BSH of dadih LAB resulted in an increased production of deconjugated bile acids. Deconjugated bile acids are less well absorbed from the small intestine than the conjugated bile acids. Thus, the amount of bile acids returned to the liver during enterohepatic circulation decreased. Deconjugated bile acids are also excreted more rapidly than conjugated bile acids and they bind more easily to the dietary fiber and intestinal bacteria than conjugated bile acids. Loss of bile acids may indeed result in an increased requirement of cholesterol as a precursor for the synthesis of new bile acids. As a consequence, the total cholesterol levels in the body were decreased.*

*Keywords : "dadih", lactic acid bacteria, coronary heart disease, cholesterol, hypocholesterolemic effect*

### PENDAHULUAN

Di dalam dunia medis dan ilmu makanan fungsional akhir-akhir telah berkembang suatu cara yang dapat dilakukan untuk menjaga agar tubuh tetap sehat. Cara ini dapat dilakukan dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung "probiotik". Istilah probiotik ini pertama kali diperkenalkan oleh Lily dan Stillwell pada tahun 1965 untuk menyebut sejenis senyawa yang dihasilkan oleh protozoa yang mampu menstimulasi pertumbuhan organisme lain. Perkembangan selanjutnya istilah probiotik telah digunakan untuk semua mikroba yang mempunyai efek terapeutik pada manusia yang mengkonsumsinya. Probiotik didefinisikan sebagai mikroba hidup yang mempunyai kemampuan efek terapeutik pada manusia dan

hewan yang bekerja dengan cara memperbaiki keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan (Fuller, 1989). Sampai saat ini masih banyak orang yang beranggapan bahwa saluran pencernaan itu hanya sebatas tempat pencernaan dan penyerapan makanan yang selanjutnya tempat menyalurkan sisa-sisa pencernaan keluar tubuh. Tapi anggapan ini merupakan persepsi yang sangat keliru. Selain fungsi pencernaan seperti telah disebutkan, ternyata didalam saluran pencernaan tersebut hidup berbagai jenis mikroba seperti bakteri, khamir dan kapang yang sangat memegang peranan penting bagi kesehatan seseorang. Dari hasil penelitian dilaporkan bahwa sekitar lebih kurang 300-400 spesies mikroba dengan jumlah sekitar  $10^{13}$ - $10^{14}$  sel hidup dalam saluran pencernaan manusia (Salminen and von Wright, 1993). Secara umum mikroba tersebut dapat dikelompokkan ke dalam dua golongan besar, golongan pertama disebut mikroba menguntungkan (*beneficial microbes*) dan yang kedua disebut mikroba berbahaya (*harmful microbes*). Bila mikroba berbahaya mendominasi mikroba lainnya di dalam saluran pencernaan akan menyebabkan timbulnya berbagai penyakit. Hal ini disebabkan mikroba ini menghasilkan atau mensintesis senyawa-senyawa beracun (toksik) misalnya ammonia, fenol, amine, karsinogen dan toksin yang selanjutnya dapat menimbulkan kelainan dan penyakit seperti diare, konstipasi (sembelit), kanker, infeksi saluran pencernaan dan lain-lain. Sebaliknya bila jumlah mikroba menguntungkan mendominasi saluran pencernaan maka pembentukan senyawa-senyawa berbahaya dapat dihindari sehingga secara tidak langsung akan menjaga kondisi saluran pencernaan tetap sehat dan pada akhirnya kesehatan tubuh secara keseluruhan akan terpelihara (Salminen and von Wright, 1993).

Untuk meningkatkan jumlah "mikroba menguntungkan" dapat ditempuh dengan cara menambah mikroba hidup (probiotik) dari luar melalui makanan (termasuk minuman) atau produk obat-obatan. Sampai saat mikroba yang tergolong probiotik dan pada umumnya telah dipasarkan secara komersil adalah bakteri asam laktat (BAL), *Bifidobacterium* sp., *Bacillus subtilis*, *E. coli* yang non-enteropatogenik dan juga khamir misalnya *Saccharomyces boulardi* (Young, 1998; Lourens-Hattingh dan Viljoen, 2001; Kaur *et al.*, 2002). Biasanya mikroba ini dipasarkan dalam bentuk makanan/minuman dan juga dalam bentuk tablet atau kapsul dimana tiap produk mengandung satu jenis atau lebih probiotik (Tabel 1).

<sup>1)</sup> Pusat Penelitian Bioteknologi Universitas Riau  
Kampus Bina Widya Km 12.5 Simpang Baru, Pekanbaru

Salah satu produk fermentasi asal Indonesia yang mengandung bakteri asam laktat yang berpotensi digunakan sebagai probiotik yaitu dadih. Dadih merupakan produk susu fermentasi yang diperoleh dari susu kerbau segar yang difermentasi secara spontan oleh mikroorganisme selama 2-3 hari pada suhu ruang. Menurut Zaidan (1991), cara pembuatan dadih adalah susu sapi atau susu kerbau yang baru saja diperah, disaring kemudian dimasukkan ke dalam tabung dari bambu, ditutup rapat dengan daun (diperam) selama 2-3 hari sampai terjadi penggumpalan. Selanjutnya Haryanto (1999) menyatakan bahwa dadih merupakan padatan susu yang menggumpal dan memisah serta mengendap di bagian bawah. Dadih memiliki tekstur antara mentega dari susu dan keju yang tidak masak. Teksturnya bervariasi dari keju seperti *custard* sampai krim. Semakin tinggi lemak yang dikandung semakin lembut tekstur dari dadih yang dihasilkan (Surono dan Hosono, 1995).

BAL dikategorikan menjadi 10 genus yaitu *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, dan *Vagococcus* (Axelsson, 1993). Namun yang umum ditemukan dalam dadih hanya 4 genus yaitu (1) *Lactobacillus*: *Lb. Brevis*, *Lb. casei subsp. casei*, *Lb. casei subsp. rhamnosus*; (2) *Streptococcus*: *S. faecalis subsp. liquefaciens*, (3) *Leuconostoc*: *Leu. mesentroides* serta (4) *Lactococcus*: *Lc. lactis subsp. lactis*, *Lc. lactis subsp. cremoris*, *Lc. casei subsp. diacetylactis* (Hosono et al, 1989; Imai et al, 1987; Surono dan Nurani, 2001). Selain itu juga ditemukan mikroba yang tergolong bukan bakteri asam laktat yaitu *Micrococcus varians*, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus saprophyticus* serta khamir yaitu *Endomyces lactis* (Hosono et al, 1989).

Dalam ulasan/review ini, penulis hanya membatasi pada potensi bakteri asam laktat (BAL) dadih dalam mencegah penyakit jantung koroner (PJK) dan mengulas mekanisme hipokolesterolemiknya berdasarkan hasil-hasil penelitian yang telah dipublikasi.

## MAKANAN DAN PENYAKIT JANTUNG KORONER

Penyakit jantung koroner merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh berbagai faktor resiko. Secara umum faktor-faktor penyebab terjadinya PJK dapat dikelompokkan atas 2 kategori yaitu pertama, faktor yang bersifat alami atau tidak dapat dicegah misalnya faktor genetik, umur dan jenis kelamin dan kedua, faktor yang dapat dikurangi, diperbaiki atau dimodifikasi misalnya tekanan darah tinggi, merokok, stress, kegemukan, kurang aktivitas fisik, diabetes mellitus dan diet (makanan) yang mengandung kolesterol dan lemak tinggi (Iman, 2000); diantara sejumlah faktor ini yang cukup penting adalah diet. Konsumsi makanan yang mengandung lemak terutama asam lemak jenuh dengan rantai atom karbon antara 12 – 16 (asam laurat, miristat dan palmitat) dapat meningkatkan risiko terjadinya PJK (Grundy, 1991; Hayes dan Khosla, 1992). Sebaliknya asam stearat, suatu asam lemak jenuh yang mempunyai 18 atom C ternyata tidak menyebabkan terjadinya atherosklerosis dan PJK (Bonanone dan Grundy, 1988).

Dalam suatu study yang disebut "meta-analysis" ditemukan bahwa kombinasi asam lemak jenuh dan

kolesterol mempunyai efek peningkatan kadar total kolesterol dan *low density lipoprotein* (LDL) kolesterol, sedangkan konsumsi kolesterol saja mempunyai efek yang relatif kecil (Clarke et al., 1997). Mereka menyarankan untuk mengganti konsumsi asam lemak jenuh dengan asam lemak tidak jenuh dalam terutama bentuk PUFA (*polyunsaturated fatty acid*) dan juga MUFA (*monounsaturated fatty acid*).

Selain itu asam lemak trans yang dikonsumsi lebih dari 8 gr/hari dapat meningkatkan kadar kolesterol dan menurunkan kadar *high density lipoprotein* (HDL) kolesterol darah (Mensink dan Katan, 1990). Hu et al. (1997) melaporkan bahwa pengurangan 2% kalori yang berasal dari lemak trans menurunkan potensi terjadinya PJK pada wanita sebanyak 53%.

## PENCEGAHAN PJK OLEH SENYAWA DALAM MAKANAN

Pencegahan PJK dapat dilakukan dengan cara penggunaan obat-obatan. Berbagai jenis senyawa kimia antara lain 3-hidroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A, clofibrate, cholesteryramine, dan gemfibrozil atau obat-obatan yang dijual komersial antara lain: Lipid, Bezalip, Lipanthyl, Cholesolum, Questran, Zocor, Mevacor, Pravacol, dan Lurselle dilaporkan efektif menurunkan kadar kolesterol darah dan meningkatkan ekskresi asam-asam empedu pada pengidap kadar kolesterol darah tinggi atau hiperkolesterolemia (Iman, 2000). Namun demikian penggunaan obat-obatan tersebut dapat menimbulkan efek samping terhadap tubuh (Erkelens et al., 1988). Penggunaan senyawa kimia secara terus menerus dan cenderung berlebihan dapat menimbulkan efek yang tidak menguntungkan bagi yang mengkonsumsinya (Taranto et al., 1998), dan oleh karena itu perlu dicari alternatif lain yang lebih aman dan alami yaitu dengan pengontrolan makanan/minuman. Berdasarkan pada beberapa hasil percobaan klinik dan studi epidemiologik disimpulkan bahwa mengurangi konsumsi makanan yang mengandung kolesterol dan lemak jenuh tinggi serta diimbangi dengan konsumsi makanan mengandung asam-asam lemak tak jenuh mampu menurunkan kadar kolesterol darah pada manusia (Hughes, 1995). Asam-asam lemak jenuh misalnya omega-3 yang banyak terdapat pada ikan, buah-buahan dan sayuran berdaun hijau dapat menurunkan kadar kolesterol darah (Harris, 1989; Kromhout et al., 1995).

Ikan terutama minyaknya yang mengandung EPA (eicosapentanoic acid) dan DHA (docosahexanoic acid) dilaporkan dapat menurunkan resiko kematian akibat PJK sebanyak 29% pada pasien yang mengkonsumsi ikan dibanding kontrol (Burr et al., 1989). Serat makanan juga dilaporkan mampu mencegah peningkatan kadar kolesterol darah dengan cara mengikat kolesterol dalam diet dan kolesterol yang secara alami disekresi ke dalam saluran pencernaan; kolesterol yang terikat selanjutnya dikeluarkan melalui feses (Vahouny et al., 1980). Kasein juga mempunyai fungsi yang sama dengan serat (Carroll, 1981; Nagata et al., 1981). Pektin, *guar gum* dan *oat bran* mempunyai efek hipokolesterolemik dengan cara meningkatkan ekskresi asam empedu (Anonim, 1997). Demikian juga beberapa jenis asam amino mampu menurunkan kadar kolesterol pada hewan percobaan.

Campuran beberapa (*mixture*) asam amino yang menyerupai struktur kasein dapat menurunkan kadar kolesterol darah kemungkinan dengan cara menstimulasi peningkatan pengeluaran steroid dalam feses. Pemberian glisin dan kalsium dapat menurunkan kadar kolesterol pada tikus dan kelinci (Nagata *et al.*, 1981; 1982). Beberapa peneliti (Kushi *et al.*, 1996; Stampfer *et al.*, 1993) telah melaporkan bahwa vitamin E,  $\beta$ -karoten dan vitamin C dapat mencegah terjadinya aterosklerosis. Konsumsi diet yang banyak mengandung flavonoid juga dapat menurunkan resiko terjadinya kematian akibat PJK pada manusia (Hertog *et al.*, 1993; Knekt *et al.*, 1996). Vitamin dan flavonoid ini bekerja sebagai antioksidan alami untuk mencegah terjadinya reaksi oksidasi oleh radikal bebas terhadap LDL kolesterol. Seperti diketahui, radikal bebas akan mengoksidasi LDL membentuk mLDL (modified LDL) yang berperan penting dalam pembentukan plak (*plaque*) pada pembuluh darah. Juga telah dilaporkan bahwa fraksi yang mengandung antioksidan dari natto, suatu jenis makanan fermentasi terbuat dari kedelai dengan bantuan *Bacillus natto*, dapat menurunkan kadar kolesterol total, LDL kolesterol dan trigliserida, serta dapat mencegah terjadinya atherosklerosis pada kelinci (Yokota *et al.*, 1996).

#### **PENCEGAHAN PJK OLEH BAKTERI ASAM LAKTAT DARI DADIH**

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa mengkonsumsi makanan fungsional misalnya produk-produk makanan fermentasi atau non-fermentasi yang mengandung bakteri asam laktat dapat menurunkan kadar kolesterol darah (Usman and Hosono, 1999a, 1999b; 2001; Rodas *et al.*, 1996; Taranto *et al.*, 1998).

Beberapa peneliti melaporkan bahwa komponen utama dalam produk makanan fermentasi yang berperan langsung dalam penurunan kadar kolesterol darah adalah BAL melalui proses pengikatan kolesterol yang terkandung dalam diet (Gilliland *et al.*, 1985; Hosono and Tono-oka, 1995) dan/atau melalui proses dekonjugasi garam-garam empedu di dalam usus halus (Grill *et al.*, 1995; Usman and Hosono, 2000). Hasil penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa beberapa strain BAL yang diisolasi dari dadih mempunyai kemampuan mengikat kolesterol. Bahkan kemampuan mengikat kolesterol dari BAL dadih secara umum lebih tinggi dibanding BAL yang diisolasi dari makanan fermentasi lainnya seperti kefir dan susu fermentasi (Tabel 2). Adanya variasi kemampuan BAL mengikat kolesterol disebabkan oleh adanya perbedaan struktur dan komposisi kimia dinding sel bakteri (Hosono dan Tono-oka, 1995), dan dipengaruhi pula oleh adanya senyawa-senyawa kimia misalnya sodium taurokolat, fosfolipid dan Tween 80 (Noh *et al.*, 1997; Dambekodi dan Gilliland, 1998) serta ion-ion logam seperti Na, K, Ca dan Mg (Hosono dan Tono-oka, 1995).

Sampai saat ini telah dilaporkan hasil penelitian yang menunjukkan efek hipokolesterolemik pada tikus, babi, *minipig* dan manusia beberapa strain BAL misalnya *S. termophilus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. reuteri*, *Lb. casei*, *Lb. bulgaricus* dan *Lb. gasseri* yang diisolasi dari berbagai sumber misalnya makanan fermentasi, usus dan feses manusia Tabel 3 (Usman, 2002). Demikian pula beberapa

strain BAL yang diisolasi dadih dilaporkan mempunyai efek yang sama. Hasil penelitian secara *in vitro* juga menunjukkan bahwa beberapa strain BAL dadih mempunyai kemampuan untuk mendekongugasi sodium taurokolat, salah satu jenis garam empedu yang paling dominan pada manusia (Tabel 4). Dekongugasi diukur berdasarkan jumlah asam empedu yang dibebaskan; makin banyak asam empedu yang dibebaskan berarti makin tinggi kemampuan BAL untuk mendekongugasi garam empedu. Kemampuan mendekongugasi garam empedu disebabkan oleh kemampuan BAL dadih untuk memproduksi enzim BSH atau bile salt hydrolase (Surono, 2003) yang berperan dalam menghidrolisis garam-garam empedu menjadi asam empedu bebas dan asam amino (Tabel 5). Corzo dan Gilliland (1999) menemukan bahwa proses dekonjugasi garam empedu oleh beberapa strain *Lb. acidophilus* dipengaruhi oleh pH medium, dimana pH optimum untuk berlangsungnya dekonjugasi sodium glikolat dan sodium taurokolat berkisar pH 4 – 5,5. Hasil penelitian secara *in vivo* menunjukkan bahwa salah satu strain dari dadih yaitu *Lc. lactis* subsp. *lactis* IS-10285 mampu menurunkan kadar kolesterol pada tikus (rat) yang menderita hiperkolesterolemia (Tabel 6). Pada penelitian ini kami menemukan adanya penurunan kadar asam empedu dalam darah dan terjadi peningkatan kadar asam empedu pada feses tikus yang diberi diet mengandung strain IS-10285 (Usman dkk., 2003). Efek hipokolesterolemik ini disebabkan oleh kemampuan bakteri ini mendekongugasi garam-garam empedu menjadi asam empedu bebas. Asam empedu bebas yang diproduksi pada proses hidrolis bersifat kurang larut dibanding dengan asam empedu terkonjugasi (garam empedu) khususnya pada pH rendah dan lebih sulit untuk direabsorpsi selama siklus enterohepatik. Selain itu, asam empedu bebas lebih mudah diikat oleh serat makanan dan mikroba penghuni saluran pencernaan. Pemberian susu fermentasi yang terbuat dari strain IS-10285 dapat meningkatkan jumlah mikroba menguntungkan terutama BAL yang bersifat anaerob pada feses tikus (Usman *et al.*, 2003). Peningkatan jumlah BAL pada feses merupakan salah satu indikasi adanya peningkatan jumlah BAL dalam saluran pencernaan. BAL dan mikroba menguntungkan lainnya kemungkinan juga berperan dalam pengikatan asam-asam empedu bebas. Hal ini sesuai dengan penemuan Tono-oka (1994) yang melaporkan kemampuan beberapa spesies BAL untuk mengikat asam empedu secara *in vitro*. Dengan demikian pada kondisi “steady state”, dekonjugasi garam empedu oleh BAL dapat menurunkan kadar kolesterol darah karena sebagian besar kolesterol akan dirombak menjadi asam-asam empedu baru menggantikan asam-asam empedu yang hilang selama sirkulasi enterohepatik dan asam empedu yang dikeluarkan bersama feses (Reynier *et al.*, 1981). Kemampuan menurunkan kadar kolesterol BAL dadih didukung oleh ketahanan BAL dadih terhadap asam klorida dan bile atau asam empedu (Surono, 2003; Usman, 2003) yang memungkinkan bakteri ini tetap hidup setelah melewati lambung yang pHnya sangat rendah (pH 2 – 3) dan selanjutnya mampu berkembang biak di dalam usus halus serta melakukan aktivitasnya untuk mendekongugasi garam-garam empedu.

## KESIMPULAN

Dari uraian di atas dapat disimpulkan bahwa BAL yang diisolasi dari dadih mempunyai potensi untuk menurunkan kadar kolesterol darah pada tikus percobaan. Mekanisme efek hipokolesterolemik dari BAL dadih terjadi melalui proses dekonjugasi garam-garam empedu oleh aktivitas enzim BSH. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui kemungkinan efek hipokolesterolemik melalui mekanisme pengikatan kolesterol. Juga masih perlu diteliti kemampuan BAL dadih untuk menurunkan kadar kolesterol pada manusia.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Akiyoshi Hosono, Fakultas Pertanian, Universitas Shinshu, Nagano, Jepang atas bimbingannya selama mengikuti program Doktor sehingga penulis dapat menghasilkan beberapa makalah yang dipublikasi pada berbagai jurnal internasional dan beberapa datanya disadur dalam review ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Kementrian Negara Riset dan Teknologi atas dana penelitian dalam bentuk program RUTI sehingga pada tahun pertama tim kami telah mendapatkan data penelitian yang beberapa diantaranya juga ditampilkan dalam review ini. Juga terima kasih penulis ucapkan kepada DR. Ingrid S. Surono dan DR. Koesnandar, BPPT, Jakarta atas bantuan dan kerjasama selama pelaksanaan penelitian RUTI.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1997. In: Pilch, S. (Ed.) *Physiological Effects and Health Consequences of Dietary Fiber*. Life Science Research Office, Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda, MD.
- Axelsson, L.T., 1993. *Lactic Acid Bacteria : Classification and Physiology*. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hongkong.
- Bonanone, A and S.M. Grundy, 1988. Effect of Dietary Stearic Acid on Plasma Cholesterol and Lipoprotein Levels. *N. Engl. J. Med.* 318: 1244-1248.
- Burr, M.L., A.M. Fehily, J.F. Gilbert, S. Roger, R.R. Holliday and N.M. Deadman, 1989. Effect of Changes in Fat, Fish and Fibre Intakes on Death and Myocardial Reinfarction: Diet and Reinfarction Trial (DART). *Lancet*. II: 757-761.
- Carroll, K.K., 1981. Soya Protein and Atherosclerosis. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58: 416-419.
- Clarke, R., C. Frost, R. Collins, P. Appleby and R. Peto, 1997. Dietary Lipids and Blood Cholesterol: Quantitative Meta-analysis of Metabolic Ward Studies. *Br. Med. J.* 314: 112-117.
- Corzo, G and S.E. Gilliland, 1999. Bile Salt Hydrolase Activity of Three Strains of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 82: 472-480.
- Dambekodi, P.C. and S.E. Gilliland, 1998. Incorporation of Cholesterol into the Celluler Membrane of *Bifidobacterium longum*. *J. Dairy Sci.* 81: 1818-1824.
- Du Toit, M., C.M.A.P. Franz, L.M.T. Dicks, U. Schillinger, P. Harberer, B. Warlies, F. Ahren and W.H. Holzapfel, 1998. Characterisation and Selection of Probiotic Lactobacilli for a Preliminary Minipig Feeding Trial and Their Effect on Serum Cholesterol Levels, Faeces pH and Faeces moisture Content. *Int. J. Food Microbiol.* 40: 93-104.
- Erkelens, D.W., M.G.A. Baggen, J.J. Van Doormeale, M. Kettner, J.C. Koningsberger and M.J.T.M. Mol, 1988. Clinical Experience With Simvastatin Compared With Cholestyramine. *Drugs* 39: 87-90.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 365-378.
- Gilliland, S.E., C.R. Nelson and C. Maxwell, 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 15-18.
- Grunewald, K.K., 1982. Serum cholesterol in rats fed skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Food Sci.* 47: 2078-2079.
- Grill, J.P., F. Schneider, J. Crociani and J. Ballongue, 1995. Purification and Characterization of Conjugated Bile Salts Hydrolase from *Bifidobacterium longum* BB536. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 2577-2582.
- Grundy, S.M., 1991. Which Saturated Fatty Acids Raise Plasma Cholesterol-levels ?. In: Nelson, G.J.ed. *Health Effect of Dietary Fatty Acids* pp. 83-89. Champaign. IL. American Oil Chemical Society.
- Harris, W.S., 1989. Fish Oil and Plasma Lipids and Lipoproteins in Humans: A Critical Review. *J. Lipid Res.* 30: 785-807.
- Haryanto, S., 1999. *Segarnya Yogurt : Petunjuk Praktis Mengenal dan Membuat*. PT. Hidup Baru Semesta. Bandung.
- Hayes, K.C. and P. Koshla, 1992. Dietary Fatty Acid Thresholds and Cholesterolemia. *FASEB Journal*, 6: 2600-2607.
- Hertog, M.G.L., E.J.M. Feskens, P.C.H. Hollman, M.B. Katan and D. Kromhout, 1993. Dietary Antioxidant Flavonoids and Risk of Coronary Heart Disease. The Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342: 1007-1011.
- Hosono, A., Wardojo, R., and Otani, H., 1989. Microbial Flora in "Dadih", a Traditional Fermented Milk in Indonesia. *Lebensm. Wiss.u-Technol.* 22: 20-24.
- Hosono, A., and Tono-oka, T., 1995. Binding of Cholesterol with Lactic Acid Bacteria Cells. *Milchwissenschaft.* 50: 556-560.
- Hu, F.B., M.J. Stampfer and J.E. Manson, 1997. Dietary Fat Intake and Risk of Coronary Heart Disease in Women. *N. Engl. J. Med.* 337: 1419-1499.
- Hughes, K, 1995. Diet and Coronary Heart Disease – A Review. *Ann. Acad. Med. Singapore*, 24: 224-229.
- Imai, K., M. Tekeuchi, T. Sakane and I. Gandjar, 1987. Bacterial Flora in Dadih. *IFO Res. Com.* 13: 13-16.
- Iman, S., 2000. *Pencegahan dan Penyembuhan Penyakit Jantung Koroner*. PT.Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Kaur, I.P., K. Chopra, and A. Saini, 2002. Probiotics: Potential Pharmaceutical Applications. *Eu. J. Pharmaceut. Sci.* 15: 1-9.
- Knekt, P., R. Jarvinen, A. Reunanen and J. Maatela, 1996. Flavonoid Intake and Coronary Mortality in Finland: A Cohort Study. *Br. Med. J.* 312: 478-481.
- Kromhout, D., E.J.M. Feskens and C.H. Bowles, 1995. The Protective Effect of a Small Amount of Fish on Coronary Heart Disease Mortality in an Elderly Population. *Int. J. Epidemiol.* 24: 340-345.

- Kushi, L.H., A.R. Folsom, R.J. Prineas, P.J. Mink, Y. Wu and R.M. Bostick, 1996. Dietary Antioxidant Vitamins and Death from Coronary Heart Disease in Postmenopause Women. *N. Engl. J. Med.* 334: 1156-1162.
- Lourens-Hattingh, A. and B.C. Viljoen, 2001. Yogurt as Probiotic Carrier Food. *Int. Dairy J.* 11: 1-17.
- Mensink, R.P. and M.B. Katan, 1990. Effect of Dietary Trans Fatty Acids on High Density Lipoprotein Cholesterol in Healthy Subjects. *N. Engl. J. Med.* 323, 439-445.
- Nagata, Y., K. Tanaka and M. Sugano, 1981. Further Studies on the Hypocholesterolemic Effect of Soybean Protein in Rats. *Br. J. Nutr.* 45: 233-241.
- Nagata, Y., N. Ishikawa and M. Sugano, 1982. Studies on Mechanism of Antihypercholesterolemic Action of Soy Protein and Soy Protein-type Amino Acid Mixture in Relation to the Casein Counterparts in Rats. *J. Nutr.* 112: 1614-1625.
- Noh, D.O., S.H. Kim and S.E. Gilliland, 1997. Incorporation of Cholesterol into the Celluler Membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *J. Dairy Sci.* 80: 3107-3113.
- Rao, D.R., C.B. Chawan and S.R. Pulusani, 1981. Influence of Milk and Thermophilus Milk on Plasma Cholesterol Levels and Hepatic Cholesterogenesis in Rats. *J. Food Sci.* 46: 1339-1341.
- Rodas, B.S.D., S.E. Gilliland and C.V. Maxwell, 1996. Hypocholesterolemic Action of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 and Calcium in Swine. *J. Dairy Sci.* 79: 2121-2128.
- Rossouw, J.E., E. Burger, P. Van der Vyver and J.J. Ferreira, 1981. The Effect of Skim Milk, Yogurt and Full Cream on Human Serum Lipids. *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 351-356.
- Salminen, S. and A. von Wright. 1993. Lactic acid bacteria. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong.
- Surono, I.S., and Hosono, A., 1995. Indigenous Fermented Food in Indonesia. *Jpn. J. Dairy Sci.* 44 (3): 96.
- Surono, I. S. and D. Nurani. 2001. Exploration of indigenous dadih lactic bacteria for probiotic and starter cultures. Domestic Research Collaboration Grant-URGE-IBRD World Bank Project 2000-2001. Research Report. January 2001.
- Surono, I. S. 2003. *In vitro* probiotic properties of indigenous dadih lactic acid bacteria. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16:726-731.
- Taranto, M.P., M. Medici, G. Perdigon, A.P. Ruiz Hordago and G.F. Valdez, 1998. Evidence for Hyporcholesterolemic Effect of *Lactobacillus reuteri* in Hypercholesterolemic. *J. Dairy Sci.* 81: 2336-2340.
- Tono-oka T, 1994. Studies on Binding Properties of Lactic Acid Bacteria with Cholesterol and Bile Acid. Graduate School of Agricultural Science, Shinshu University, Japan. Thesis yang tidak dipublikasi.
- Usman, and A. Hosono, 1999a. Bile Tolerance, Taurocholate Deconjugation and Binding of Cholesterol By *Lactobacillus gasseri* Strains. *J. Dairy Sci.* 82: 243-248.
- Usman, and A. Hosono, 1999b. Viability of *Lactobacillus gasseri* and Its Cholesterol-Binding and Antimutagenic Activities During Subsequent Refrigerated Storage in Non-Fermented Milk. *J. Dairy Sci.* 82: 2536-2542.
- Usman, and A. Hosono, 2000. Effect of Administration of *Lactobacillus gasseri* on Serum Lipids and Fecal Steroids in Hypercholesterolemic Rats. *J. Dairy Sci.* 83: 1705-1711.
- Usman, and A. Hosono, 2001. Efek Hypokolesterolemik oleh *Lactobacillus gasseri* SBT0270 pada Tikus yang Diberi Diet Berkolesterol Tinggi. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Pertanian Berkelanjutan di Universitas Lampung pada tanggal 26-27 Juni 2001.
- Usman, 2002. Manfaat Bakteri Asam Laktat Untuk Menurunkan Resiko Penyakit Jantung Koroner-Suatu Tinjauan. *J. Biosains Bioteknol.* 2 (1): 1-6.
- Usman, P. 2003. Bile and Acid Tolerance of Lactic Acid Bacteria Isolated from Dadih and their Antimutagenicity against Mutagenic Heated Tauco. *Asian-Austr J. Anim. Sci.* (in print).
- Usman, P., I.S. Surono, Koesnandar and A. Hosono, 2003. Hypocholesterolemic Effect of Indigenous Dadih Lactic Acid Bacteria by Deconjugation of Bile Salts. *J. Dairy Sci.* (in communication).
- Zaidan, N.A., 1991. Makanan: Wujud, Variasi dan Fungsinya Serta Cara Penyajiannya di Daerah Sumatera Barat. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Vahouny, G.V., R. Tombes, M.M. Cassidy, D. Kritchevsky and L.L. Gallo, 1980. Dietary Fibers. VI. Binding of Fatty Acids and Monolein from Mixed Micelles Containing Bile Salts and Lechitin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 166: 12-16.
- Yokota, T., T. Hattori, H. Onishi, K. Hasegawa and K. Watanabe, 1996. The Effect of Antioxidant-containing Fraction from Fermented Soybean Food on Atherosclerosis Development in Cholesterol-fed Rabbit. *Lebensmit.-Wiss. U.-Technol.* 29: 751-755.
- Young, J. 1998. European Market Development in Prebiotic- and Probiotic-containing Foodstuffs. *Br. J. Nutr.* 80, Suppl. 2, S231-S233.

Table 1. Commercial foods and drugs containing probiotic

Product	Country	Probiotic used
Actimel Orange milk drink	Europe	<i>Lactobacillus casei</i>
ProCult 3 milk drink	Germany	<i>Bifidobacterium longum</i> BB536
Acidophilus Tykmaelk fermented milk	Denmark	<i>L. acidophilus</i>
Yakult	Japan	<i>L. casei</i> Shirota
Gefilus whey drink	Finland	<i>Lactobacillus</i> GG
Yosa oat-based dessert	Finland	<i>L. acidophilus</i> dan <i>B. bifidum</i>
Bifilus fermented milk	Sweden	<i>B. longum</i> , <i>L. bulgaricus</i> dan <i>S. thermophilus</i>
ProViva rosehip drink	Sweden	<i>L. plantarum</i> 299v
Kyo-Dophilus capsuls	Japan	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i> dan <i>B. longum</i>
Acidophilas	Japan	<i>L. acidophilus</i> , ensim lipase, protease, amilase dan laktase
AB milk products	Denmark	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria</i>
BA Bifidus active	France	<i>B. bifidum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>
Bifilakt	Russia	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria</i>
Cultura	Denmark Norway	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria</i>
TH1 Probiotics (Jarrow Formulas)		<i>Saccharomyces boulardi</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i>
Kyr	Italy	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>
BA live	UK	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>
AKTIFIT plus	Switzerland	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria</i> , <i>L. casei</i> GG, <i>S. thermophilus</i>
Symbalance	Switzerland	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacteria</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. reuteri</i>
Subalin		<i>Bacillus subtilis</i>
Mona fysisg	Netherlands	<i>L. acidophilus</i>
Zabady	Egypt	<i>B. bifidum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>
Biokys (Femilact)	Slovakia	<i>Pediococcus acililactici</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>
Colinfant, Mutaflor		Non-enteropathogenic <i>E. coli</i>
Mil-Mil	Japan	<i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. breve</i>

Source: Young (1998); Lourens-Hattingh and Viljoen (2001); Kaur *et al.* (2002).

Table 2. *In vitro* cholesterol-binding activity of lactic acid bacteria isolated from various fermented foods

Lactic acid bacteria	Fermented foods	Cholesterol-binding activity (%)
<i>Ec. faecalis</i> subsp. <i>liquefaciens</i> R-56	dadih	31,0
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> R-14	dadih	18,7
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> R-41	dadih	14,9
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> R-22	dadih	29,7
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> R-43	dadih	33,9
<i>Leuc. mesentroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> K-27	kefir	27,4
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> S-52	fermented milk	20,9
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> S-115	fermented milk	14,2
<i>Leuc. mesentroides</i> subsp. <i>cremoris</i> S-54	fermented milk	11,4
<i>Leuc. mesentroides</i> subsp. <i>cremoris</i> S-112	fermented milk	14,9
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>pseudoplantarum</i> S-4	fermented milk	18,4
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i> S-3	fermented milk	14,7

Source: Hosono and Tono-oka (1995).

Table 3. Report on the hypocholesterolemic effect of some lactic acid bacteria

Lactic acid bacteria	Subject and experimental animals	Source
<i>S. thermophilus</i>	Rat	Rao <i>et al.</i> , 1981
<i>Lb. acidophilus</i>	Swine	Rodas <i>et al.</i> , 1996
	Mouse	Gilliland <i>et al.</i> , 1995 Grunewald, 1982
<i>Lb. reuteri</i>	Mouse	Taranto <i>et al.</i> , 1998
	Minipig	Du Toit <i>et al.</i> , 1998
<i>Lb. casei</i>	Rat	Hashimoto <i>et al.</i> , 1999
<i>Lb. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	Human	Rossouw <i>et al.</i> , 1981
<i>Lb. johnsonii</i>	Minipig	Du Toit <i>et al.</i> , 1998
<i>Lb. gasseri</i>	Rat	Usman and Hosono, 2000; 2001

Table 4. Deconjugation of sodium taurocholate by dadih lactic acid bacteria

Lactic acid bacteria	Final pH	Growth (Abs. At 620 nm)	Cholic acid released (µmol/ml)
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>casei</i> IS 10285	4.73 <sup>b</sup>	1.37 <sup>a</sup>	2.16 <sup>a</sup>
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>casei</i> IS11857	4.73 <sup>b</sup>	1.22 <sup>b</sup>	0.57 <sup>b</sup>
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>casei</i> IS 29862	4.72 <sup>b</sup>	1.30 <sup>a</sup>	1.64 <sup>a</sup>
<i>Lb. brevis</i> IS 2695	4.97 <sup>a</sup>	0.94 <sup>b</sup>	0.31 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Mean in the same column with different superscript letteres differ (P<0.05)

Source : Usman *et al.* (2003)

Table 5. BSH (bile salt hydrolase) activity of lactic acid bacteria isolated from dadih

Lactic acid bacteria	BSH activity
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> IS-10285	+
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> IS-7386	-
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> IS-16183	+
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> IS-11857	++
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> IS-29862	++
<i>Lb. brevis</i> IS-27560	+
<i>Lb. brevis</i> IS 26958	++
<i>Leu. mesentroides</i> subsp. <i>mesentroides</i> IS-27526	-
<i>Leu. mesentroides</i> subsp. <i>mesentroides</i> IS-261082	-
<i>Lb. casei</i> IS-7257	-

- = no activity, + = low activity; ++ = strong activity

Source: Surono (2003).

Table 6. Effect of dietary milk and milk cultured with dadih lactic acid bacteria on serum lipids in rats fed cholesterol-enriched diets

Treatment group	Total cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	LDL <sup>1</sup> cholesterol (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	AI <sup>2</sup>
Control	276.62 <sup>a</sup>	26.97	232.24 <sup>a</sup>	79.15 <sup>b</sup>	9.88 <sup>a</sup>
SKM <sup>3</sup>	204.05 <sup>ab</sup>	25.49	150.52 <sup>ab</sup>	140.17 <sup>a</sup>	6.95 <sup>ab</sup>
FM-IS 29862 <sup>4</sup>	223.97 <sup>ab</sup>	24.49	154.60 <sup>ab</sup>	138.13 <sup>a</sup>	8.18 <sup>ab</sup>
FM-IS 10285 <sup>5</sup>	132.49 <sup>b</sup>	23.94	91.75 <sup>b</sup>	57.02 <sup>b</sup>	3.38 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Mean in the same column with different superscript letters differ (P<0.05)

<sup>1</sup>LDL cholesterol = Total cholesterol-HDL cholesterol-triglycerides/5

<sup>2</sup>AI (Atherogenic index) = LDL cholesterol/HDL cholesterol

<sup>3</sup>SKM = Skim milk

<sup>4</sup>FM-IS 29862 = Fermented milk made from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IS 29862

<sup>5</sup>FM-IS 10285 = Fermented milk made from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IS 10285

Source : Usman *et al.* (2003).