

**PERBEDAAN HASIL KULTUR ANAEROB DENGAN CANDLE JAR DAN
GAS GENERATING SACHET UNTUK BAKTERI ASAM LAKTAT
Lactobacillus plantarum E12.1**

**DIFFERENCES IN ANAEROBIC CULTURE WITH CANDLE JAR AND GAS
GENERATING SACHETS FOR LACTIC ACID BACTERIA
Lactobacillus plantarum E12.1**

Ni Made Sri Dwijastuti^{1*}, I Gusti Agung Ayu Satwikha Dewi²

1. Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Bali Internasional
Jl. Seroja, Gang Jeruk, Kelurahan Tonja, Kec. Denpasar Utara – Kota Denpasar, Bali
2. Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Bali Internasional
Jl. Seroja, Gang Jeruk, Kelurahan Tonja, Kec. Denpasar Utara – Kota Denpasar, Bali

Corresponding author :sridwijastuti@gmail.com

Abstrak

Bakteri asam laktat (BAL) tidak hanya diteliti oleh para ahli dalam skala besar, namun juga dalam skala kecil oleh peneliti pemula. Kelompok BAL merupakan bakteri anaerobik atau mikroaerofilik, sehingga memerlukan kondisi kultur tanpa oksigen atau kadar oksigen minimal. Kultur anaerob yang umum dilakukan pada laboratorium skala kecil adalah menggunakan *anaerobic gas generating sachets* (AGGS). Pengaplikasian AGGS tergolong mudah, praktis, dan efektif untuk membentuk suasana anaerob, namun bersifat sekali pakai dengan harga tergolong mahal. Metode lain yang dapat dilakukan di laboratorium skala kecil adalah *candle jar* (CJ). Metode CJ dapat digunakan berulang, mudah diperoleh, dan harga yang terjangkau, namun masih menyisakan sedikit oksigen di atmosfer. Penelitian ini bertujuan mengamati perbedaan hasil kultur BAL *L.plantarum* E12.1 dengan menggunakan AGGS dan CJ. Penelitian berjenis eksperimen ini dilakukan pada bulan Oktober - November 2022 di laboratorium mikrobiologi klinik, Universitas Bali Internasional. Rata-rata jumlah koloni BAL *L.plantarum* E12.1 yang diperoleh dari kultur dengan AGGS sebesar 33×10^8 CFU/mL, sementara dengan CJ sebesar 38×10^8 CFU/mL. Analisis statistik dengan *Independent T-test* menggunakan SPSS versi 16 menunjukkan nilai $p > 0.5$. Nilai ini berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara hasil kultur menggunakan AGGS maupun CJ. Sehingga untuk menumbuhkan BAL *L.plantarum*, peneliti dapat menggunakan metode AGGS maupun CJ sesuai dengan sumber daya yang tersedia.

Kata kunci :Candle jar,anaerobic gas generating sachets, *Lactobacillus plantarum*

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) are not only studied by experts on a large scale, but also on a small scale by novice researchers. The LAB group is an anaerobic or microaerophilic bacteria, so it requires culture conditions without oxygen or minimal oxygen levels. Anaerobic culture which is commonly carried out in small-scale laboratories is using anaerobic gas generating sachets (AGGS). The application of AGGS is relatively easy, practical, and effective to form an anaerobic atmosphere, but it is disposable and the price is quite expensive. Another method that can be used in small-scale laboratories is the candle jar (CJ). The CJ method is reusable, easy to obtain, and inexpensive, but still leaves little oxygen in the atmosphere. This study aims to observe differences in the results of BAL *L.plantarum* E12.1 culture using AGGS and CJ. This experimental research was conducted from October to November 2022 at the clinical microbiology laboratory, Bali International University. The average number of BAL *L.plantarum* E12.1 colonies obtained from cultures with AGGS was 33×10^8 CFU/mL, while with CJ it was 38×10^8 CFU/mL. Statistical analysis using the Independent T-test using SPSS version 16 showed a p value > 0.5 . This value means that there is no significant difference between the culture results using AGGS and CJ. So to grow LAB *L.plantarum*, researchers can use the AGGS and CJ methods according to the available resources.

Kata kunci :Candle jar,anaerobic gas generating sachets, *Lactobacillus plantarum*

Pendahuluan

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri yang mengubah karbohidrat dengan cepat utamanya menjadi asam laktat serta asam organik lainnya, yang menyebabkan pengasaman produk makanan (Wegkamp et al., 2010). Secara historis, BAL diyakini memiliki manfaat kesehatan seperti meningkatkan pencernaan nutrisi, meringankan gejala intoleransi laktosa dan memproduksi zat-zat fungsional di saluran cerna. BAL yang merupakan *food grade bacteria*, banyak dimanfaatkan sebagai *starter* fermentasi makanan, pengawet makanan (*biopreservatif*), dan probiotik. Aktivitas probiotiknya memiliki pengaruh luas dari segi nutrisi, fisiologi, dan efek antimikroba (Panjaitan, 2018). Kemampuan BAL dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dan bakteri patogen, berkontribusi pada pemeliharaan higienitas dan kualitas produk serta kesehatan konsumen (Perez et al., 2014). Berbagai manfaat yang ditawarkan oleh BAL telah menarik perhatian banyak peneliti serta ahli dalam industri pangan untuk terus melakukan penelitian dan pengembangan potensi yang dimiliki kelompok bakteri ini. Penelitian terkait BAL tidak hanya dilakukan oleh para ahli dalam skala besar, namun juga banyak dilakukan dalam skala kecil oleh peneliti pemula untuk mengeksplorasi strain BAL yang potensial dari berbagai sumber yang tersedia di alam.

Karakteristik umum BAL adalah bakteri gram positif, katalase negatif (beberapa strain dapat menghasilkan pseudokatalase), anaerobik atau mikroaerofilik, berbentuk batang dan kokus yang tahan asam dan tidak bersporulasi (Orla Jensen 1919 dalam Liu et al., 2014). Hayek & Ibrahim, (2013) menyebutkan bahwa aspek biokimia dan biofisika dari lingkungan mampu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan dan aktivitas metabolisme BAL. Georgieva et al., (2009) juga menyatakan bahwa suhu, pH, jenis media tumbuh, dan oksigen berpengaruh besar terhadap aktivitas pertumbuhan BAL *Lactobacillus*. Oleh karena itu, pada prosedur pembiakan BAL perlu dilakukan kontrol terhadap berbagai aspek tersebut termasuk keberadaan oksigen. Pengaturan kadar oksigen pada biakan dilakukan dengan menciptakan suasana anaerob yang baik untuk pertumbuhan bakteri anaerobik atau mikroaerofilik.

Beberapa laboratorium skala kecil umumnya tidak melakukan kultur anaerob secara rutin. Kebanyakan kasus menunjukkan, prosedur kultur anaerob dilakukan di laboratorium rujukan dengan bantuan peralatan khusus seperti tersedianya ruang anaerobik. Metode yang kompleks dan mahal ini digunakan untuk mengisolasi flora anaerobik dan cocok untuk laboratorium yang memiliki fasilitas yang telah dilengkapi dengan baik.

Anaerobic gas generating sachet adalah metode kultur anaerob yang dapat digunakan pada sebagian besar laboratorium skala kecil (Saha et al., 2016). Metode AGGS mengandung komponen aktif seperti asam askorbat yang berfungsi sebagai generator penyerap oksigen. Kultur anaerob dengan AGGS mudah dilakukan tanpa memerlukan keterampilan khusus dari petugas. Penggunaan AGGS cukup dengan membuka kemasan aluminium dan memasukkan *sachet* putih beserta kultur bakteri ke dalam kotak kedap udara. Atmosfer oksigen di dalam kotak akan terserap dengan cepat disertai dengan pembentukan karbon dioksida. Penggunaan AGGS akan mengurangi kadar oksigen dalam kotak hingga di bawah 1% dalam waktu 30 menit. Tingkat karbon dioksida yang dihasilkan akan berada di antara 9 - 13% (ThermoFisher Scientific).

Kultur bakteri anaerob dengan bahan kimia seperti pada metode AGGS telah banyak digunakan dan memiliki tingkat efisiensi yang tinggi (Ermenlieva et al., 2021). Namun, metode kultur anaerob dengan menggunakan AGGS memiliki kekurangan yaitu hanya dapat digunakan sekali, memiliki harga yang cukup mahal, serta

membutuhkan waktu lebih dari satu jam untuk mencapai tingkat oksigen yang sangat rendah (Saha et al., 2016).

Metode lain yang dapat dengan mudah dilakukan di laboratorium kecil dengan sumber daya terbatas untuk kultur anaerob adalah metode CJ. Metode CJ memiliki kelebihan yaitu pemakaian yang sederhana, dapat digunakan secara berulang, dan mudah diperoleh dengan harga terjangkau. Menurut Maiti et al., (2013) bantuan lilin yang menyala menciptakan kondisi anaerobik dengan melepaskan karbondioksida dan mengkonsumsi oksigen dalam proses pembakaran. Metode CJ mampu mengurangi kadar oksigen dalam tabung hingga 1 - 2%. Tingkat karbon dioksida yang dihasilkan akan berada di antara 4 - 5%. Metode CJ bukan merupakan teknik khusus untuk pembiakan bakteri anaerob, melainkan lebih sering digunakan untuk budidaya bakteri mikroaerofil yang membutuhkan kadar oksigen lebih rendah daripada yang ada di atmosfer dan konsentrasi karbon dioksida yang tinggi (Ermenlieva et al., 2021). Metode AGGS dan CJ dapat menciptakan suasana anaerob atau mikroaerofil untuk pertumbuhan BAL. Pada pelaksanaannya kedua metode tersebut memiliki perbedaan dari segi biaya yang dibutuhkan serta kemampuan dalam menurunkan oksigen. Laboratorium skala kecil memiliki sumber daya yang terbatas, sehingga penentuan metode menjadi salah satu bahan pertimbangan yang penting dalam melakukan penelitian sehingga dapat memberikan hasil kultur bakteri anaerob yang optimal dengan harga terjangkau.

Penelitian tentang perbedaan kultur anaerob menggunakan sistem AGGS (*Gono-Pak*) dan CJ pernah dilakukan oleh Devaux, et al., (1987) pada bakteri *N. gonorrhoeae*. Hasil yang diperoleh adalah terdapat pertumbuhan bakteri *N. gonorrhoeae* pada kedua metode, namun pada metode AGGS koloni yang tumbuh memiliki ukuran yang lebih kecil. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Fan dan Li, (1997) pada bakteri *H. pylori*. Hasil yang diperoleh adalah kultur bakteri dengan CJ menunjukkan performa yang baik seperti halnya dengan menggunakan metode generator gas komersial. Namun sampai saat ini, penulis tidak menemukan penelitian yang meneliti perbedaan hasil kultur dengan menggunakan sistem AGGS dan CJ pada BAL.

Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti perbedaan metode AGGS dan CJ pada pertumbuhan BAL *L. plantarum*. BAL *L. plantarum* dipilih sebagai sampel pada penelitian ini karena Genus *Lactobacillus*, dengan lebih dari 200 spesies dan subspecies yang dikenal, merupakan anggota terbesar di antara kelompok BAL (Zotta et al., 2017). Penelitian ini diharapkan memberikan informasi mengenai perbedaan pertumbuhan bakteri asam laktat khususnya *L. plantarum* yang dikultur dengan metode AGGS dan CJ, sehingga peneliti bisa memilih sistem kultur anaerob yang tepat sesuai dengan sumber daya yang tersedia.

Metode Penelitian

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian eksperimen ini dilakukan pada bulan Oktober sampai dengan November 2022 di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Universitas Bali Internasional, Jl. Seroja Gang Jeruk No. 9A Kelurahan Tonja Denpasar, Bali.

Alat dan Bahan Penelitian

Sampel penelitian ini adalah isolat BAL *L. plantarum* E12.1 yang merupakan koleksi penulis yang disimpan dalam bentuk kultur stok beku pada suhu -20°C . Alat yang digunakan berupa *container box* berukuran 11 x 12 x 19 cm (volume 2,5 L), tembus pandang, dan kedap udara serta telah diuji sebelumnya dengan air untuk melihat ada atau tidaknya kebocoran. Pada metode AGGS digunakan Thermo

Scientific™ Oxoid Anaero Gen 2.5 L, sementara pada metode CJ digunakan lilin putih pendek dengan diameter 3,5 cm dan tinggi 1,5 cm.

Prosedur Kerja

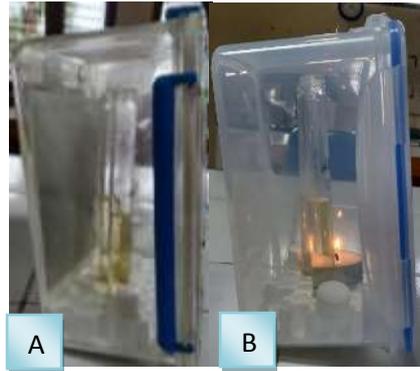
Isolat BAL *L. plantarum* E12.1 dari kultur stok beku dikultur pada media MRS (*De Man, Rogosa, and Sharpe*, Merck) agar, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam kondisi anaerob. Koloni yang tumbuh digunakan untuk prosedur selanjutnya.

Kultur Bakteri Anaerob Metode Anaerobic Gas Generating Sachets

Koloni BAL *L. plantarum* E12.1 yang tumbuh pada media MRS agar dikultur kembali pada 3 tube media MRS broth yang masing-masing berisi 10 mL media MRS broth. Tube yang berisi media MRS broth dan koloni BAL *L. plantarum* E12.1 kemudian dimasukkan ke dalam kotak transparan. Selanjutnya, kemasan aluminium AGGS dibuka dan sachet putih dimasukkan ke dalam kotak kemudian kotak ditutup dengan rapat (gambar 1A). Kotak kedap udara diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, pertumbuhan bakteri uji dihitung dengan metode hitungan cawan menggunakan teknik *spread plate*. Kultur bakteri uji dalam media MRS broth pada masing-masing tube diencerkan dengan larutan saline untuk membuat serial pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-8} (Benson, 2001). Sebanyak 50 µl suspensi bakteri (cuplikan) dari tingkat pengenceran yang sesuai dari masing-masing tube disebar secara merata pada media MRS agar dengan bantuan *plate spreader*. Media yang telah ditanami dengan suspensi bakteri selanjutnya diinkubasi pada kondisi anaerob dengan metode AGGS pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah 48 jam, dilakukan perhitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing *plate agar*. Perhitungan diulang sebanyak 3 kali, kemudian dirata-ratakan untuk mengurangi bias karena perhitungan jumlah koloni yang kurang tepat.

Kultur Bakteri Anaerob Metode Candle Jar

Koloni BAL *L. plantarum* E12.1 yang tumbuh pada media MRS agar dikultur pada 3 tube media MRS broth yang masing-masing berisi 10 mL media MRS broth. Tube yang telah berisi media MRS broth dan koloni BAL *L. plantarum* E12.1 dimasukkan ke dalam kotak transparan. Lilin putih dinyalakan dan dimasukkan ke dalam kotak kemudian ditutup rapat (gambar 1B). Setelah nyala lilin mati, kotak kedap udara dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, pertumbuhan bakteri uji dihitung dengan metode hitungan cawan menggunakan teknik *spread plate*. Kultur bakteri uji dalam media MRS broth pada masing-masing tube diencerkan dengan larutan saline untuk membuat serial pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-8} (Benson, 2001). Sebanyak 50 µl suspensi bakteri (cuplikan) dari tingkat pengenceran yang sesuai dari masing-masing tube disebar secara merata pada media MRS agar dengan bantuan *plate spreader*. Media yang telah ditanami dengan suspensi bakteri selanjutnya diinkubasi pada kondisi anaerob dengan metode CJ pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah 48 jam, dilakukan perhitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing *plate agar*. Perhitungan diulang sebanyak 3 kali, kemudian dirata-ratakan untuk mengurangi bias karena perhitungan jumlah koloni yang kurang tepat.



Gambar 1. : Kotak kedap udara dengan *anaerobic gas generating sachets* (A) dan kotak kedap udara dengan lilin (B)

Analisis Data

Pembacaan koloni BAL *L. plantarum* E12.1 dilakukan pada tingkat pengenceran dengan jumlah koloni 30 – 300 koloni per plate. Jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing plate dihitung dengan bantuan *coloni counter*. Untuk memperoleh nilai satuan pembentuk koloni (CFU/mL), hasil penghitungan jumlah koloni dimasukkan ke dalam rumus berikut:

$$\text{Satuan pembentuk koloni} = \frac{\text{Jumlah koloni(CFU)}}{\text{Pengenceran} \times \text{Volume cuplikan (mL)}}$$

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Koloni BAL *L. plantarum* E12.1 yang ditumbuhkan dengan metode CJ maupun AGGS pada media MRS *agar* menunjukkan karakteristik koloni yang berbentuk bulat cembung (konveks), permukaan yang halus, berwarna putih, dan tepian yang rata seperti yang ditampilkan pada pada Gambar 2.



Gambar 2. Koloni BAL *L. plantarum* E12.1 pada media MRS *agar*

Data hasil perhitungan jumlah koloni pada kelompok perlakuan dengan CJ dan kelompok perlakuan dengan AGGS ditampilkan pada Tabel 1. Berdasarkan data pada tabel dapat dilihat bahwa jumlah koloni terbanyak dalam satu plate ditunjukkan oleh

kelompok perlakuan dengan *candle jar* yaitu CJ3 sejumlah 228 koloni atau sebanyak 46×10^8 CFU/mL. Sementara jumlah koloni paling sedikit ditunjukkan oleh kelompok perlakuan dengan *anaerobic gas generating sachet* yaitu AGGS1 sejumlah 140 koloni atau sebanyak 28×10^8 CFU/mL. Berdasarkan data yang ditampilkan dalam tabel juga dapat dihitung rata-rata jumlah koloni yang dihasilkan pada metode CJ adalah 191 koloni atau sebanyak 38×10^8 CFU/mL, sementara rata-rata jumlah koloni pada metode AGGS yaitu 163 koloni atau sebanyak 33×10^8 CFU/mL.

Tabel 1. Data Hasil Kultur BAL *L.plantarum* E12.1 menggunakan *Candle Jar* dan *Anaerobic Gas Generating Sachet*

KelompokPerlakuan	JumlahKoloni	Hasil Perhitungan (CFU/mL)
CJ 1	193	39×10^8
CJ 2	151	30×10^8
CJ 3	228	46×10^8
AGGS 1	140	28×10^8
AGGS 2	154	31×10^8
AGGS 3	194	39×10^8

Hasil perhitungan jumlah koloni selanjutnya dianalisis dengan uji statistik untuk menguji normalitas dan homogenitas data. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk, hasil yang diperoleh adalah taraf signifikan (sig.) atau nilai probabilitas (p) kelompok CJ sebesar 0,862 dan nilai p kelompok AGGS sebesar 0,510. Kedua kelompok memiliki nilai $p > 0,05$, maka sebagaimana dasar pengambilan keputusan dalam uji normalitas *Shapiro-Wilk* dapat disimpulkan bahwa data jumlah koloni untuk kelompok CJ dan AGGS berdistribusi normal. Hasil uji homogenitas data jumlah koloni untuk kelompok CJ dan AGGS dengan *Levene Statistic Test* menunjukkan nilai p sebesar 0,660. Nilai $p > 0,05$, maka sebagaimana dasar pengambilan keputusan dalam uji homogenitas, dapat disimpulkan bahwa varians data jumlah koloni pada kelompok CJ dan AGGS adalah sama atau homogen.

Data yang telah diketahui memiliki karakteristik berdistribusi normal dan bersifat homogen, selanjutnya dianalisis dengan uji beda (*Independent Sample T-Test*). Berdasarkan hasil uji *Independent Sample T-Test* antara kelompok CJ dengan AGGS diperoleh nilai p sebesar 0,375. Nilai p lebih besar dari 0,05 ($0,375 > 0,05$) berarti secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan antara jumlah koloni yang dihasilkan pada kultur anerob menggunakan CJ maupun AGGS.

Pembahasan

Dari data hasil penelitian terlihat ada perbedaan jumlah pembentukan koloni *L. plantarum* E12.1 yg dikultur pada kondisi anaerob dengan AGGS dan CJ. Jumlah koloni *L. plantarum* E12.1 yang dikultur pada kondisi anaerob dengan menggunakan AGGS lebih rendah daripada jumlah koloni dengan menggunakan CJ. Pada perlakuan dengan AGGS, diperoleh rata-rata nilai satuan pembentuk koloni sebesar 33×10^8 CFU/mL, sementara nilai rata-rata satuan pembentuk koloni dengan CJ sebesar 38×10^8 CFU/mL. Jika kedua nilai tersebut dibandingkan, maka dapat dilihat adanya selisih nilai sebesar 50×10^7 CFU/mL.

Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Smetanková et al., (2018) yang menyebutkan bahwa hasil akhir pertumbuhan sel dalam kondisi aerobik lebih tinggi dibandingkan dengan kondisi anaerob. Lebih lanjut disebutkan bahwa secara umum, strain *lactobacillus* yang diteliti tumbuh lebih cepat dalam kondisi aerob pada suhu 37°C, kecuali pada sampel 115 dan 2L2.

Zotta et al., (2017) menyebutkan bahwa spesies bakteri dari genus *Lactobacillus* secara tradisional memang diklasifikasikan sebagai bakteri anaerob yang toleran terhadap kehadiran oksigen, namun telah dibuktikan melalui beberapa penelitian bahwa beberapa strain dapat menggunakan oksigen sebagai substrat dalam reaksi yang dimediasi oleh flavin oksidases, dan pada beberapa kasus menggunakan oksigen untuk mensintesis respiratori minimal. Selain itu, Hickey et al. (1983); Kandler (1983) dalam Guidone et al., (2013) juga mengungkapkan bahwa BAL secara umum adalah organisme fermentatif yang tidak membutuhkan oksigen untuk pertumbuhan, tetapi dapat tumbuh dalam kondisi aerobik dan menghasilkan piruvat dari jalur fosfoketolase yang dapat dimetabolisme secara aerobik menjadi asetil fosfat dan asetat. Kultur dengan CJ menyediakan lingkungan mikroaerofil dengan menyisakan sekitar 1-2 % oksigen yang tidak terbakar (Maiti et al., 2013). Sisa oksigen inilah yang menyebabkan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh pada penggunaan CJ lebih tinggi dibandingkan dengan AGGS.

Jumlah sel *L. plantarum* yang dihasilkan pada kondisi aerob memang lebih besar dibandingkan dengan kondisi anaerob, namun produksi asam laktat yang lebih tinggi dihasilkan oleh kultur pada kondisi anaerob (Gupta et al., 2011). Zotta et al., (2017) juga menyebutkan pada anggota kelompok *L. plantarum* dan *L. casei*, respirasi aerobik tidak meningkatkan laju pertumbuhan dibandingkan budidaya anaerobik, tetapi meningkatkan biomassa hasil. Pernyataan ini didukung oleh hasil penelitian Murphy & Condon, (1984) yang menyebutkan bahwa selama inkubasi aerobik *L. plantarum* dalam media kompleks dengan glukosa 55,6 mM, terlihat adanya penurunan laju pertumbuhan relatif dibandingkan dengan inkubasi anaerobik. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun pada kondisi kehadiran oksigen dapat meningkatkan jumlah sel, kehadiran oksigen tidak memberikan manfaat yang baik pada laju pertumbuhan dan produksi asam yang juga merupakan aspek penting pada kultur *L. plantarum*. Oleh karena itu, kultur untuk pembiakan BAL *L. plantarum* pada kondisi aerob tidak disarankan.

Jumlah absolut hasil perhitungan nilai satuan pembentuk koloni diantara kedua perlakuan memang menunjukkan adanya perbedaan. Namun hasil analisis statistik dengan *Independent T-test* pada perbandingan hasil kultur *L. plantarum* dengan CJ dan AGGS menunjukkan nilai $p > 0,5$ yang berarti perbedaan nilai keduanya tidak bermakna. Berdasarkan hasil uji ini dapat kita simpulkan bahwa kultur anaerob dengan menggunakan CJ maupun AGGS tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dari segi jumlah koloni yang dihasilkan. Hasil ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Devaux, et al., (1987) pada bakteri *N. gonorrhoeae* serta Fan dan Li, (1997) pada bakteri *H. pylori*. Seperti halnya BAL *L. plantarum* E 12.1, Bakteri *N. gonorrhoeae* dan *H. pylori* dapat tumbuh dengan baik pada kultur anaerob dengan menggunakan AGGS maupun CJ.

Selain kehadiran oksigen, berbagai faktor biokimia dan biofisika seperti komposisi media (sumber karbohidrat, konsentrasi gula dan faktor pertumbuhan), pH and konsentrasi produk juga dapat mempengaruhi aktivitas pertumbuhan *L. plantarum*. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran maupun intervensi terhadap faktor-faktor tersebut sehingga tidak menutup kemungkinan mempengaruhi aktivitas pertumbuhan *L. plantarum* E12.1 yang diamati. Meskipun demikian, selain menggunakan CJ dan AGGS, semua perlakuan pada penelitian ini dibuat sama antara kedua kelompok, seperti menggunakan media yang sama, strain bakteri dari satu koloni yang sama, serta inkubasi yang dilakukan dalam satu ruangan inkubator. Dengan demikian, meskipun mempengaruhi hasil pertumbuhan strain uji, berbagai faktor tersebut tidak mempengaruhi hasil perbandingan antara kedua perlakuan yang menjadi poin pengamatan pada penelitian ini.

Kesimpulan

Penelitian ini menyimpulkan bahwa kondisi anaerob dengan metode *candle jar* dan *anaerobic gas generating sachet* tidak menunjukkan perbedaan jumlah koloni yang bermakna, sehingga untuk menumbuhkan BAL khususnya *L. plantarum*, peneliti dapat menggunakan manapun diantara kedua metode sesuai dengan kondisi di laboratorium masing-masing. Selanjutnya, perlu dilakukan penelitian terhadap spesies BAL lainnya dari beberapa genus yang berbeda untuk mendapatkan gambaran yang mewakili kelompok BAL secara umum.

Daftar Pustaka

- Benson, 2001. *Microbiological Applications Lab Manual in General Microbiology* (Jean Fornango Jim Smith, Ed.; Eighth Edition). The McGraw-Hill Companies.
- Devaux, D. L., Evans, G. L., Arndt, C. W., & Janda, W. M., 1987. Comparison of The Gono-Pak System with The Candle Extinction Jar for Recovery of *Neisseria gonorrhoeae*. In *Journal of Clinical Microbiology*. <https://journals.asm.org/journal/jcm>
- Ermenlieva, N. M., Georgieva, E. P., Stamova, S. Y., Georgieva, S. F., & Mihaylova, S. G., 2021. Two Alternative Methods for Anaerobic Cultivation of *Bacteroides Fragilis* Atcc 25285 Compared to The Efficiency of Cultivation in a Gas Pack System. *Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)*, 27(4), 4035–4037. <https://doi.org/10.5272/jimab.2021274.4035>
- Fan, X. G., & Li, T. G., 1997. Growth of *Helicobacter pylori* in candle jars. In *J. Med. Microbiol* (Vol. 46).
- Georgieva, R., Koleva, P., Nikolova, D., Yankov, D., & Danova, S., 2009. Growth Parameters of Probiotic Strain *Lactobacillus Plantarum*, Isolated From Traditional White Cheese. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 23, 861–865. <https://doi.org/10.1080/13102818.2009.10818558>
- Guidone, A., Ianniello, R. G., Ricciardi, A., Zotta, T., & Parente, E., 2013. Aerobic Metabolism and Oxidative Stress Tolerance in the *Lactobacillus Plantarum* Group. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(9), 1713–1722. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1334-0>
- Gupta, S., Abu-Ghannam, N., & Scannell, A. G. M., 2011. Growth and kinetics of *Lactobacillus Plantarum* in The Fermentation of Edible Irish Brown Seaweeds. *Food and Bioproducts Processing*, 89(4), 346–355. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.10.001>
- Hayek, S. A., & Ibrahim, S. A., 2013. Current Limitations and Challenges with Lactic Acid Bacteria: A Review. *Food and Nutrition Sciences*, 04(11), 73–87. <https://doi.org/10.4236/fns.2013.411a010>
- Liu Wenjun, Pang Huili, Zhang Heping, & Cai Yimin., 2014. Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. In Heping Zhang & Yimin Cai (Eds.), *Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice*. Springer Science and Business Media.
- Maiti, P., Haldar, J., Mukherjee, P., & Dey, R., 2013. Anaerobic Culture on Growth Efficient Bi-Layered Culture Plate In A Modified Candle Jar Using A Rapid And Slow Combustion System. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 31(2), 173–176. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.115218>
- Murphy, M. G., & Condon, S., 1984. Comparison Of Aerobic And Anaerobic Growth Of *Lactobacillus plantarum* In A Glucose Medium. In *Arch Microbiol* (Vol. 138).
- Panjaitan, R. N. L. D. R., 2018. *Potensi Prebiotik Isolat Bakteri Asam Laktat asal Tempe dan Tape*. Institut Pertanian Bogor.

- Perez, R. H., Zendo, T., & Sonomoto, K., 2014. Novel Bacteriocins From Lactic Acid Bacteria (LAB): Various Structures And Applications. *Microbial Cell Factories*, 13. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S3>
- Saha, U. S., Misra, R., Tiwari, D., & Prasad, K. N., 2016a. A Cost-Effective Anaerobic Culture Method & Its Comparison With A Standard Method. *Indian Journal of Medical Research*, 144(OCTOBER), 611–613. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.200881>
- Saha, U. S., Misra, R., Tiwari, D., & Prasad, K. N., 2016b. A Cost-Effective Anaerobic Culture Method & Its Comparison With A Standard Method. *Indian Journal of Medical Research*, 144(October), 611–613. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.200881>
- Smetanková, J., Hladíková, Z., Valach, F., Zimanová, M., Kohajdová, Z., Greif, G., & Greifová, M., 2018. Influence of Aerobic And Anaerobic Conditions on The Growth And Metabolism of Selected Strains of *Lactobacillus plantarum*. *Acta Chimica Slovaca*, 5(2), 204–210. <https://doi.org/10.2478/v10188-012-0031-1>
- Thermo Fisher Scientific, Atmosphere Generation System Anaerogen. Diakses tanggal: 20 November 2022, Available at: http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=AN0035
- Wegkamp, A., Teusink, B., de Vos, W. M., & Smid, E. J., 2010. Development of a Minimal Growth Medium for *Lactobacillus plantarum*. *Letters in Applied Microbiology*, 50(1), 57–64. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02752.x>
- Zotta, T., Parente, E., & Ricciardi, A., 2017. Aerobic Metabolism In The Genus *Lactobacillus*: Impact On Stress Response and Potential Applications In The Food Industry. In *Journal of Applied Microbiology* (Vol. 122, Issue 4, pp. 857–869). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jam.13399>