

IDENTIFIKASI PROTEIN BAKTERI PROBIOTIK ASAL LIMBAH KUBIS DAN SAWI BERDASARKAN ELEKTROFORESIS SDS-PAGE

Wikanastri Hersoelistyorini¹⁾ dan Sri Sinto Dewi²⁾

1)Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang
hersulistyorini@gmail.com

2)Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang
sintomun@yahoo.com

ABSTRACT

Liquid from the fermentation result of cabbage and mustard vegetable-waste is potentially became probiotic bacterium source. Vegetables and fruits submersion on low or high degree of saline (NaCl) will affect the growth of microorganisms from bacteria class that is, *Lactobacillus Plantarum*. *Lactobacillus Plantarum* is involved in the formation of lactic acid during fermentation. *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, and *Pediococcus* convert the sugar in the vegetables into lactic acid so that limiting the growth of other organisms. The purpose of this research is to identify probiotic bacterial protein from cabbage and mustard vegetable-waste using SDS-PAGE electrophoresis method and probiotic bacterial species using API 50 CHL V5.1 method. The result of the research is expected in the form of *Lactobacillus* bacteria can be used as a starter probiotic that has benefit for health. Result reveals that *Lactobacillus* isolates 3a and 5a are able to grow at low pH (pH 1.5 and 3) and room temperature. The characterization result of whole proteins by SDS-PAGE electrophoresis method against two *Lactobacillus* isolates (3a and 5a isolates), each obtained 13 bands protein. The 13th molecular weight of 3a isolate protein band, consecutive, as follows: 124.4; 111.6; 102.3; 93.97; 86.2; 79.0; 66.6; 56.1; 43.3; 39.8; 36.4; 33.4; and 29.4 kDa. Whereas, the 13th molecular weight of 5a isolate protein band, consecutive, as follows: 121.6; 111.6; 102.3; 86.2; 79.0; 72.6; 66.6; 56.1; 45.2; 39.8; 38.1; 34.99; and 29.4 kDa. Based on the identification using API 50 CHL V5.1 medium is known that 3a isolate is *Lactobacillus Plantarum* 1 with %ID reaches 99.5%, while 5a isolate is *Lactobacillus Plantarum* 1 with %ID reaches 99.4%.

Kata kunci : API 50 CHL V5.1, cabbage , elektroforesis SDS-PAGE, , *Lactobacillus*, and mustard vegetable.

PENDAHULUAN

Probiotik adalah suplemen berupa mikroorganisme hidup yang mempunyai efek menguntungkan bagi induk semangnya dengan cara memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam usus (Kozasa, 1989, Fuller, 1989, Dunne *et al.*, 2001 dalam Natalia dan Adin, 2006). Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme non patogen, yang jika dikonsumsi memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya (Schrezenmeir dan de Vrese, 2001 dalam Yulinery dkk., 2006). Senyawa-senyawa racun yang dihasilkan dari metabolisme protein dan lemak, serta hasil pemecahan enzim tertentu menjadi semakin berkurang bila bakteri probiotik menjalankan peranannya dalam meningkatkan kesehatan. Berbagai senyawa hasil metabolismenya seperti asam laktat, H₂O₂, bakteriosin yang bersifat antimikroba dan berbagai enzim yang dimilikinya seperti laktase (membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa) serta *bile salt hydrolase* (membantu menurunkan kolesterol) serta adanya aktifitas antikarsinogenik dan stimulasi imun sistem (Nagao *et al.*, 2000; Usman dan Hasono, 1999; Matar *et al.*, 2001; Horie *et al.*, 2002 dalam Yulinery dkk., 2006). Melalui hasil uji klinis, beberapa jenis bakteri diketahui aman digunakan sebagai probiotik, antara lain *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. Casei Shiota*, dan *Bifidobacterium* (Surono, 2002 dalam Triana dan Novik, 2007). Bakteri ini mempunyai kelebihan yaitu merupakan mikroflora alami jalur pencernaan sehingga memiliki kemampuan untuk tumbuh di jalur pencernaan (Hughes dan Hoover, 1991; Ishibashi dan Shimamura, 1993; Drasar dan Barrow, 1985 dalam Purwandhani dan Endang, 2003).

Cairan hasil fermentasi limbah sayur kubis dan sawi berpotensi sebagai sumber bakteri probiotik (Utama dan A. Mulyanto, 2009) . Pembuatan cairan kubis dan sawi diawali dengan memotong kecil-kecil limbah sayur tersebut terlebih dahulu dan ditambah garam (NaCl) 2-15%, selanjutnya diperam selama 4-6 hari, disaring dan cairan siap digunakan. Beberapa

mikroorganisme terutama jenis *Leuconostoc* dan *Lactobacillus* dapat tumbuh dengan cepat dengan adanya garam (NaCl). Garam (NaCl) juga mempengaruhi aktivitas air (a_w) dari bahan sehingga dapat mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme. Perendaman sayuran atau buah dalam cairan garam (NaCl) kadar rendah atau tinggi akan menyebabkan tumbuhnya mikroorganisme dari golongan bakteri yakni *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus plantarum* terlibat dalam pembentukan asam laktat selama fermentasi. Hampir semua sayuran dapat mengalami fermentasi dengan menghasilkan asam laktat. Fermentasi biasanya dilakukan oleh berbagai jenis bakteri, antara lain : *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, serta *Pediococcus*. *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, serta *Pediococcus* mengubah gula pada sayuran terutama menjadi asam laktat sehingga membatasi pertumbuhan organisme lain (Volk dkk. 1992). Dewi (2007) menyatakan bahwa kubis dan sawi sortir yang diekstrak dengan 8% garam (NaCl) dan diperam 6 hari menghasilkan total bakteri asam laktat (*Lactobacillus*) sebesar $2,1 \times 10^{10}$ CFU/mL.

Penelitian ini merupakan kelanjutan penelitian Hersoelistyorini dkk. (2013) yang telah mengkaji bakteri probiotik asal limbah sayur kubis dan sawi sampai tataran genus dari isolat *Lactobacillus* yang diperoleh, yang dicirikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni, bentuk sel batang, cat gram positif, dan katalase negatif. Tujuan penelitian ini adalah karakterisasi protein bakteri probiotik asal limbah sayur kubis dan sawi menggunakan elektroforesis SDS-PAGE dan identifikasi spesies bakteri probiotik digunakan metode API 50 CHL V5.1. Hasil penelitian berupa bakteri *Lactobacillus* diharapkan dapat digunakan sebagai starter probiotik asli Indonesia yang bermanfaat bagi kesehatan.

METODE

Sampel

Bakteri probiotik yang digunakan pada penelitian ini adalah *Lactobacillus* yang diisolasi dari limbah sayur kubis dan sawi. Limbah sayur kubis dan sawi difermentasi selama 6 hari dengan menambahkan garam dapur 8% dan molases 6,4% (Utama & A. Mulyanto, 2009; Wikanastri dkk.2011). Cairan hasil fermentasi digunakan sebagai sumber *Lactobacillus*.

Media dan Bahan Kimia

NaCl (garam dapur), molases, media *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSB, oxoid), CaCO_3 (Merk), gliserol, cat gram, H_2O_2 , bahan untuk analisis elektroforesis SDS-PAGE, dan media API 50 CHL V5.1.

Isolasi *Lactobacillus*

Metoda isolasi digunakan metoda pengenceran dan *plating* secara *pour plate*. Media isolasi adalah MRSB yang ditambah CaCO_3 0,5% dan inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam. Bakteri probiotik hasil isolasi disimpan dalam media campuran MRSB 80% dan gliserol 20% untuk diawetkan.

Karakterisasi Protein *Lactobacillus*

Identifikasi *Lactobacillus* sebagai mikroba probiotik didasarkan pada : bentuk sel batang, gram positif, dan katalase negatif. Karakterisasi protein digunakan metoda elektroforesis SDS-PAGE (*sodium dodesilsulfat poliakrilamid gel electrophoresis*), dengan komposisi *running gel* 10% dan *stacking gel* 5%. Membuat *running gel* : Disiapkan *glass plate* dan dibersihkan dengan aseton. Dicampur merata 3,9 mL DH_2O ; 3,4 mL *Poly Acrylamide* (PA); 2,5 mL *Tris* (pH 8,8); 100 μL *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS); dan 10 μL *Tetra Methyl Diamine* (TEMED); kemudian ditambahkan 90 μL *Ammonium Per Sulphate* (APS) dan campuran diaduk merata kembali dan segera dimasukkan ke dalam *glass plate*; dilanjutkan dengan pemberian butanol di atas gel dan dibiarkan hingga mengeras, kemudian gel dicuci dengan aquadest. Membuat *stacking gel* : Dicampur merata 2,76 mL DH_2O ; 0,84 mL *Poly Acrylamide* (PA); 1,25 mL *Tris* (pH 6,8); 50 μL *Sodium Dodecyl Sulphate* 10% (SDS); dan 10 μL *Tetra Methyl Diamine* (TEMED); kemudian ditambahkan 90 μL *Ammonium Per Sulphate* (APS). Prosedur pembuatan *stacking gel* sama seperti *running gel*, hanya setelah campuran dituang ke atas *running gel*, segera *comb* (sisir) dipasang dan dibiarkan sampai gel mengeras dan *comb* dilepas. Gel beserta *glass plate* dipasang pada alat elektroforesis, kemudian dituangkan *running buffer* hingga gel terendam.

Preparasi sampel sebagai berikut : 15 mL sampel bakteri 24 jam inkubasi disentrifuge selama 15 menit pada kecepatan 3.000 rpm. Pelet yang diperoleh ditambah 0,5 mL PbS dan 60 μL *lysozym*, dihomogenkan dan didinginkan dalam *freezer* selama 24 jam. Campuran pelet

dilakukan pemecahan sel dengan metode gerinder selama 30 menit, selanjutnya disentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Supernatan yang dihasilkan siap dianalisis. Diambil 50 μL supernatan dan dimasukkan ke dalam *mikro cube*, kemudian ditambahkan 10 μL *buffer sampel*. *Mikro cube* ditutup rapat dan direbus dalam air mendidih selama 2 menit dan segera didinginkan dalam *freezer* selama 10 menit. Sampel siap dimasukkan ke dalam sumur-sumur yang terdapat pada gel. Marker yang digunakan adalah protein dengan berat molekul 10-200 kDa. Alat elektroforesis dijalankan pada tegangan listrik 100 volt. Proses *running* dijalankan sampai warna biru telah bergerak ke bagian bawah gel, alat elektroforesis dimatikan dan gel direndam dalam larutan *staining* (*Commassie Brilliant Blue*). Pewarnaan dilakukan dengan merendam gel hasil *running* dalam larutan *staining* sambil digoyang dengan *shaker*. Hasil pewarnaan kemudian direndam dalam larutan *destaining*. Hasil elektroforesis berupa pita (*band*), kemudian dihitung nilai Rf (*Retardation Factor*) untuk masing-masing *band*, dengan rumus Rf (Mahasri dkk., 2010), sebagai berikut :

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Selanjutnya nilai Rf dimasukkan dalam persamaan regresi linear : $Y = a + bX$, dengan Y = berat molekul dan X = nilai Rf sampel.

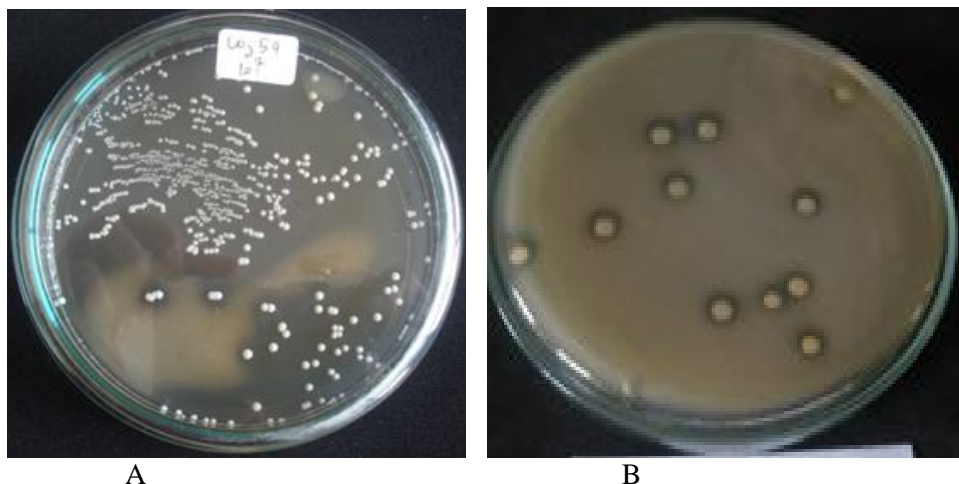
Identifikasi Spesies *Lactobacillus*

Identifikasi spesies *Lactobacillus* digunakan metoda API 50 CHL V5.1 (bioMerieux SA).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik (*Lactobacillus*)

Pada tahap awal isolasi diperoleh 8 isolat *Lactobacillus*. Identifikasi isolat probiotik (*Lactobacillus*) didasarkan pada terbentuknya zona bening disekitar koloni, bentuk sel batang, pengecatan gram positif, dan katalase negatif. Dari ke delapan isolat ini, selanjutnya dilakukan pengamatan pertumbuhan, dengan cara isolat disuburkan kembali dalam MRSB dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian ditanam kembali pada MRS agar. Kegiatan ini dilakukan berulang sampai tiga kali. Dari 8 isolat yang diamati pertumbuhannya, hanya 5 isolat yang dapat tumbuh dengan baik. Ke lima isolat diuji kemampuan tumbuhnya pada pH rendah (pH 1,5 dan 3) dan kemampuan tumbuhnya pada berbagai suhu (suhu ruang, kulkas, dan 37°C). Penelitian Hersoelistryorini dkk. (2013), menyimpulkan bahwa isolat 3a dan 5a mampu tumbuh pada pH rendah (pH 1,5 dan 3) dan suhu ruang. Gambar 1 menampilkan isolat *Lactobacillus* hasil isolasi.

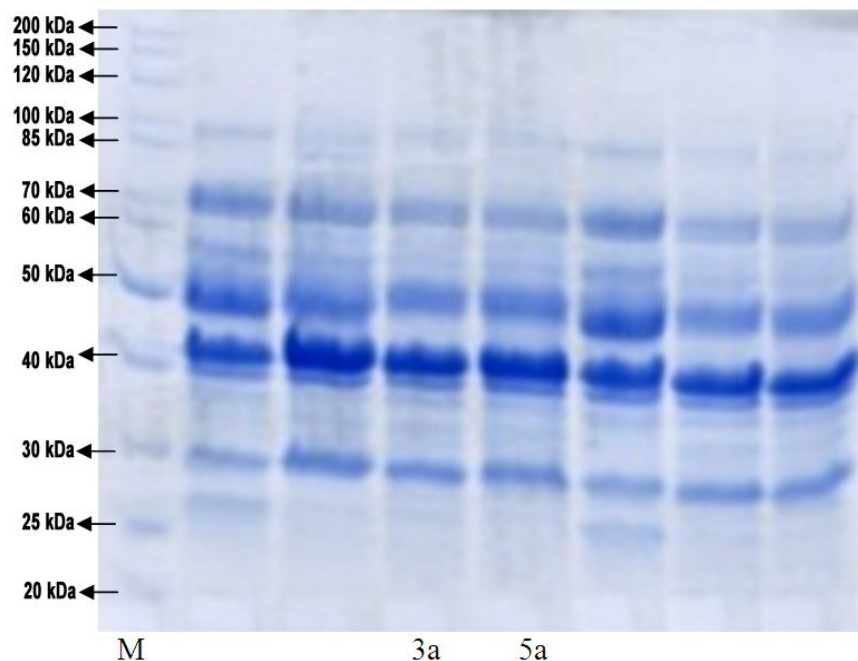


Gambar 1. Isolat *Lactobacillus* Asal Limbah Kubis dan Sawi yang Dicirikan dengan Adanya Zona Bening (A adalah isolat 5a dan B adalah isolat 3a)

Karakterisasi Protein *Lactobacillus* Menggunakan Elektroforesis SDS-PAGE

Teknik elektroforesis SDS-PAGE digunakan untuk karakterisasi protein isolat *Lactobacillus* 3a dan 5a. Berdasarkan teknik SDS-PAGE ini, gel hasil SDS-PAGE memperlihatkan adanya 13 pita (*band*) protein baik pada isolat 3a maupun 5a. Penentuan berat molekul protein dilakukan dengan menghitung nilai Rf (*Retardation Factor*) dari masing-

masing pita, berdasarkan nilai berat molekul protein standar yang telah diketahui (marker). Nilai Rf diperoleh dengan pembagian jarak pergerakan protein dari tempat awal dengan jarak pergerakan warna dari tempat awal. Gambar 2 menampilkan hasil analisis elektroforesis SDS-PAGE. Tabel 1 memaparkan hasil perhitungan nilai Rf protein standar (marker).



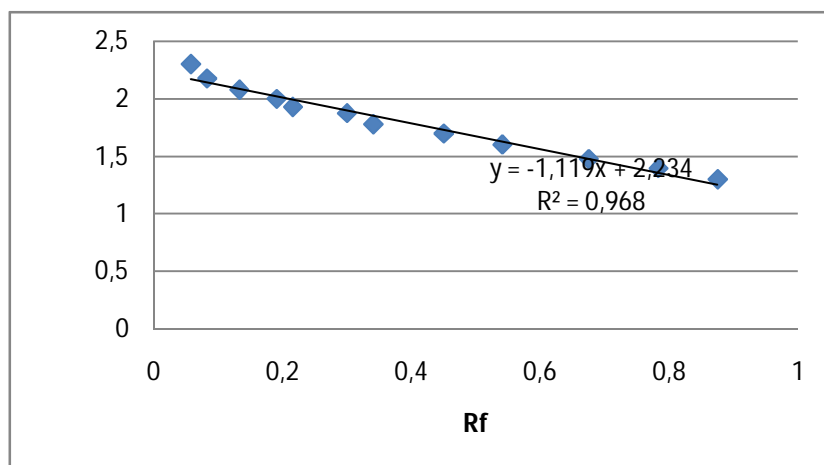
Gambar 2. Karakterisasi Protein Isolat *Lactobacillus* (3a dan 5a) dengan Teknik SDS-PAGE (M = marker).

Dari Gambar 2 diketahui bahwa ketebalan ke-13 pita protein isolat 3a maupun 5a tidaklah sama. Tebal tipis pita protein pada hasil elektroforesis SDS-PAGE menunjukkan banyak sedikitnya kandungan protein (Pasila, 2008 dalam Mahasri dkk. 2010). menurut Tung *et al.* (1995) dalam Mahasri dkk. (2010), tebal tipis protein hasil elektroforesis SDS-PAGE menunjukkan adanya perbedaan genetic antara protein tersebut.

Tabel 1. Penghitungan Nilai Rf Protein Standar (Marker)

No	BM Marker (kDa)	Jarak Pergerakan Protein (mm)	Nilai Rf	log BM
1	200	3,5	0,058	2,301
2	150	5,0	0,083	2,176
3	120	8,0	0,133	2,079
4	100	11,5	0,191	2,000
5	85	13,0	0,216	1,929
6	70	18,0	0,300	1,875
7	60	20,5	0,341	1,778
8	50	27,0	0,450	1,698
9	40	32,5	0,541	1,602
10	30	40,5	0,675	1,477
11	25	47,0	0,783	1,397
12	20	52,5	0,875	1,301

Keterangan : panjang gel = 60mm



Gambar 3. Kurva Standar Berat Molekul Protein Marker

Berdasarkan penghitungan nilai Rf dan log BM protein marker diperoleh persamaan regresi linear $Y = a + bx$, dengan $b = -1,119$ maka $Y = 2,234 - 1,119x$ (Gambar 3). Penentuan berat molekul isolat *Lactobacillus* 3a dan 5a dilakukan dengan mengkonversi nilai Rf ke persamaan regresi standar yang dihasilkan. Berat molekul protein isolat *Lactobacillus* 3a dan 5a ditampilkan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Berat Molekul Protein Isolat *Lactobacillus* 3a

No	Jarak Pergerakan Protein	Rf	Nilai Y	Berat Molekul (kDa)
1	7	0,116	2,095	124,4
2	10	0,166	2,048	111,6
3	12	0,200	2,010	102,3
4	14	0,233	1,973	93,9
5	16	0,266	1,936	86,2
6	18	0,300	1,898	79,0
7	22	0,366	1,824	66,6
8	26	0,433	1,749	56,1
9	32	0,533	1,637	43,3
10	34	0,566	1,600	39,8
11	36	0,600	1,562	36,4
12	38	0,633	1,525	33,4
12	41	0,683	1,469	29,4

Keterangan : panjang gel = 60 mm

Tabel 3. Berat Molekul Protein Isolat *Lactobacillus* 5a

No	Jarak Pergerakan Protein	Rf	Nilai Y	Berat Molekul (kDa)
1	8	0,133	2,085	121,6
2	10	0,166	2,048	111,6
3	12	0,200	2,010	102,3
4	16	0,266	1,936	86,2
5	18	0,300	1,898	79,0
6	20	0,333	1,861	72,6
7	22	0,366	1,824	66,6
8	26	0,433	1,749	56,1
9	31	0,516	1,656	45,2
10	34	0,566	1,600	39,8
11	35	0,583	1,581	38,1
12	37	0,616	1,544	34,9
13	41	0,683	1,469	29,4

Keterangan : panjang gel = 60 mm

Dari karakterisasi *protein* dengan elektroforesis SDS-PAGE terhadap dua isolat *Lactobacillus* (isolat 3a dan 5a), masing-masing diperoleh 13 pita protein. Berat molekul ke-13 pita protein isolat 3a berturut-turut, yaitu : 124,4; 111,6; 102,3; 93,97; 86,2; 79,0; 66,6; 56,1; 43,3; 39,8; 36,4; 33,4; dan 29,4 kDa. Sedang berat molekul ke-13 pita protein isolat 5a berturut-turut, yaitu : 121,6; 111,6; 102,3; 86,2; 79,0; 72,6; 66,6; 56,1; 45,2; 39,8; 38,1; 34,99; dan 29,4 kDa. Hasil karakterisasi *protein* kedua isolat diketahui bahwa masing-masing isolat memiliki 13 pita protein dan 6 diantaranya mempunyai berat molekul yang sama, yaitu pita protein nomor : 2, 3, 7, 8, 10, dan 13.

Identifikasi Spesies *Lactobacillus*

Identifikasi isolat *Lactobacillus* 3a dan 5a menggunakan API CHL 50 V5.1 untuk menentukan jenis spesiesnya. Hasil identifikasi isolat *Lactobacillus* 3a dan 5a ditampilkan pada Gambar 4 dan Gambar 5.

Strip	API 50 CHL V5.1									
Profile	-----+-----+++++-----+-----+++++++-----+-----+-----+-----+-----									
Note										
Significant taxa	% ID	T	Tests against							
Lactobacillus plantarum 1	99.5	0.66	INO	0%						
Next taxon	% ID	T	Tests against							
Lactobacillus pentosus	0.3	0.36	GLY	75%	DXYL	100%	RHA	25%	INO	0%
			MLZ	25%						

Gambar 4. Hasil Identifikasi Speises Isolat *Lactobacillus* 3a

Strip	API 50 CHL V5.1								
Profile	-----+-----+++++-----+-----+++++++-----+-----+-----+-----+-----								
Note									
Significant taxa	% ID	T	Tests against						
Lactobacillus plantarum 1	99.4	0.99							
Next taxon	% ID	T	Tests against						
Lactobacillus pentosus	0.4	0.71	GLY	75%	DXYL	100%	MLZ	25%	

Gambar 5. Hasil Identifikasi Spesies Isolat *Lactobacillus* 5a

Hasil karakterisasi *protein* kedua isolat (3a dan 5a) menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE, diketahui bahwa meskipun hanya 6 pita protein dari 13 pita protein yang diperoleh, mempunyai berat molekul yang sama, spesies kedua isolat ternyata sama yaitu *Lactobacillus plantarum* dengan %ID mencapai 99,5% untuk isolat 3a dan 99,4% untuk isolat 5a.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kubis dan sawi sortir merupakan limbah pasar yang berlimpah jumlahnya, memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai sumber mikroba probiotik asli Indonesia. Hasil penelitian diperoleh 2 isolat dengan spesies yang sama yaitu *Lactobacillus plantarum*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi pada pengembangan dan penganekaragaman mikroba probiotik asli Indonesia.

7.2. Saran

Penelitian-penelitian untuk mengeksplorasi mikroba probiotik asli Indonesia perlu ditingkatkan dan dikembangkan, agar dapat dihasilkan mikroba probiotik dengan kualitas tinggi asli Indonesia, untuk menggantikan mikroba probiotik impor yang selama ini banyak digunakan sebagai starter pada industri pangan di Indonesia. Penelitian ini perlu dilanjutkan, dengan mengaplikasikan isolat yang diperoleh pada produk pangan seperti yogurt dan sebagainya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ditujukan kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, yang telah membiayai penelitian ini, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Nomor : 021/OK6/KL/SP/2013, tanggal 16 Mei 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, I. H. 2007. Total Bakteri Asam Laktat Dan Kualitas Fisik Ekstrak Limbah kubis Pada Aras Garam (NaCl) Dan Lama Pemeraman Berbeda. Laporan Penelitian (Tidak dipublikasikan).
- Hersoelityorini W. dkk. 2013. Panduan dan Kumpulan Abstrak Seminar Nasional “ Pengembangan Sumber Daya Pedesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan III” Pusat Penelitian Gender, Anak dan Pelayanan Masyarakat, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Jendral Soedirman.
- Mahasri, G. Ulia, F. dan Sri, S. 2010. Karakterisasi Protein *Lenaea cyprinacea* Dengan Metode Elaktroforesis SDS-PAGE. *J. Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol.2. No.1 : 61-66.
- Natalia, L. dan Adin, P. 2006. Sifat *Lactobacilli* Yang Diisolasi dari Usus Ayam Sebagai Probiotik. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Purwandhani, SN. dan Endang, SR. 2003. Isolasi dan Seleksi *Lactobacillus* Yang Berpotensi Sebagai Agensia Probiotik. *Agritech* Vol. 23. No. 2 : 67-74.
- Triana, E. dan Novik, N. 2007. eleksi dan Identifikasi *Lactobacillus* Kandidat Probiotik Penurun Kolesterol Berdasarkan Analisis Sekuen 16S RNA, *Biota*, Vol 12(1): 55-60.
- Utama, C.S. dan A. Mulyanto. 2009. Potensi Limbah Kubis dan Sawi sebagai starter Fermentasi. *J. Kesehatan Unimus*. Vol.2, No.1 : 6-13.
- Volk, Wesley, A. dan Wheeler. 1992. *Mikrobiologi Dasar*. Jilid 2. Edisi Kelima. Erlangga, Jakarta
- Wikanastri, H., Cahya S.U., dan Agus S. 2011. Kajian Kemanfaatan Limbah Kubis dan Sawi Sebagai Startrer Fermentasi Berpotensi Sebagai Probiotik. *Proceeding Seminar HKI Jawa Tengah*. ISBN : 978 602 8467 81 0
- Yulinery, T. Eko, Y. dan Novik, N. 2006. Uji Fisiologis Probiotik *Lactobacillus* sp. Mar 8 Yang Telah Dienkapsulasi dengan Menggunakan Spray Dryer untuk Menurunkan Kolesterol. *Biodiversitas*. Vol. 7. No. 2 : 118-122.