



Artikel Penelitian

Daya Hambat *Lactobacillus Reuteri* Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro

Ikhsan Izudin¹, Ria Regar¹, Arista Wahyuningsih^{1,2}, Iif Hanifa Nurrosyidah^{*1,2}

¹STIKES Rumah Sakit Anwar Medika

²Departemen Biologi Farmasi, STIKES Rumah Sakit Anwar Medika

*Corresponding author (Email: iifhanifanurrosyidah@gmail.com).

ABSTRAK : Bakteri *Lactobacillus reuteri* merupakan bakteri probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas daya hambat probiotik *L.reuteri* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Produk probiotik *L.reuteri* di inokulasikan kedalam media MRS cair selama 24 jam, disentrifugasi 5.000 RPM selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode sumuran. Probiotik *L.reuteri* menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Daya hambat *L.reuteri* terhadap *E.coli* adalah masuk ke dalam kategori sedang yaitu 5.88 mm. Zona hambat tergolong lemah pada *Staphylococcus aureus* yaitu 3.66 mm.

Kata Kunci: Probiotik, *L.reuteri*, *E.coli*, *S.aureus*.

ABSTRACT: *Lactobacillus reuteri* bacteria are probiotic bacteria. This study aims to determine the inhibitory activity of *L. reuteri* probiotics against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. *L.reuteri* probiotic products were inoculated into liquid MRS media for 24 hours, centrifuged 5,000 RPM for 15 minutes. Then the antibacterial activity test was performed using the well method. *L.reuteri* probiotics inhibit the growth of *E.coli* and *S.aureus* bacteria. The inhibition of *L. reuteri* against *E.coli* is included in the medium category which is 5.88 mm. The inhibition zone is classified as weak in *S.aureus* which is 3.66 mm.

Key words: Probiotic, *L.reuteri*, *E.coli*, *S.aureu*



Artikel Penelitian

PENDAHULUAN

Bakteri *Escherichia coli* adalah salah satu flora normal pada tubuh manusia yang dapat ditemukan di usus besar manusia. Secara umum bakteri *Escherichia coli* tidak berbahaya apabila dalam jumlah yang seimbang. Beberapa *E.coli* (tipe O157:H7) dapat mengakibatkan diare (karena enterotoksin yang dihasilkan). Sumber bakteri ini terdapat pada makanan yang kurang matang dan air yang terkontaminasi (Sutiknowati, 2016).

S.aureus dapat mengkontaminasi makanan yang dalam jumlah tertentu mampu menyebabkan keracunan makanan salah satunya dapat menyebabkan diare (Rakasiwi dan Soegihardjo, 2014). Pada umumnya *S.aureus*. Enterotoksin yang dihasilkan bakteri ini mampu menyebabkan keracunan pada makanan, gejala yang timbul akibat keracunan berupa mual, muntah, hipotermia, diare, lemas, dan lesu. Beberapa penelitian menunjukkan bakteri *Staphylococcus aureus* mengkontaminasi pada daging dan sosis (Adriani dan Maria, 2014).

Selama ini pengobatan infeksi yang umum dilakukan dengan mengkonsumsi agen antibakteri (antibiotik). Pemilihan agen antibakteri yang kurang tepat dapat menimbulkan resistensi bakteri dan menurunkan efektivitasnya (Jurnalis *et al.*, 2009). Sharma *et al.* (2009) dalam Muhajir *et al.*, 2016) menyatakan bahwa sekitar 29% *E.coli* dan *S.aureus* resisten terhadap beberapa agen antibakteri (Widianingsih dan Yunita, 2018).

Salah satu alternatif untuk mencegah infeksi dari *E.coli* dan *S.aureus* yang bersifat patogen adalah dengan cara menekan pertumbuhan bakteri tersebut. Pertumbuhan *E.coli* dan *S.aureus* pada saluran pencernaan ditekan dengan pemberian probiotik (Nurrosyidah, 2018).

Saat ini banyak beredar di pasaran produk probiotik dalam bentuk serbuk, tablet, dan minuman dari berbagai merek, yang menguntungkan kesehatan pencernaan dengan cara menghambat bakteri patogen. Tapi produk probiotik yang beredar di pasaran belum diketahui secara pasti aktivitasnya terhadap bakteri patogen (Purwijantiningsih, 2014). Oleh karena itu, dilakukan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas probiotik *L.reuteri* terhadap *E. coli* dan *S.aureus*.



Artikel Penelitian

Adapun pemilihan jenis probiotik *L.reuteri* karena jenis probiotik tersebut paling banyak digunakan dalam sediaan komersil sebagai terapi komplementer pada kasus diare anak (Widianingsih dan Yunita, 2018).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan; alat-alat gelas, Cawan Petri (*Petri Q*), Sheker Rotation (*health/H-MSR*), Neraca Analitik, Spatula, Plate, Jarum Ose, Pecadang baja / *cylinder*, Aluminium Foil, Kapas swab, Pinset, Inkase, Jangka Sorong, Micropipet, *Yellow tip*, *Blue tip*, Pengaduk, Bunsen, Korek Api, Kertas Label, Alat Tulis, Tisu, Pinset, Incubator (*memmert*), LAF (*Lamnar Air Flow*), Autoklaf (*GEA/IS-B75L*) dan kamera / Hp sebagai alat dokumentasi.

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi kultur *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*., Produk Probiotik *Lactobacilus reuteri* , *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Media Mueller Hinton Agar* (MHA), *De Mann Rogosa Shape Broth* (MSRB) alkohol 70%, spirtus, H₂SO₄ 1%, BaCl₂ 1%, NaCl 0,9%, dan akuadest steril.

Prosedur Penelitian

Pembiakan Bakteri Uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*)

Proses peremajaan bakteri uji (*E.coli* dan *S.aureus*) pada 5 ml media NA miring steril kedalam tabung reaksi steril. Setelah media NA memadat bakteri uji diremajakan dengan cara digores menggunakan jarum ose secara steril pada Lemari *Luminar Air Flow* (LAF). Setelah itu biakan bakteri uji (*E.coli* dan *S.aureus*) di inokulasi dalam suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan isolat uji dilakukan dengan cara koloni bakteri *E.coli* yang diremajakan disuspensikan kedalam 10 ml larutan NB kocok sampai homogen dan inokulasi selama 24 jam, sampai diperoleh konsentrasi bakteri 10⁸ CFU/ml



Artikel Penelitian

dibandingkan dengan *McFarland* 0,5. Pembuatan isolat uji untuk bakteri *S.aureus* prosedurnya sama dengan pembuatan isolat uji pada bakteri *E.coli*.

Pembuatan Larutan Probiotik

Probiotik *Lactobacillus reuteri* 1 gram dilarutkan dengan MRSB 9 ml kemudian di inkubasi selama 24 jm terbentuklah suspensi probiotik *Lactobacillus reuteri* dan didinginkan pada suhu 4⁰C kemudian dilakukan sentrifugasi (5000 RPM, 15 menit) untuk masing-masing probiotik terbentuk kosentrasi 100%.

Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) .Metode yang digunakan adalah metode sumuran. Sampel probiotik *L.reuteri* hasil dari sentrifugasi di ujikan ke bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Kultur bakteri uji masing - masing diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasi kedalam NB sampai jumlah bakteri 1,5x10⁸ cfu/ml dibandingkan dengan standart *McFarlan* 0,5 selanjutnya disiapkan media MHA yang sudah di tuang kedalam cawan petri biarkan hingga memadat kemudian swab masing – masing bakteri patogen, kemudian dibuat lubang sumur dengan diameter sekitar 6 mm. Probiotik *L.reuteri* hasil dari sentrifius ditetesakan sebanyak 50 µL pada masing – masing lubang sumuran yang berbeda dalam 1 cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1 x 24 jam dan diukur zona hambatnya setiap satu hari sekali selama 3 hari. Pada setiap cawan tersebut dibuat sebuah lubang kontrol negatif yaitu akuades. Kemudian diameter zona hambat yang terbentuk diukur (Widianingsih dan Yunita, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian ini Probiotik *L.reuteri* menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*. Daya hambat *L.reuteri* terhadap *E.coli* adalah masuk ke dalam kategori sedang yaitu 5.88 mm. Zona hambat tergolong lemah pada *Staphylococcus aureus* yaitu 3.66 mm.

Artikel Penelitian

Aktivitas antibakteri dari *L.reuteri* dihasilkan dari metabolit yang dihasilkannya yaitu reuterin, senyawa dengan bobot molekul kurang dari 200 Da dan tahan terhadap aktivitas pepsin sehingga tidak disebut bakteriosin. Reuterin adalah senyawa antimikroba yang mempunyai spektrum yang luas dan efektif terhadap bakteri gram negatif, kapang, khamir dan protozoa. Reuterin lebih efektif menghambat bakteri gram negatif (Netty kusumawati, 2000).

Tabel 1. Daya hambat probiotik *Lactobacillus reuteri* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Probiotik	Diameter zona hambat (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>L. reuteri</i> 1x24	3.66 mm
<i>Escherichia coli</i> <i>L. reuteri</i> 1x24	5.88 mm
Kontrol	0.00 mm



Gambar 1. Hasil Uji aktivitas antibakteri Probiotik *L.reuteri* terhadap *S.aureus* dengan metode sumuran

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antibakteri probiotik *L.reuteri* terhadap *E.coli* dan *S.aureus*. Bakteri *Lactobacillus reuteri* lebih efektif terhadap bakteri patogen gram negatif yaitu *Escherichia coli* dibandingkan dengan bakteri patogen gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*.



Artikel Penelitian

DAFTAR PUSTAKA

1. Adriani, dan Maria, Y. 2014. Identifikasi keberadaan *Staphylococcus sp.* Pada santan kelapa kemasan yang di perdagangkan di kota makassar. *Perspektif*. 2: 31–34.
2. Hudaya, Adeng, Nani Radiastutik, Dede Sukandar, and Ira Djajanegara. 2014. “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Bunga Kecombrang Terhadap Bakteri *Eschericia Coli* Dan *Stapylococcus Aureus*.” 7(April):9–15.
3. Khotimah, Kusnul. dan Jion Kusnadi. 2014. “Aktivitas Antibakteri Minuman Probiotik Sari Kurma (*Phoenix Dactilyfera L.*) Menggunakan *Lactobacillus Plantarum* Dan *Lactobacillus Casei*.” 2(3):110–20.
4. Margino, Sebastian, Subagiyo, dan Romadhon. 2012. “Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria Pada Produk-Produk Hasil Perikanan.” *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology* 8(1):59–64.
5. McFarland. 2014. “McFarland J. Nephelometer: An Instrument for Media Used for Estimating the Number of Bacteria in Suspensions Used for Calculating the Oponic Index and for Vaccines. *J Am Med Assoc* 1907; 14:1176-8.”
6. Netty Kusumawati. 2000. Peranan Bakteri Asam Laktat Dalam Menghambat *Listeria monocytogenes* Pada Bahan Pangan. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi* 1(1)14-28.
7. Nurrosyidah, I. H. 2018. Uji Prebiotik Unulin Umbi Dahlia (*Dahlia Pinnata* Cav.) Berbunga Merah Darah Pada *Lactobacilus Acidophillus* Dan *Streptococcus Termophilus*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Rustida*, 4(2), 526-532.
8. Sutiknowati, Lies Indah. 2016. “Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia Coli*.” *Oseana XLI*:63–71
9. Tari, Intan Niken. dan Catur budi Handayani. 2015. “Uji Potensial Antidiare *Lactobacillus Sp* Indigenous Sebagai Kultur Starter Pada Yogurt Dengan Suplementasi Ekstrak Ubi Jalar Ungu.” VIII(2).
10. Widianingsih, M. dan E. F. Yunita. 2018. “Efektivitas Probiotik Single Dan Multi Strain Terhadap *Escherichia Coli* Secara In Vitro.” 7(2):178–87