

Evaluasi Keamanan *Lactobacillus plantarum* Mut-7: Studi Translokasi Bakteri Pada Organ Dan Darah Tikus *Sprague Dawley* Menggunakan Metoda *Polymerase Chain Reaction*

ABSTRAK

Lactobacillus plantarum Mut-7 merupakan strain baru bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik dan diisolasi dari singkong yang difermentasi secara tradisional (Gatot). Evaluasi keamanan *L. plantarum* Mut-7 dilakukan menggunakan tikus *Sprague Dawley* sebagai model dengan dosis tinggi (10^{11} CFU/ekor) selama 28 hari. Dalam penelitian ini potensi translokasi bakteri dievaluasi melalui perbandingan metoda *Repetitive-PCR* dan *Ribosomal intergenic Analisis Spacer (RISA)-PCR*. Metoda *Repetitive polymerase chain reaction* (Rep-PCR) dengan BOXA1R primer terpilih sebagai metode PCR yang lebih baik dan digunakan untuk menganalisis antar isolat bakteri dan dilanjutkan dengan identifikasi oleh analisa urutan gen 16S rRNA. Sembilan (9) strain *L. plantarum* dari FNCC (*Food and Culture Gizi Collection* UGM, Indonesia) sebagai kontrol dan 26 isolat bakteri dari organ dan darah tikus dievaluasi oleh Rep-PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Rep-PCR menggunakan BOX A1R menghasilkan pola pita yang sangat diskriminatif pada 9 strain *L. plantarum*. Analisis filogenetik berdasarkan BOXA1R-PCR pada 26 isolat yang diisolasi dari darah dan organ tikus menunjukkan bahwa semua isolat memiliki *similarity coefisien* <75% dengan *L. plantarum* Mut-7. Menurut data tersebut dapat dinyatakan bahwa diantara 26 isolat tersebut tidak ada yang memiliki kemiripan gen identik dengan strain bakteri *L. plantarum* Mut-7. Sepuluh isolat dari 26 isolat darah dan organ tikus dianalisis lebih lanjut menggunakan analisa urutan gen 16S rRNA. Hasil *sequencing* menunjukkan bahwa 10 isolat tersebut termasuk genus *Lactobacillus* (8 spesies) dan *Enterococcus* (2 spesies), tidak ada strain *Lactobacillus* tersebut yang teridentifikasi sebagai *L. plantarum*. Hasil ini mendukung data keamanan dari *Lactobacillus plantarum* Mut-7 sebagai bakteri probiotik karena berdasarkan pengujian secara molekuler *L. plantarum* Mut-7 tidak melakukan translokasi pada organ dan darah tikus.

Kata Kunci: Probiotik, *Lactobacillus plantarum* Mut-7, Evaluasi Keamanan, rep-PCR, primer BOXA1R.

Safety Evaluation of *Lactobacillus plantarum* Mut-7: Studies Translocation on Bacteria Isolated from Blood and Organ of *Sprague Dawley* Rats using PCR based Technique

ABSTRACT

New strain of *Lactobacillus plantarum* Mut-7 isolated from traditional fermented cassava (Gatot) which potentially has probiotic properties was evaluated its safety. The safety evaluation of *L. plantarum* Mut-7 was investigated using *sprague dawley* rats as a model by orally force feeding high dose treatment (10^{11} CFU/rat) for 28 days. In this study potential bacterial translocation was evaluated through comparing Repetitive-sequence PCR and Ribosomal Intergenic Spacer Analysis (RISA)-PCR. Repetitive sequence based polymerase chain reaction (rep-PCR) with BOXA1R primer was choosen as better PCR method and conducted to analyze closely related bacterial strains and continued with identification by genomic analysis 16S rRNA. Nine (9) strains of *L. plantarum* from FNCC (Food and Nutrition Culture Collection UGM, Indonesia) as control and 26 isolate bacteria from organ and blood of rats were evaluated by Rep-PCR. The result show that Rep-PCR using BOX A1R produced highly discriminatory banding patterns of 9 strains as control belong to *L. plantarum*. Phylogenetic analysis based on BOXA1R-PCR banding types of 26 culture isolated from blood and organ of rats showed that all isolates have low similarity coeffisien $< 75\%$ with *L. plantarum* Mut-7. According to the data it can be stated that among 26 isolates were no resemblance identical genes with bacterial strain *L. plantarum* Mut-7. Ten (10) isolates of 26 isolates from rats organ were further analysis using 16S rRNA genes. The result showed that they are belong to *Lactobacillus* (8 species) and *Enterococcus* (2 species), none of *Lactobacillus* strains belong to *L. plantarum*. These results supporting safety data of *Lactobacillus plantarum* Mut-7 as a probiotic bacteria.

Keywords: Probiotics, *Lactobacillus plantarum* Mut-7, safety evaluation, rep-PCR, primer BOXA1R.