

BAB III. POTENSI EKSOPOLISAKARIDA BAKTERI ASAM LAKTAT UNTUK MENCEGAH DAN MENGENDALIKAN DIABETES MELLITUS TIPE 2

**Eko Farida¹, Yanesti Nur Avianda Lestari¹, Mursid Tri Susilo¹,
Latifah Rachmawati¹**

¹Program Studi Gizi, FIK, Universitas Negeri Semarang

e_farida@mail.unnes.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.15294/km.v1i2.75>

Abstrak

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan salah satu potensi indigenus Indonesia yang berhasil diisolasi dari berbagai makanan fermentasi. BAL bersifat menguntungkan di bidang pangan maupun kesehatan. BAL juga memiliki potensi sebagai probiotik dengan berbagai manfaat fungsional bagi tubuh. Studi yang telah dilakukan melaporkan bahwa produk pangan yang difermentasi dengan BAL akan meningkatkan aktivitas antioksidan dan penghambatan terhadap α -glukosidase. Produk pangan dengan kandungan antioksidan tinggi mampu menurunkan inflamasi pada kondisi diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) sehingga menurunkan glukosa darah. Salah satu mekanisme penurunan glukosa darah adalah melalui penurunan ekspresi gen pengendali proses glukoneogenesis di hati yaitu gen fosfoenol piruvat karboksikinase (Pepck) dan glucose-6-fosfatase (G6pc). Komponen yang diduga berperan dalam mekanisme penurunan glukosa darah oleh BAL adalah eksopolisakarida (EPS). Eksopolisakarida merupakan metabolit sekunder BAL yang mampu menempel dan berkolonisasi di mukosa usus sehingga menekan pertumbuhan patogen. Tantangan pengembangan BAL sebagai probiotik adalah pada saat komersialisasi produk. BAL harus mudah dikulturkan pada skala besar dan harus bertahan selama proses fermentasi atau pengolahan. BAL harus tetap stabil dan bertahan viabilitasnya di

dalam produk selama pemasaran, serta tetap memiliki sifat fungsional sebagai probiotik ketika berada di kolon.

Kata kunci: bakteri asam laktat, diabetes mellitus, eksopolisakarida, probiotik.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia kronis akibat gangguan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Insulin adalah hormon yang diproduksi oleh sel β -pankreas dan berfungsi membantu memasukkan glukosa ke dalam sel untuk diubah menjadi energi yang dibutuhkan oleh tubuh. Penderita DM tidak dapat menyerap glukosa dengan baik sehingga glukosa menumpuk di darah dan menyebabkan hiperglikemia. Gejala umum DM adalah poliurea (sering kencing), polidipsia (rasa haus terus menerus) dan polifagia (perasaan lapar yang berlebih). Seseorang didiagnosa DM jika glukosa darah puasa (GDP) ≥ 126 mg/dL, glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dL atau glukosa darah *postprandial* ≥ 200 mg/dL (WHO, 1999; ADA, 2016).

Klasifikasi DM terdiri dari 3 jenis yaitu diabetes melitus tipe 1 (DMT1), diabetes melitus tipe 2 (DMT2) dan diabetes spesifik lainnya (WHO, 1999). Penderita DMT1 mengalami kerusakan sel β -pankreas sehingga tidak dapat mensekresikan insulin atau menghasilkan insulin dalam jumlah sedikit. Penderita DMT1 memerlukan suntikan insulin dari luar, sehingga dikenal dengan insulin dependent diabetes melitus (IDDM). Penyebab DMT1 adalah genetik atau faktor autoimun. Pada penderita DMT2 terjadi kombinasi antara kerusakan sel β -pankreas dan resistensi insulin. Jumlah insulin yang dihasilkan kemungkinan normal atau menurun, tetapi terjadi penurunan sensitivitas jaringan dalam merespon insulin, dikenal dengan non-insulin dependent diabetes (NIDDM). Penyebab DMT2 adalah gaya hidup terutama konsumsi pangan (tinggi karbohidrat dan lemak) dan kurang aktivitas fisik (ADA, 2016).

Jumlah penderita DM meningkat setiap tahun. Pada tahun 2017 penderita DM di dunia mencapai 425 juta dan pada tahun

2045 diprediksi akan mencapai 629 juta (IDF, 2017). Berdasarkan prediksi dari Badan Kesehatan Dunia (WHO), jumlah penderita DM akan meningkat dari 8.4 juta pada tahun 2000 menjadi 21.3 juta pada tahun 2030 (WHO, 2003). Berdasarkan laporan International Diabetes Federation (IDF) tahun 2017, Indonesia menduduki peringkat ke-6 di dunia dengan jumlah penderita mencapai 10.3 juta orang dan 73.7% penderita DM di Indonesia tidak menyadari bahwa dirinya terkena DM. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 menunjukkan terjadi peningkatan prevalensi DM dari 6,9% pada tahun 2013 menjadi 10,9% pada tahun 2018. Kasus terbesar DM di dunia adalah DMT2, sehingga perlu dipikirkan cara untuk mencegah dan mengendalikannya (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2018).

Salah satu strategi untuk mengendalikan DMT2 adalah dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase dan dipeptidil peptidase IV (DPP-4). Penggunaan inhibitor enzim dalam pengobatan DMT2 telah lazim digunakan, sehingga perlu eksplorasi inhibitor enzim dari bahan alami. Salah satu potensi indigenus Indonesia untuk mencegah dan mengendalikan DMT2 adalah bakteri asam laktat (BAL) yang memiliki potensi sebagai probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah cukup dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya (FAO/WHO, 2001). Isolat probiotik berpotensi untuk mencegah dan mengendalikan DMT2 karena dilaporkan mampu menghambat enzim α -glukosidase (Chen *et al.*, 2014c; Panwar *et al.*, 2014; Muganga *et al.*, 2015; Zeng *et al.*, 2016; Farida *et al.*, 2019), menghambat enzim DPP 4 (Deacon, 2010; Zeng *et al.*, 2016) dan memiliki aktivitas antioksidan (Chen *et al.*, 2014c; Nyanzi *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017; Farida *et al.*, 2019).

Probiotik juga dilaporkan mampu mengendalikan glukosa darah pada hewan coba, seperti *Lactobacillus rhamnosus* CCFM0528 (Chen *et al.*, 2014a), *L. casei* CCFM0412 (Chen *et al.*, 2014b), *L. rhamnosus* hsryfm 1301 (Chen *et al.*, 2015); *L. rhamnosus* NCDC17 (Sing *et al.*, 2017), *L. casei* CCFM419 (Li *et al.*, 2017; Wang *et al.* 2017), dan *L. rhamnosus* (Farida *et al.*, 2020). Aplikasi probiotik pada pangan dan pengaruhnya dalam mengendalikan

DMT2 juga sudah dilakukan pada beberapa produk fermentasi seperti kefir (Hadisaputro *et al.*, 2012; Judiono *et al.* 2012; Judiono *et al.* 2014; Judiono *et al.* 2009), *shubat* atau produk fermentasi susu unta (Manaer *et al.*, 2015), susu kedele yang difermentasi dengan *Bifidobacterium lactis* (Sartang *et al.*, 2015), yoghurt (Mohammadshahi *et al.*, 2014; Asemi *et al.*, 2013) dan jus wortel yang difermentasi dengan *L. plantarum* NCU116 (Li *et al.*, 2014).

EKSOPOLISAKARIDA BAKTERI ASAM LAKTAT

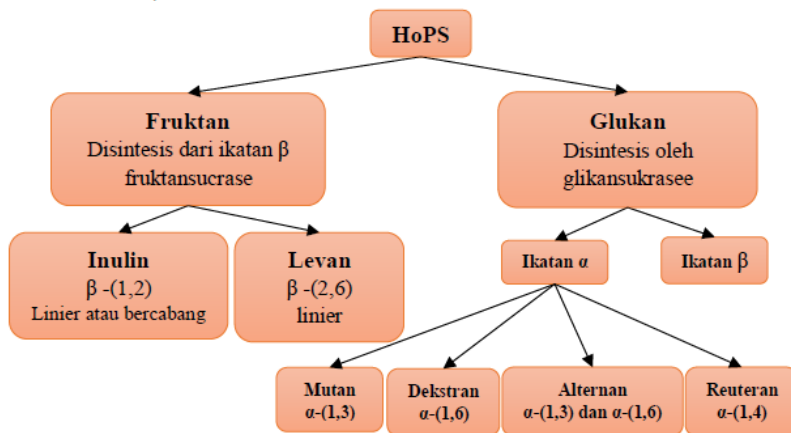
Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, katalase negatif, tahan terhadap kondisi asam dan bersifat fakultatif anaerob. BAL termasuk dalam kelompok *Generally Recognized As Safe* (GRAS) sehingga sebagian besar aman untuk dikonsumsi, kecuali beberapa spesies tertentu yang bersifat patogen. BAL bersifat mesofilik, tetapi ada beberapa strain yang bersifat termofilik. BAL mampu tumbuh pada kisaran suhu 5-45°C. Spesies BAL yang banyak dimanfaatkan di bidang pangan antara lain *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus*. Spesies lainnya adalah *Aerococcus*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus* dan *Vagococcus*.

BAL terdiri dari 2 kelompok berdasarkan kemampuannya dalam metabolisme glukosa dan produk akhir fermentasi yang dihasilkan, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. BAL homofermentatif akan menghasilkan asam laktat sebagai produk utama atau satu-satunya produk hasil fermentasi glukosa, sedangkan BAL heterofermentatif akan memproduksi asam laktat, CO₂ dan etanol dari metabolisme heksosa. BAL homofermentatif banyak digunakan untuk pengawetan makanan karena produksi asam laktat mampu menghambat bakteri penyebab kebusukan makanan dan bakteri patogen lainnya. BAL heterofermentatif digunakan untuk pembentukan flavor dan komponen aroma, seperti asetaldehid dan diasetil.

Beberapa BAL mampu memproduksi metabolit sekunder yang memiliki manfaat terhadap kesehatan, diantaranya adalah eksopolisakarida (EPS). Eksopolisakarida yang dihasilkan mikroorganisme banyak digunakan pada industri karena sifat

fisikokimianya serupa dengan polisakarida tanaman (selulosa, pectin dan pati) dan rumput laut (alginate dan karagenan). Senyawa yang diduga berperan menghambat α -glukosidase dan memiliki aktivitas antioksidan sehingga berperan dalam pengendalian DMT2 adalah EPS yang dihasilkan oleh BAL (Chen *et al.*, 2014c).

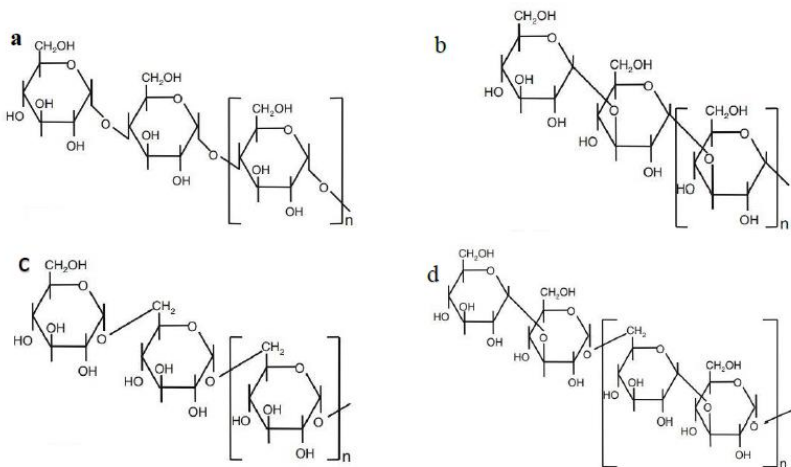
Eksopolisakarida merupakan metabolit sekunder BAL yang disekresikan dalam kondisi tertentu. Eksopolisakarida mampu menekan pertumbuhan bakteri pathogen karena kemampuannya untuk menempel dan berkolonisasi di mukosa usus (Patten & Laws, 2015). Eksopolisakarida dibagi menjadi homopolisakarida dan heteropolisakarida berdasarkan komposisi monosakaridanya (Patel *et al.*, 2012). Homopolisakarida terdiri dari satu jenis monosakarida dan disintesis dalam media ekstraseluler, sedangkan heteropolisakarida terdiri dari beberapa monosakarida yang disintesis dalam media intraseluler (Guerin *et al.*, 2020). Penyusun EPS umumnya adalah monosakarida dan komponen non-karbohidrat, diantaranya suksinat, fosfat, piruvat dan asetat (Nouha *et al.*, 2018).



Gambar 3.1. Klasifikasi Homopolisakarida (Singh *et al.*, 2017)

Homopolisakarida dapat diklasifikasikan berdasarkan ikatan glikosidik, panjang rantai, struktur polimer dan berat

molekul. Homopolisakarida terdiri dari glukukan dan fruktan (Gambar 3.1). Glukan disintesis dari sukrosa oleh glikansukrase dan dicirikan oleh jumlah atom karbon pada ikatan α dan β . Ikatan α (α -D-glukan) terdiri dari mutan, dekstran, alteran dan reuteran. Bakteri penghasil α -D-glukan antara lain *Lactobacillus*, *Leuconostoc* dan *Streptococcus*, sedangkan *Pediococcus* dapat memproduksi β -glukan. Mutan terdiri dari ikatan α -(1,3) glikosidik, sedangkan dekstran merupakan unit berulang glukosil yang dihubungkan oleh ikatan α -(1,6) glikosidik. Dalam pengolahan pangan, dekstran digunakan sebagai pengental dan pengemulsi serta mempunyai sifat reologi yang berbeda sesuai dengan kelarutan dan heterogenitas strukturnya. Struktur alteran terdiri dari ikatan α -(1,6) dan α -(1,3) secara bergantian. Mutan memiliki kemampuan kuat dalam menempel di mukosa usus (Guerin *et al.*, 2020). Contoh BAL penghasil homopolisakarida lainnya adalah *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Weissella*, *Leuconostoc* dan *Oenococcus*. Struktur homopolisakarida glukukan dapat dilihat pada Gambar 2.

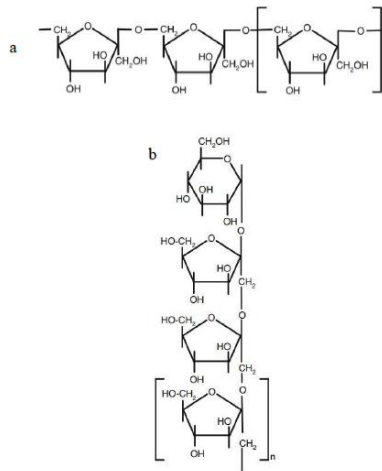


Gambar 3.2. Struktur Homopolisakarida Glukan

a. Reutan, b. Mutan, c. Dekstran, d. Alternan (Daba *et al.*, 2021)

Fruktan terdiri dari fruktosa dan disintesis oleh β -fruktansukrase, contohnya adalah inulin dan levan. Bakteri

penghasil fruktan diantaranya adalah *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* dan *Weissella*, sedangkan levan secara spesifik diproduksi oleh *Lactobacillus reuteri* dan *Lactobacillus sanfranciscensis*. Fruktan mengandung ikatan β -(2,6) atau β -(2,1). Levan terdiri dari ikatan β -(2,6), sedangkan inulin terdiri dari ikatan β -(2,1) dan memiliki rantai cabang pada posisi β -(2,6) (Guerin *et al.*, 2020). Struktur homopolisakarida fruktan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3.3. Struktur Homopolisakarida Fruktan
a. Levan, b. Inulin (Daba *et al.*, 2021)

Heteropolisakarida biasanya terdiri dari 2 sampai 8 monosakarida dengan derajat polimerisasi yang berbeda-beda. Unit penyusun heteropolisakarida diantaranya adalah glukosa, rhamnosa, mannosa, fruktosa dan galaktosa. Struktur heteropolisakarida bisa linier atau bercabang, ditentukan oleh jumlah dan jenis monosakarida serta jenis ikatannya. Bakteri penghasil heteropolisakarida antara lain adalah *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Bifidobacterium*. *Lactobacillus* memproduksi heteropolisakarida yang terdiri dari 7 monosakarida diantaranya adalah glukosa, galaktosa dan rhamnosa sebagai gula utama (Guerin *et al.*, 2020).

Pemanfaatan EPS secara luas pada bidang pangan, farmasi, kesehatan dan industri lainnya telah memberikan berbagai sumbangan positif pada masing-masing bidang. Eksopolisakarida diaplikasikan sebagai pengental, pembentuk gel, pembentuk emulsi, pengental, pembentuk tekstur di berbagai industri pangan. Eksopolisakarida mampu mengikat air selama penyimpanan sehingga mempertahankan tekstur tetap lembut pada produk gel (Malik *et al.*, 2008). Di bidang farmasi atau pengobatan, EPS dilaporkan memiliki berbagai manfaat sebagai anti inflamasi, anti tumor, anti infeksi dan sebagai imunomodulator (Halim *et al.*, 2013). Manfaat ini didasarkan pada kemampuan EPS untuk menempel dan berkolonisasi di permukaan usus sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Eksopolisakarida juga memiliki aktivitas fisiologis sebagai anti virus, penghambat agregasi trombosit, sebagai penginduksi interferon dan pelumas (Anindita, 2020). Probiotik yang dilaporkan mampu menghasilkan EPS diantaranya adalah *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, dan *Weissella* (Tang *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2016; Yasutake *et al.*, 2016).

Beberapa BAL berhasil diisolasi dari berbagai sumber dan mampu menghasilkan EPS dengan berat molekul dan unit penyusun yang bervariasi. *L. plantarum* SKT berhasil diisolasi dari kefir dan mampu menghasilkan EPS yang tersusun dari fruktosa dan glukosa (3:1) dengan berat molekul (BM) $2,1 \times 10^6$ Da (Wang *et al.*, 2015). *L. plantarum* yang diisolasi dari makanan fermentasi mampu menghasilkan EPS yang tersusun dari ribosa, rhamnosa, arabinose, xylose, manosa, glukosa dan galaktosa (2:1:1:10:4:205:215) dengan BM $2,4 \times 10^6$ Da (Tang *et al.*, 2015). *L. rhamnosus* GG mampu menghasilkan EPS dengan unit gula penyusunnya adalah N-acetyl-D-glucosamine, rhamnosa dan galaktosa (Zhang *et al.*, 2016). *L. fermentum* F6 yang diisolasi dari susu mampu menghasilkan EPS yang tersusun dari glukosa dan galaktosa (4:3) dengan BM $3,54 \times 10^6$ Da (Zhang *et al.*, 2011). *P. pentosaceus* LP28 mampu menghasilkan EPS yang terdiri dari glukosa, manosa dan N-acetylglucosamine dengan BM 40 kDa (Yasutake *et al.*, 2016).

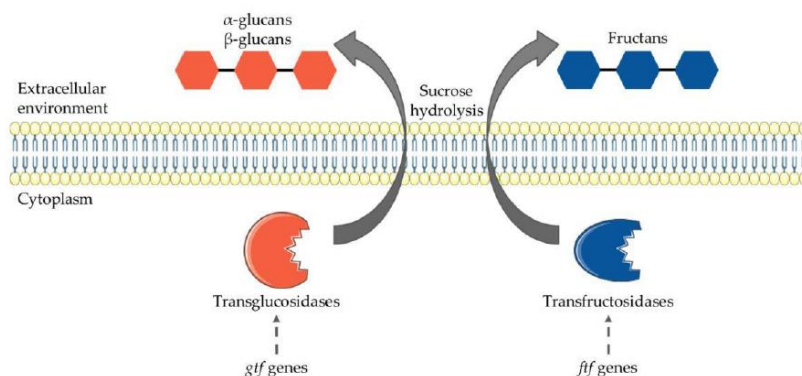
Eksopolisakarida kasar juga berhasil diproduksi oleh *L. plantarum* ATCC 8014, *L. plantarum* YML 009, *Streptococcus thermophilus* CC30 dan *L. casei* dengan jumlah bervariasi dan pada media yang berbeda-beda. Pada EPS kasar belum diketahui gula sebagai unit penyusunnya, sehingga perlu pemurnian lebih lanjut. *L. plantarum* ATCC 8014 mampu memproduksi EPS kasar sebanyak 210 mg/L (Camelini *et al.*, 2016) dan *L. plantarum* YML 009 yang diisolasi dari kimchi mampu memproduksi EPS kasar sebanyak 260 mg/L (Seo *et al.*, 2015) pada media yang sama yaitu MRSB. Produksi EPS kasar dapat juga dioptimalkan dengan modifikasi media, seperti pada media *skim milk lactose agar* mampu dihasilkan EPS kasar sebanyak 1950 mg/L oleh *Streptococcus thermophilus* CC30 (Lakshmi *et al.*, 2017). Sari kurma juga dapat digunakan sebagai media untuk produksi EPS kasar seperti yang terjadi pada *L. casei* dan *L. plantarum*. Eksopolisakarida kasar yang dihasilkan oleh *L. casei* sebanyak 3413,33 mg/L sedangkan EPS kasar yang dihasilkan oleh *L. plantarum* sebanyak 3316,67 mg/L (Zubaidah *et al.*, 2014).

BIOSINTESIS EKSOPOLISAKARIDA

Bakteri yang mampu mensintesis homopolisakarida diantaranya adalah *Weissella*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* dan *Pediococcus*. Sintesis homopolisakarida pada bakteri tersebut dibantu oleh enzim ekstraseluler yaitu glukansukrase atau fruktansukrase. Kedua enzim tersebut mentransfer monosakarida dari substrat spesifik sehingga terbentuk rantai polisakarida dengan cara menghidrolisis monosakarida yang selanjutnya akan melekat pada rantai akseptor glikan. Glukansukrase dikendalikan oleh gen glikosiltransferase (*gtf*) sedangkan fruktansukrase dikendalikan oleh gen fruktosiltransferase (*ftf*) seperti terlihat pada Gambar 4. Glukansukrase termasuk dalam enzim amilase yang berperan dalam sintesis glukosa dan fruktan sebagai penghidrolisis ikatan glikosida (Guerin *et al.*, 2020).

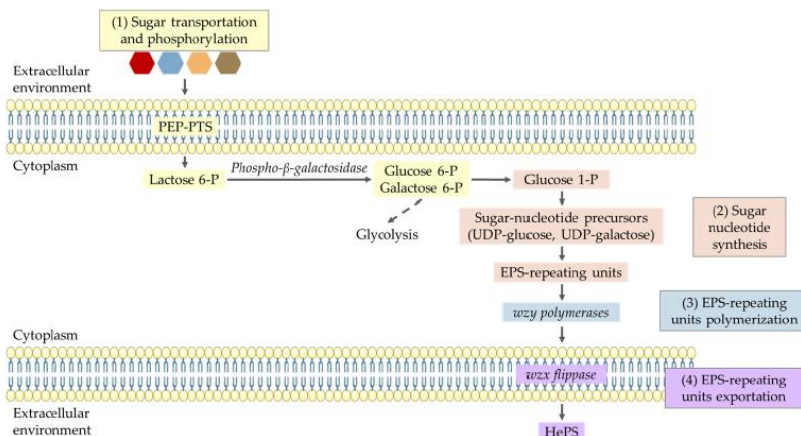
Spesifitas reaksi glukansukrase terlihat dari kemampuannya memecah ikatan α -glikosidik pada bagian glukosa dan monosakarida lain pada sisi katalitik enzim. Spesifitas lain juga

terlihat pada susunan asam amino yang menyusunnya. Struktur tiga dimensi glukansukrase mengandung inti katalitik yang berisi 3 domain dengan 2 domain tambahan yang melekat yaitu domain IV dan V. Beberapa domain terdiri dari 2 bagian polipeptida yang terputus sehingga menghasilkan struktur berbentuk U.



Gambar 3.4. Jalur Biosintesis Homopolisakarida (Guerin *et al.* 2020)

Heteropolisakarida disintesis melalui 4 tahap seperti terlihat pada Gambar 5 yaitu (1) transportasi gula ke dalam sel sitoplasma bakteri, (2) sintesis nukleotida, (3) polimerisasi eksopolisakarida dan (4) eksopolisakarida yang dihasilkan akan disekresikan keluar dari sel. Eksopolisakarida akan berbentuk polimer berlendir atau menempel di dinding sel berbentuk kapsul. Sintesis heteropolisakarida ini akan dikendalikan oleh gen asal replikasi plasmid untuk *Lactobacillus* yang bersifat mesofilik dan gen asal replikasi kromosom untuk yang bersifat termofilik.



Gambar 3.5. Biosintesis Heteropolisakarida (Guerin *et al.* 2020)

Transportasi dan fosforilasi gula terjadi melalui sistem phosphoenolpyruvate-phosphotransferase (PEP-PTS), dimana penghubung residu gula ke molekul pembawanya dan senyawa yang bertanggung jawab terhadap transportasi antar membran dan fosforilasi gula adalah protein. Pada tahap kedua akan disintesis nukleotida melalui hidrolisis Laktosa 6-P menjadi Glukosa 6-P dan Galaktosa 6-P oleh enzim *Phospho-β-galactosidase*. Glukosa 6-P dan Galaktosa 6-P diubah menjadi Glukosa 1-P yang selanjutnya diubah menjadi UDP-glukosa dan UDP-galaktosa secara intraseluler. UDP-glukosa dan UDP-galaktosa merupakan prekursor nukleotida yang akan berpolimerisasi membentuk heteropolisakarida. Proses ini dikendalikan oleh gen glikosiltransferase (*gtf*), yang bertanggungjawab juga terhadap proses regulasi, penentuan panjang rantai, polimerisasi dan keluarnya EPS ke sel. Keanekaragaman heteropolisakarida yang dihasilkan BAL tergantung pada gen *gtf*. Pembentukan, transportasi dan polimerisasi EPS terjadi melalui jalur Wzx/Wzy. Polimerisasi menjadi heteropolisakarida melalui jalur Wzy, kemudian disekresikan keluar sel oleh enzim flippase yaitu Wzx.

PRODUKSI EKSOPOLISAKARIDA BAKTERI ASAM LAKTAT

Produksi EPS BAL dapat dilakukan pada media padat atau media cair. Media padat yang biasa digunakan adalah *de Man Rogosa Sharp Agar* (MRSA) dengan komposisi yang dilengkapi dengan glukosa, sukrosa, laktosa, fruktosa dan maltosa. Produksi EPS pada media cair biasanya dilengkapi dengan karbon, nitrogen dan vitamin. Koloni yang dihasilkan akan terlihat mengkilap pada heteropolisakarida dan kental pada homopolisakarida (Guerin *et al.*, 2020).

Eksopolisakarida BAL diproduksi melalui proses fermentasi baik secara aerob dan anaerob. Pada fermentasi aerob membutuhkan oksigen, sedangkan fermentasi anaerob tidak membutuhkan oksigen. Proses fermentasi memerlukan gula dengan konsentrasi 14-18% atau 10-18%. Konsentrasi gula yang terlalu tinggi dapat menghambat aktivitas bakteri dan proses fermentasi lebih lama, sedangkan konsentrasi gula yang terlalu rendah menyebabkan biaya produksi tinggi. Gula yang digunakan pada proses fermentasi harus dipasteurisasi sebelum diinokulasikan supaya mikroorganisme pengganggu inaktif sehingga fermentasi bisa optimal.

Produksi EPS dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi inokulum dan media. Keberhasilan fermentasi akan dipengaruhi oleh suhu dan faktor abiotik. Suhu berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba, sehingga diperlukan suhu optimal untuk masing-masing mikroba yang digunakan selama proses fermentasi. Suhu akan meningkat dan selanjutnya mengalami penurunan kembali akibat kerja mikroorganisme selama fermentasi berlangsung. Derajat keasaman (pH) media yang digunakan juga akan berpengaruh terhadap produksi EPS, karena mikroba memiliki pH optimum untuk proses fermentasinya. Kerja enzim akan menurun jika di bawah atau di atas suhu optimumnya.

Konsentrasi substrat berpengaruh terhadap produksi EPS karena kecepatan reaksi enzim akan sejalan dengan peningkatan jumlah substrat yang digunakan. Pada titik tertentu, kecepatan reaksi akan rendah karena substrat telah membentuk kompleks dengan enzim seluruhnya sehingga kenaikan konsentrasi substrat

tidak akan mempengaruhi kecepatan reaksi. *Leuconostoc mesenteroides* mampu memproduksi EPS dengan rendemen 12,7 g/L pada 0,047 g/L substrat *paneer whey* (Lule *et al.*, 2015). *Lactobacillus delbrueckii* B-3 mampu memproduksi EPS dengan substrat glukosa sebesar 30 g/L (Xu *et al.*, 2010).

Inokulum sangat berpengaruh terhadap produksi EPS karena setiap proses fermentasi selalu melibatkan inokulum yang merupakan biakan bakteri dalam media cair. Konsentrasi inokulum akan mempengaruhi produk fermentasi yang dihasilkan, termasuk EPS. Konsentrasi inokulum sebesar 10 mL/L mampu memproduksi EPS sebanyak 650 mg/L (Haroen *et al.*, 2013). Jenis media yang akan digunakan juga perlu diperhatikan ketika produksi EPS. *Weissella confusa* VP30 mampu memproduksi EPS sebesar 59,99 g/L pada media MRSB dengan substitusi 10% (b/v) sukrosa yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Jin *et al.*, 2019). *Weissella confusa* KR780676 mampu memproduksi EPS sebesar 17,2 g/L pada media MRSB dengan substitusi 2% sukrosa yang diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C (Kavitake *et al.*, 2016). *Weissella confusa* NH02 mampu memproduksi EPS sebesar 18,08 g/L pada media MRSB dengan substitusi 2% sukrosa yang diinkubasi selama 12 jam pada suhu 37°C, sedangkan *Weissella confusa* OF126 mampu menghasilkan EPS sebesar 3,00 g/L pada media MRSB termodifikasi (sukrosa 24 g/L) yang diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C (Wongsuphachat *et al.*, 2010).

MEKANISME AKSI BAKTERI ASAM LAKTAT DALAM MENGENDALIKAN DMT2

Keseimbangan glukosa darah dipengaruhi oleh produksi glukosa oleh sel. Hiperglikemia pada DMT2 dipengaruhi oleh produksi glukosa melalui proses glukoneogenesis dan glikogenolisis, tetapi 90% dipengaruhi oleh glukoneogenesis (Wu *et al.*, 2005). Penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa *L. rhamnosus* mampu menurunkan glukosa darah melalui mekanisme penurunan ekspresi gen yang terlibat dalam proses glukoneogenesis, yaitu gen *G6pc* (*Glucose-6-phosphatase*). Mekanisme ini mirip dengan cara kerja obat DM yang sudah sering

digunakan, yaitu metformin. Metformin bekerja dengan cara menekan produksi glukosa oleh hati (Zhou *et al.*, 2018). Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya, dimana *L. rhamnosus* GG (Kim *et al.*, 2013), *L. plantarum* MTCC 5690 dan *L. fermentum* MTCC 5689 (Balakumar *et al.*, 2016), *L. paracasei* TD062 (Dang *et al.*, 2018) dan susu fermentasi probiotik yang mengandung *L. rhamnosus* MTCC 5957, *L. rhamnosus* MTCC 5897, *L. fermentum* MTCC 5898 (Yadav *et al.*, 2018) mampu menurunkan glukosa darah melalui mekanisme penurunan ekspresi gen *Pepck* (*Phosphoenol Pyruvate Carboxykinase*) dan *G6pc* (*Glucose-6-phosphatase*).

Keseimbangan glukosa darah juga dipengaruhi oleh pengambilan glukosa oleh jaringan perifer. Intervensi selama 30 hari oleh *L. rhamnosus* BSL dan *L. rhamnosus* R23, mampu meningkatkan penyerapan glukosa ke jaringan perifer, sehingga dapat menurunkan glukosa darah, tetapi mekanisme ini memerlukan pembuktian lebih lanjut. Metabolit yang dihasilkan oleh kedua BAL tersebut diduga berperan dalam mekanisme ini. Metabolit BAL yang terserap dan bersirkulasi ke dalam peredaran darah mampu mengaktifkan AMPK (*Adenosin monophosphate-activated protein kinase*). Aktifnya AMPK ini dapat menstimulasi GLUT 4 untuk bertranslokasi ke membran sel, sehingga dapat meningkatkan penyerapan glukosa oleh otot (Li *et al.*, 2014). Metabolit BAL juga diduga mampu meningkatkan penyerapan glukosa ke jaringan perifer melalui jalur PI3 kinase/Akt (Li *et al.*, 2017). Penelitian secara *in vitro* juga menunjukkan bahwa metabolit *Lactobacilli* mampu meningkatkan pengambilan glukosa oleh sel Caco-2 (Rooj *et al.*, 2010).

Penyandang DMT2 akan mengalami perubahan komposisi mikrobiota saluran cerna (disbiosis). Penelitian pada hewan coba menunjukkan bahwa probiotik mampu memodulasi komposisi mikrobiota usus melalui peningkatan filum *Firmicutes* dan penurunan *Bacteroidetes* (Li *et al.*, 2017; Bagarolli *et al.*, 2017). *Bacteroidetes* adalah bakteri gram negatif dan peningkatan lipopolisakarida (LPS) *bacteroidetes* dapat menyebabkan inflamasi ringan yang bersifat kronis. Probiotik mampu menurunkan

Bacteroidetes tersebut pada tikus DMT2, sehingga dapat menekan proses inflamasi. Keberagaman filum *Firmicutes* biasanya menurun pada kondisi DMT2. Probiotik mampu meningkatkan kembali *Firmicutes* sehingga keseimbangan mikrobiota usus terjaga (Everard *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2017; Bagarolli *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2018). Pemberian probiotik juga mampu menstimulir pertumbuhan bakteri seperti *Bifidobacterium* (Yadav *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2017).

Total BAL pada feses tikus setelah pemberian *L. rhamnosus* BSL dan *L. rhamnosus* R23 selama 30 hari meningkat secara nyata ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa kedua strain tersebut mampu melewati rintangan kondisi asam dalam lambung, tahan terhadap garam empedu sehingga mampu memberikan efek positif bagi inangnya (Farida *et al.*, 2020). Efektivitas strain probiotik untuk memberikan manfaat kesehatan ditentukan oleh kemampuannya untuk menempel dan berkolonisasi di mukosa usus. Bakteri probiotik harus berkembang biak dan membelah diri sehingga jumlahnya lebih tinggi untuk dapat berkompetisi dengan bakteri patogen yang secara alami berada di usus.

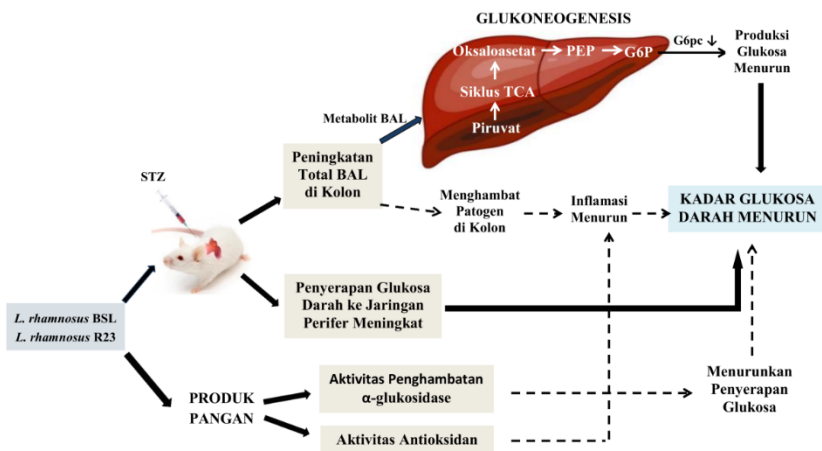
Peningkatan populasi BAL akan menyebabkan peningkatan sekresi metabolit sekunder yang berperan menjaga keseimbangan reaksi redoks di saluran cerna, sehingga mendukung kemampuan BAL indigenos sebagai antioksidan. Tang *et al.* (2017) menyatakan bahwa metabolit sekunder tersebut bertindak sebagai ROS (*Reactive Oxygen Scavenger*). Peningkatan total BAL pada setelah intervensi selama 30 hari diduga akan diikuti oleh peningkatan sekresi metabolit sekunder yang akan menjaga keseimbangan reaksi redoks di saluran cerna sehingga mencegah terjadinya stres oksidatif dan menurunkan inflamasi di saluran pencernaan. Pada kelompok DM terjadi penurunan populasi BAL, hal ini menunjukkan bahwa kondisi DMT2 menyebabkan disbiosis karena terjadi kompetisi untuk menempel pada mukosa usus. Probiotik tidak dapat menghalau bakteri patogen di mukosa usus sehingga jumlahnya menurun. Mikroflora saluran cerna pada kondisi DM mengalami disbiosis yang didominasi oleh bakteri patogen (Allin *et al.*, 2015).

Senyawa yang berperan menurunkan glukosa darah adalah asam lemak rantai pendek (ALRP) yang merupakan produk hasil fermentasi BAL di kolon (Puddu *et al.*, 2014). ALRP masuk ke dalam sirkulasi darah dan mencapai hati, selanjutnya akan mengaktifkan AMPK. AMPK adalah regulator transpor glukosa (Saltiel & Katin, 2001). Aktivasi AMPK di hati menyebabkan penurunan produksi glukosa melalui penurunan regulasi enzim kunci pada proses glukoneogenesis, yaitu Pepck dan G6pc (Besten *et al.*, 2013; Morrison & Preston, 2016; Tungland *et al.*, 2018). *L. plantarum* Ln4 dapat menurunkan GDP melalui jalur peningkatan AMPK sehingga ekspresi gen Pepck dan G6pc menurun (Lee *et al.*, 2018). ALRP yang ada di kolon terutama adalah asetat, propionat dan butirat, tetapi yang berperan dalam regulasi glukosa adalah butirat (Yadav *et al.*, 2013; Puddu *et al.*, 2014).

L. rhamnosus R23 secara *in vitro* mampu menghasilkan asam laktat, asetat, propionat dan butirat (78.1; 12.1; 1.2; 8.6%) dengan sumber karbon glukosa (Maryati *et al.*, 2016). Proporsi asam laktat yang tinggi mengindikasikan bahwa *L. rhamnosus* R23 termasuk ke dalam kelompok bakteri homofermentatif ketika memfermentasi glukosa. Proporsi butirat (8.6%) lebih tinggi dibandingkan propionat (1.2%) sehingga diduga senyawa yang berperan adalah butirat. Propionat akan menjadi substrat untuk proses glukoneogenesis, sehingga kalau propionat lebih tinggi akan menyebabkan proses glukoneogenesis berlangsung terus (Puddu *et al.*, 2014; Canfora *et al.*, 2015). Kemampuan R23 dalam menghasilkan ALRP ini berperan dalam peningkatan manfaatnya bagi kesehatan dan memperkuat dugaan bahwa ALRP yang berperan dalam regulasi glukosa adalah butirat.

Mekanisme penurunan glukosa darah *L. rhamnosus* disajikan pada Gambar 6. Hasil uji secara *in vitro* belum tentu berkorelasi dengan uji *in vivo*, sehingga menghasilkan mekanisme yang berbeda. Aktivitas penghambatan terhadap α -glukosidase dan antioksidan BAL berkontribusi terhadap penurunan glukosa darah ketika diaplikasikan pada produk pangan. Beberapa penelitian sebelumnya sudah menambahkan BAL pada produk seperti jus wortel (Li *et al.*, 2014), susu kedele (Sartang *et al.*, 2015),

susu unta (Manaer *et al.*, 2015) dan beberapa produk lainnya. Produk pangan yang difermentasi dengan BAL akan meningkatkan aktivitas antioksidan dan penghambatan terhadap α -glukosidase. Produk pangan dengan kandungan antioksidan tinggi mampu menurunkan inflamasi pada kondisi DMT2 sehingga menurunkan glukosa darah. Kadar glukosa darah akan turun jika BAL mampu menghambat enzim α -glukosidase. Mekanismenya adalah melalui penurunan ekspresi gen pengendali proses glukoneogenesis di hati yaitu gen G6pc (Farida *et al.*, 2020).



Gambar 3.6. Mekanisme Penurunan Glukosa Darah oleh *L. rhamnosus* BSL dan *L. rhamnosus* R23.

Penurunan Glukosa Darah dan Ekspresi Gen G6pc pada Tikus *Sprague dawley* yang Diinduksi STZ Diduga Berasal dari Metabolit BAL yang Diserap ke Dalam Darah dan Bersirkulasi ke Seluruh Tubuh (Farida *et al.*, 2020).

PENGARUH KONSUMSI PROBIOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT PADA PENYANDANG DMT2

Studi pada manusia dilakukan oleh Hulston *et al.* (2015) yang meneliti pengaruh suplementasi probiotik *L. casei* strain Shirota (LcS) terhadap berat badan, kadar gula darah puasa,

glukosa AUC dan konsentrasi insulin pada serum. Hasilnya menunjukkan terjadi peningkatan berat badan 0.6 kg pada kontrol dan 0.3 kg pada subjek yang diberi suplementasi probiotik. Kadar gula darah puasa meningkat dalam 7 hari perlakuan dengan pemberian makanan berlebih pada kontrol maupun subjek. Konsentrasi insulin pada serum terjaga pada kontrol dan subjek. Glukosa AUC meningkat dan sensitifitas insulin menurun pada kontrol, sedangkan konsentrasi insulin pada serum tetap terjaga pada subjek yang diberi suplementasi probiotik.

Aplikasi probiotik yang sudah dikenal luas biasanya pada produk berbasis susu seperti yoghurt dan kefir. Mohamadshahi *et al.* (2014) membandingkan pengaruh yoghurt yang mengandung probiotik dan yoghurt konvensional terhadap profil lemak pasien DMT2. Penelitian dilakukan terhadap 44 pasien DMT2 dengan usia 30-60 tahun yang memiliki LDL rendah (> 100 mg/dl). Pemberian yoghurt sebanyak 300 g/hari yang mengandung *L. acidophilus* La-5 dan *B. lactis* Bb-12 selama 8 minggu. Hasilnya menunjukkan bahwa mengonsumsi yoghurt yang mengandung probiotik mampu menurunkan rasio LDL : HDL secara signifikan ($p=0.016$). Kadar HDL meningkat secara signifikan pada kelompok perlakuan setelah intervensi selama 8 minggu. Tidak ada perbedaan secara signifikan pada trigliserida dan kolesterol pada kedua kelompok di akhir intervensi ($p<0.05$). Konsumsi yoghurt yang mengandung probiotik dapat dijadikan alternatif untuk memperbaiki keadaan dislipidemia pada pasien DMT2.

Pengaruh konsumsi yoghurt yang mengandung probiotik terhadap resistensi insulin dan kadar insulin serum pada wanita hamil telah dilaporkan oleh Asemi *et al.* (2013). Probiotik yang ditambahkan pada yoghurt adalah *L. acidophilus* LA5 dan *B. animalis* BB12 sebanyak 10^7 CFU/mL. Pengukuran resistensi insulin dilakukan dengan metode Homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR). Sampel darah diambil pada awal (baseline) dan di akhir intervensi (9 minggu) untuk mengetahui kadar gula dan kadar insulin pada serum. Hasilnya menunjukkan bahwa konsumsi yoghurt yang mengandung probiotik selama 9 minggu tidak berpengaruh terhadap kadar insulin serum dan skor

HOMA-IR pada wanita hamil. Kadar insulin serum berbeda secara signifikan pada wanita hamil yang diberi yoghurt yang mengandung probiotik dibandingkan dengan yang diberi yoghurt konvensional. Hal ini berarti, konsumsi yoghurt yang mengandung probiotik dapat mempertahankan kadar insulin serum dan membantu wanita hamil untuk mencegah keadaan resistensi insulin yang semakin parah.

Kefir dilaporkan mampu menurunkan glukosa darah, tetapi penggunaannya belum begitu populer di Indonesia. Kefir mengandung komponen bioaktif eksopolisakarida yang berkhasiat sebagai imunomodulator. Mekanismenya diduga melalui jalur eksopolisakarida sehingga merangsang pankreas untuk melepaskan insulin. Suplementasi kefir bening 200 ml/hari selama 30 hari pada penderita DMT2 di Bandung dan Cimahi mampu menurunkan kadar glukosa darah (FBG, PBG), HbA1c dan meningkatkan c-peptide (Judiono *et al.*, 2014).

PROSPEK DAN TANTANGAN PENGEMBANGAN BAKTERI ASAM LAKTAT UNTUK MENGENDALIKAN DMT2

Prospek pengembangan BAL yang berpotensi probiotik untuk mencegah dan mengendalikan DMT2 dapat dianalisis terhadap 3 hal yaitu: (1) peningkatan jumlah penyandang DMT2, (2) peningkatan pasar global probiotik sebagai ingredien pangan dan (3) peningkatan inovasi pangan probiotik di industri. Peningkatan jumlah penderita DMT2 merupakan salah satu prospek bagi pengembangan pangan probiotik untuk mencegah dan mengendalikan DMT2 di masa mendatang.

Pasar global probiotik sebagai ingredien pangan semakin meningkat. Meningkatnya populasi dan pendapatan di negara-negara Asia merupakan faktor pendorong meningkatnya kebutuhan terhadap pangan fungsional, termasuk di dalamnya produk probiotik. Perkembangan pasar probiotik dipicu dengan perkembangan industri pangan pengguna probiotik di negara seperti Jepang, India dan China. Kesadaran konsumen terhadap pentingnya pencegahan penyakit, khasiat yang diberikan oleh probiotik, serta keamanan probiotik merupakan faktor pendukung

suksesnya pasar probiotik. Pengembangan pangan fungsional di Jepang dipicu juga dengan tingginya biaya kesehatan sehingga mendorong pemerintah dan konsumen untuk mencari alternatif. Di Indonesia, biaya kesehatan terus meningkat dari tahun ke tahun sehingga pengembangan pangan fungsional berbasis probiotik sangat potensial untuk dikembangkan (Nuraida, 2016).

Probiotik banyak diaplikasikan pada produk yang berbahan dasar susu seperti yoghurt. Di Negara berkembang seperti Indonesia, konsumsi susu dan produk hasil fermentasinya masih terbatas. Oleh karena itu, probiotik dalam bentuk pangan fermentasi non-susu perlu dikembangkan, seperti pada jus probiotik dan produk fermentasi nabati seperti tempe. Pasar produk probiotik berbahan dasar non susu semakin berkembang luas karena permintaan konsumen yang meningkat. Industri pangan merespon positif hal ini dengan inovasi produk untuk menambah sifat fungsional sebelumnya. Produk probiotik non-susu menjadi berkembang karena trend vegetarian dan adanya intoleransi laktosa pada sebagian orang.

Tantangan pengembangan probiotik sebagai salah satu ingredien pangan fungsional untuk mengendalikan DMT2 adalah penyediaan bukti ilmiah mengenai khasiat dan keamanan, pengembangan produk dan teknologi untuk mempertahankan viabilitas sel serta sifat fungsionalnya di dalam produk dan saat dikonsumsi (Nuraida, 2016). Beberapa hal yang harus dipertimbangkan dalam mengembangkan formulasi produk probiotik adalah pemilihan bahan baku, cara pengolahan dan penyimpanan produk. Bakteri probiotik harus mampu bertahan selama proses persiapan, pengolahan dan penyimpanan. Produk yang dihasilkan harus diterima konsumen dan bakteri probiotik yang terkandung di dalamnya tetap stabil.

Viabilitas bakteri probiotik dalam produk pangan selama penyimpanan merupakan tantangan besar ketika akan menambahkan probiotik ke dalam produk olahan non-susu. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan seperti pH, suhu penyimpanan dan kehadiran mikroba lain yang menjadi pesaing atau kompetitor bakteri probiotik. Produk non-susu biasa

disimpan pada suhu ruang, misalnya permen dan sereal, sehingga stabilitas probiotik menjadi tantangan besar ketika akan mengembangkannya. Inkorporasi probiotik pada produk berbahan dasar buah dan sereal lebih susah dibandingkan produk berbasis susu. Pada sari buah, bakteri probiotik harus tahan terhadap kondisi asam sehingga membutuhkan perlindungan khusus.

Probiotik perlu dilindungi dari faktor-faktor yang dapat menurunkan aktivitasnya selama proses pengolahan dan pemasaran. Proses enkapsulasi merupakan salah satu teknologi yang bisa diaplikasikan untuk melindungi kerusakan sel bakteri probiotik. Mikroenkapsulasi menggunakan alginat dengan metode emulsi mampu memperbaiki ketahanan *L. plantarum* BSL dan 2C12 terhadap asam rendah dan garam empedu, ketahanan saat proses pengolahan dan penyimpanan selama 4 minggu pada selai salak (Purnasari *et al.*, 2015). Sementara itu, penggunaan susu skim sebagai senyawa kriogenik untuk membuat tepung bakteri kandidat probiotik asal ASI dengan pengeringan beku, mampu mempertahankan viabilitas saat proses dan melindungi sel BAL selama pemaparan terhadap pH rendah (Puspawati *et al.*, 2010).

Tantangan selanjutnya adalah pada saat komersialisasi produk. Untuk mendukung komersialisasi, probiotik harus mudah dikulturkan pada skala besar dan harus bertahan selama proses fermentasi atau pengolahan. Probiotik harus tetap stabil dan bertahan viabilitasnya di dalam produk selama pemasaran, serta tetap memiliki sifat fungsional sebagai probiotik ketika berada di kolon.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan dana hibah Penelitian Dasar melalui Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Negeri Semarang Nomor : SP DIPA-023.17.2.677507/2021, tanggal 23 November 2020 sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Penelitian Dasar Dana DIPA UNNES Tahun 2021 Nomor: 203.26.4/UN37/PPK.3.1/2021, tanggal 26 April 2021.

Daftar Pustaka

- ADA (American Diabetes Association)., 2016. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*, 39 (Suppl. 1), pp.S13-S22.
- Allin, K.H., Nielsen, T., & Pederson, O., 2015. Gut Microbiota in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: Mechanism in Endocrinology. *European Endocrinology*, 172(4), pp.167-177.
- Anindita, S.N., 2020. Identifikasi Glukosil Transferase (gtf) Penyandi Eksopolisakarida pada Strain *Weissella confusa* Probiotic Asal Air Susu Ibu (ASI). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 8(2), pp.75-85.
- Asemi, Z., Samimi, M., Tabassi, Z., Rad, M.N., Foroushani, A.R., Khorammian, H., & Esmailzadeh, A., 2013. Effect of Daily Consumption of Probiotic Yoghurt on Insulin Resistance in Pregnant Women: A Randomized Controlled Trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67, pp.71-74.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan., 2018. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018*. Kementerian Kesehatan RI.
- Bagarolli, R.A., Tobar, N., Oliveira, A.G., Araujo, T.G., Carvalho, B.M., Rocha, G.Z., & Santos, A., 2017. Probiotics Modulate Gut Microbiota and Improve Insulin Sensitivity in DIO Mice. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 50, pp.16-25.
- Balakumar, M., Prabhu, D., Sathishkumar, C., Prabu, P., Rokana, N., Kumar, R., Raghavan, S., Soundarajan, A., Grover, S., & Batish, V.K., 2016. Improvement in Glucose Tolerance and Insulin Sensitivity by Probiotic Strains of Indian Gut Origin in High-Fat Diet-Fed C57BL/6J Mice. *European Journal of Nutrition*, 2016.
- Besten, G.D., Eunen, K., Groen, A.K., Venema, K., Reijngoud, D.J., & Bakker, B.M., 2013. The Role of Short-Chain Fatty Acids in the Interplay Between Diet, Gut Microbiota, and Host Energy Metabolism. *Journal of Lipid Research*, 54, pp.2325-2340.

- Camelini, C.M., Rezzadori, K., Benedetti, S., Azambuja, A.A., Penha, F.M., Rossi, M.J., Luccio, M.D., Petrus, J.C.C., & Giachini, A.J., 2016. Production of Exopolysaccharides by *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 and Concentration by Nanofiltration. *Journal Advanced in Biotechnology*, 6(2), pp.901-912.
- Canfora, E.E., Jocken, J.W., & Blaak, E.E., 2015. Short-Chain Fatty Acids in Control of Body Weight and Insulin Sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology*, 2015.
- Chen, D., Yang, Z., Chen, X., Huang, Y., Yin, B., Guo, F., Zhao, H., Huang, J., Wu, Y., & Gu, R., 2015. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* hsryfm 1301 on the Gut Microbiota and Lipid Metabolism in Rats Fed A High-Fat Diet. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(5), pp.687-695.
- Chen, P., Zhang, Q., Dang, H., Liu, X., Tian, F., Zhao, J., Chen, Y., Zhang, H., & Chen, W., 2014a. Oral Administration of *Lactobacillus rhamnosus* CCFM0528 Improves Glucose Tolerance and Cytokine Secretion in High-Fat-Fed, Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Mice. *Journal of Functional Foods*, 10, pp.318-326.
- Chen, P., Zhang, Q., Dang, H., Liu, X., Tian, F., Zhao, J., Chen, Y., Zhang, H., & Chen, W., 2014b. Antidiabetic Effect of *Lactobacillus casei* CCFM0412 in High-Fat-Fed, Streptozotocin Induced Type 2 Diabetic Mice, *Nutrition*, 2014.
- Chen, P., Zhang, Q., Dang, H., Liu, X., Tian, F., Zhao, J., Chen, Y., Zhang, H., & Chen, W., 2014c. Screening for Potential New Probiotic Based on Probiotic Properties and α -Glucosidase Inhibitory Activity. *Food Control*, 35, pp.65-72.
- Cui, Y., Xu, T., Qu, X., Hu, T., Jiang, X., & Zhao, C., 2016. New Insights into Various Production Characteristics of *Streptococcus thermophilus* Strains. *International Journal of Molecular Science*, 17(10).
- Daba, G.M., Elhanas, M.O., & Elkhateeb, W.A., 2021. Contributions of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria as Biotechnological Tools in Food, Pharmaceutical, and Medical Applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 173, pp.79-89.

- Dang, F., Jiang, Y., & Pan, R., 2018. Administration of *Lactobacillus paracasei* Ameliorates Type 2 Diabetes in Mice. *Food Function*, 9(7), pp.3630-3639.
- Deacon, C.F., 2010. Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors in the Treatment of Type 2 Diabetes: A Comparative Review. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 13, pp.7-18.
- Everard, A., Matamoros, S., Geurts, L., Delzenne, N.M., Cani, P.D., 2014. *Saccharomyces boulardii* Administration Changes Gut Microbiota and Reduces Hepatic Steatosis, Low-Grade Inflammation, and Fat Mass in Obese and Type 2 Diabetic db/db Mice. *MBio*, 5(3), pp.e01011-14.
- FAO/WHO., 2001. *Report of A Joint FAO WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Lactic Acid Bacteria*. American Cordoba Park Hotel, Cordoba, Argentina.
- Farida, E., Jenie, B.S.L., Nuraida, L., & Giriwono, P.E., 2019. Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan α -Glukosidase oleh Ekstrak Etanol Bakteri Asam Laktat Indigenos. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 30(1), pp.56-63.
- Farida, E., Nuraida, L., Giriwono, P.E., & Jenie, B.S.L., 2020. *Lactobacillus rhamnosus* Reduces Blood Glucose Level Through Down-Regulation of Gluconeogenesis Gene Expression in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *International Journal of Food Science*, 2020.
- Guerin, M., Da-Silva, C.R., Garcia, C., & Remize, F., 2020. Lactic Acid Bacterial Production of Exopolysaccharides from Fruit and Vegetables and Associated Benefits. *Fermentation*, 6(4), pp.115.
- Hadisaputro, S., Djokomoeljanto, R.R.J., Judiono, & Soesatyo, M.H.N.E., 2012. The Effects of Oral Plain Kefir Supplementation on Proinflammatory Cytokine Properties on the Hyperglykemia Wistar Rats Induced by Streptozotocin. *Acta Medica Indonesiana – The Indonesian Journal of Internal Medicine*, 44(2), pp.100-104.
- Halim, C.N., & Zubaidah, E. 2013. Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi

- Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 1(1), pp.129-137.
- Haroun, B.M., El-Menoufy, H., Amin, H.A., & El-Waseif, A.A., 2013. Biosynthesis and Morphology of an Exopolysaccharide from A Probiotic *Lactobacillus Plantarum* Under Diferent Growth Condition. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(2), pp.1256-1265.
- Hulston, C.J., Churnside, A.A., & Venables, M.C., 2015. Probiotic Supplementation Prevents High-Fat, Overfeeding-Induced Insulin Resistance in Human Subject. *British Journal of Nutrition*, 2015, pp.1-7.
- IDF (International Diabetes Federation)., 2017. *IDF Diabetes Atlas*. 8th ed. <http://www.diabetesatlas.org>.
- Jin, H., Jeong, Y., Yoo, S.H., Johnston, T.V., Ku, S., & Ji, G.E., 2019. Isolation and Characterization of High Exopolysaccharide-Producing *Weissella Confusa* VP30 from Young Children's Feces. *Microbiol Cell Factories*, Article number: 110.
- Judiono., Djokomoeljanto., & Hadisaputro, S., 2012. Biomolecular Aspects of Plain Kefir Antidiabetic Potentials. *International Journal of Food, Nutrition and Public Health*, 5(1/2), pp.7-23.
- Judiono, J., Hadisaputro, S., Indranila, K.S., Cahyono, B., Suzery, M., Widiastuti, Y., & Purnawan, A.I., 2014. Effect of Clear Kefir on Biomolecular Aspects of Glycemic Status of Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) Patients in Bandung, West Java (Study on Human Blood Glucose, C Peptide and Insulin). *Functional Foods in Health and Disease*, 4(8), pp.340-348.
- Judiono., Purwaningsih, E., Djokomoeljanto, R.R.J., & Hadisaputro, S., 2009. Pengaruh Pemberian Kefir Bening terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Wistar Hiperglikemia yang Diinduksi Streptozotocin (STZ). *Penelitian Gizi Makanan*, 32(2), pp.131-138.
- Kavitake., Devi, P.B., Singh, S.P., & Shetty, P.H., 2016. Characterization of a Novel Galactan Produced by *Weissella Confusa* KR780676 from an Acidic Fermented Food.

- International Journal of Biological Macromolecules*, 86, pp.681-9.
- Kim, S., Park, K., Kim, B., Kim, E., & Hyun, C. 2013. *Lactobacillus rhamnosus* GG Improves Insulin Sensitivity and Reduces Adiposity in High-Fat Diet-Fed Mice through Enhancement of Adiponectin Production. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 431(2), pp.258-263.
- Kumar, M.A., 2011. Production and Characterization of Exopolysaccharides (EPS) from Biofilm Forming Marine Bacterium. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(2).
- Lakshmi, S., Krishna, R., & Muddada, S., 2017. Characterization of Exopolysaccharide Produced by *Streptococcus thermophilus* CC30. *BioMed Research International*, 2017.
- Lee, E., Jung, S.R., Lee, S.Y., Lee, N.K., Paik, H.D., & Lim, S., 2018. *Lactobacillus plantarum* Strain Ln4 Attenuates Diet-Induced Obesity, Insulin Resistance, and Changes in Hepatic mRNA Levels Associated with Glucose and Lipid Metabolism. *Nutrients*, 10, pp.643.
- Li, C., Ding, Q., Nie, S.P., Zhang, Y.S., Xiong, T., & Xie, M.Y., 2014. Carrot Juice Fermented with *Lactobacillus Plantarum* NCU116 Ameliorates Type 2 Diabetes in Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014.
- Li, X., Wang, E., Yin, B., Fang, D., Chen, P., Wang, G., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W., 2017. Effects of *Lactobacillus casei* CCFM419 on Insulin Resistance and Gut Microbiota in Type 2 Diabetic Mice. *Beneficial Microbes*, 8(3), pp.421-432.
- Lule, V., Singh, R., Behare, P., Tomar, S.K. Comparison of Exopolysaccharide Production by Indigenous *Leuconostoc mesenteroides* Strains in Whey Medium. *Asian Journal Dairy Food Research*, 34, pp.8-12.
- Malik, A., Sheila., Firdausi, W., Handayani, T., & Saepudin, E., 2015. Sucrase Activity and Exopolysaccharide Partial Characterization from Three *Weissella confusa* Strains. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22, pp.130-135.

- Manaer, T., Yu, L., Zhang, Y., Xiao, X. J., & Nabi, X. H. 2015. Anti-diabetic Effects of Shubat in Type 2 Diabetic Rats Induced By Combination of High-Glucose-Fat Diet and Low-Dose Streptozotocin. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015.
- Maryati, Y., Nuraida, L., & Dewanti-Hariyadi, R., 2016. Kajian Bakteri Asam Laktat dalam Menurunkan Kolesterol secara *In Vitro* dengan Keberadaan Oligosakarida. *Agritech*, 36(2), pp.196-205.
- Mohamadshahi, M., Veissi, M., Haidari, F., Javid, A.Z., Mohammadi, F., & Shirbeigi, E., 2014. Effects of Probiotic Yogurt Consumption on Lipid Profile in Type 2 Diabetic Patients: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Research in Medical Science*, 19, pp.531-536.
- Morrison, D.J., & Preston, T., 2016. Formation of Short Chain Fatty Acids by The Gut Microbiota and Their Impact on Human Metabolism. *Gut Microbes*, 7(3), pp.189-200.
- Muganga, L., Liu, X., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W. 2015. Screening for Lactic Acid Bacteria Based on Antihyperglycaemic and Probiotic Potential and Application in Synbiotic Set Yoghurt. *Journal of Functional Foods*, 16, pp.125-136.
- Nouha, K., Kumar, R.S., Balasubramanian, S., & Tyagi, R.D., 2018. Critical Review of EPS Production, Synthesis and Composition for Sludge Flocculation. *Journal of Environmental Sciences*, 66, pp.225-245.
- Nuraida, L., 2016. Probiotik Lokal dan Pangan Fermentasi Tradisional untuk Meningkatkan Kesehatan Masyarakat di Indonesia: Peluang dan Tantangan Pengembangannya. *Naskah Orasi*. 13 Februari 2016. Institut Pertanian Bogor.
- Nyanzi, R., Shuping, D.S.S., Jooste, P.J., & Eloff, J.N. 2015. Antibacterial and Antioxidant Activity of Extracts from Selected Probiotic Bacteria. *Journal of Food Research*, 4(5), pp.122-132.
- Panwar, H., Calderwood, D., Grant, I.R., Grover, S., & Green, B.D., 2014. *Lactobacillus* Strains Isolated from Infant Faeces Possess Potent Inhibitory Activity Against Intestinal Alpha-

- And Beta-Glucosidases Suggesting Anti-Diabetic Potential. *European Journal of Nutrition*, 53(7), pp.1465-1474.
- Patel, S., Majumder, A., & Goyal, A., 2012. Potentials of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. *Indian Journal of Microbiology*, 52(1), pp.3-12.
- Patten, D.A., & Laws, A.P., 2015. *Lactobacillus* Produced Exopolysaccharides and Their Potential Health Benefits: A Review. *Beneficial Microbes*, 6(4), pp.457-471.
- Puddu, A., Sanguineti, R., Montecucco, F., & Viviani, G.L., 2014. Evidence for the Gut Microbiota Short-Chain Fatty Acids as Key Pathophysiological Molecules Improving Diabetes. *Medical Inflammation*, 2014.
- Purnasari, W., Jenie, B.S.L, & Nuraida, L. 2015. Karakteristik Mikrokapsul *Lactobacillus Plantarum* dan Stabilitasnya dalam Produk Selai Salak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 26, pp.90-99.
- Rooj, A.K., Kimura, Y., & Buddington, R.K., 2010. Metabolites Produced by Probiotic *Lactobacilli* Rapidly Increase Glucose Uptake by Caco-2 Cells. *BMC Microbes*, 10, pp.16.
- Saltiel, A.R., & Katin, C.R., 2001. Insulin Signaling and The Regulation of Glucose and Lipid Metabolism. *Nature*, 414, pp.799-806.
- Sartang, M.M., Mazloomi, S.M., Tanideh, N., & Zadeh, A.R., 2015. The Effects of Probiotic Soymilk Fortified With Omega-3 on Blood Glucose, Lipid Profile, Haematological and Oxidative Stress, and Inflammatory Parameters in Streptozotocin Nicotinamide-Induced Diabetic Rats. *Journal of Diabetes and Research*, 2015.
- Seo, B.J, Bajpai, V.K., Rather, I.A., & Park, Y.H., 2015. Partially Purified Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* YML009 with Total Phenolic Content, Antioxidant and Free Radical Scavenging Efficacy. *Indian Journal of Pharmacy Education dan Research*, 49(4), 282-292.
- Sing, S., Sharma, R.K., Malhotra, S., Pothuraju, R., & Shandilya, U.K., 2017. *Lactobacillus rhamnosus* NCD17 Ameliorates Type-2 Diabetes by Improving Gut Function, Oxidative Stress and

- Inflammation in High-Fat-Diet Fed and Streptozotocin-Treated Rats. *Beneficial Microbes*, 8(2), pp.243-255.
- Singh, P., & Saini, P., 2017. Food and Health Potentials of Exopolysaccharides Derived from *Lactobacilli*. *Microbiology Research Journal International*, 22, pp.1-14.
- Tang, W., Xing, Z., Li, C., Wang, J., & Wang, Y., 2017. Molecular Mechanism and In Vitro Antioxidant Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2. *Food Chemistry*, 221, pp.1642-1649.
- Tang, Y., Dong, W., Wan, K., Zhang, L., Li, C., Zhang, L., & Liu, N., 2015. Exopolysaccharide Produced by *Lactobacillus plantarum* Induces Maturation of Dendritic Cells in BALB/c mice. *PloS One*, 10(11), pp.e0143743.
- Tungland, B., 2018. Short-Chain Fatty Acid Production and Functional Aspects on Host Metabolism. *Human Microbiota in Health and Disease*, pp.47-106.
- Wang, G., Li, X., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W. 2017. *Lactobacillus casei* CCFM419 Attenuates Type 2 Diabetes Via A Gut Microbiota Dependent Mechanism. *Food and Function*, 8(9), pp.3155-3164.
- Wang, J., Zhao, X., Tian, Z., He, C., Yang, Y., & Yang, Z. 2015. Isolation and Characterization of Exopolysaccharide-Producing *Lactobacillus plantarum* SKT109 from Tibet Kefir. *Polandia Journal of Food Nutrition and Science*, 65(4), pp.269-280.
- WHO (World Health Organization)., 1999. *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications*. Geneva (CH): Report of a WHO Consultation.
- WHO (World Health Organization). 2003. *Screening for Type 2 Diabetes*. Geneva (CH): Report of a World Health Organization and International Diabetes Federation meeting.
- Wongsuphachat, W., Kittikun, A., & Maneerat, S., 2010. Optimization of Exopolysaccharides Production by *Weissella confusa* NH 02 Isolated from Thai Fermented Sausages. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 32 (1), pp.27-35.

- Wu, C., Okar, D.A., Kang, J., & Lange, A.J., 2005. Reduction of Hepatic Glucose Production as A Therapeutic Target in The Treatment of Diabetes. *Current Drug Targets Immune Endocrine Metabolism Disorder*, 5(1), pp.51-59.
- Xu, R., Shen, Q., Gao, W. & Li, P., 2010. Chemical Characterization and Antioxidant Activity of an Exopolysaccharide Fraction Isolated from *Bifidobacterium animals* RH. *European Food Research and Technology*, 232, pp.231-241.
- Yasutake, T., Kumagai, T., Inoue, A., Kobayashi, K., Noda, M., Orikawa, A., & Sugiyama, M. 2016. Characterization of the LP28 Strain-Specific Exopolysaccharide Biosynthetic Gene Cluster Found in The Whole Circular Genome of *Pediococcus pentosaceus*. *Biochemistry Biophysical Research*, 5, pp.266-271.
- Zeng, Z., Luo, J., Zuo, F., Zhang, Y., Ma, H., & Chen, S., 2016. Screening for Potential Novel Probiotic *Lactobacillus* Strains Based on High Dipeptidyl Peptidase IV and α -glucosidase Inhibitory Activity. *Journal of Functional Foods*, 20, pp.486-495.
- Zhang, Y.U., Li, S., Zhang, C., Luo, Y., Zhang, H., & Yang, Z., 2011. Growth and Exopolysaccharide Production By *Lactobacillus Fermentum* F6 in Skim Milk. *African Journal of Biotechnology*, 10(11), pp.2080-2091.
- Zhang, Z., Zhou, Z., Li, Y., Zhou, L., Ding, Q., & Xu, L., 2016. Isolated Exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* GG Alleviated Adipogenesis Mediated by TLR2 in Mice. *Science Report*, 6, pp.36083.
- Zhao, J., Tian, F., Yan, S., Zhai, Q., Zhang, H., & Chen, W., 2018. *Lactobacillus plantarum* CCFM10 Alleviating Oxidative Stress and Restoring The Gut Microbiota in D-Galactose-Induced Aging Mice. *Food and Function*, 9(2), pp.917-924.
- Zhou, T., Xu, X., Du, M., Zhao, T., & Wang, J., 2018. A Preclinical Overview of Metformin for The Treatment of Type 2 Diabetes. *Biomedical Pharmacotherapy*, 106, pp.1227-1235.
- Zubaidah, E., Suryawira, Y.M, & Saparianti, E., 2014. Comparative Study Production of Exopolysaccharide (EPS) by Lactic

Acid Bacteria (*L. Casei* And *L. Plantarum*) in Different Media (Dates and Mulberry Juice). *Agroindustrial Journal*, 3(1), pp.107-111.