

**UJI EFEKTIVITAS YOGHURT *SINGLE* DAN *DOUBLE STRAIN* DALAM MENGHAMBAT BAKTERI *Salmonella typhi* PENYEBAB DEMAM TIFOID**

**EFFECTIVENESS TESTING OF SINGLE AND DOUBLE STRAIN YOGHURT IN INHIBITTING TYPHOID FEVER CAUSING *Salmonella typhi* BACTERIA**

**Salsabila, Annisa Sekar.<sup>1</sup>, Widhi, Anriani Puspita Karunia Ning<sup>2\*</sup>,  
Mardihusodo, Hajid Rahmadianto<sup>3</sup>, Peramiarti IDSAP<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman

<sup>2</sup>Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman

<sup>3</sup>Departemen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman

\*Corresponding author: anrianipuspita@unsoed.ac.id

**ABSTRAK**

*Salmonella typhi* adalah bakteri gram negatif penyebab demam tifoid. Penyakit ini dapat dicegah dengan mengonsumsi makanan fermentasi yang mengandung bakteri asam laktat (BAL). Yoghurt merupakan salah satu produk olahan hasil fermentasi BAL dengan bahan dasar susu. BAL yang digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah *single strain Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* serta *double strain Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan BAL yoghurt *single strain* dengan *double strain* dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan menghitung rata-rata zona hambat yang terbentuk. Metode penelitian ini adalah *experimental design* dengan *post test only with control group design*. Pengujian bakteri menggunakan difusi sumuran. Total sampel sebanyak 16 sampel dibagi menjadi 4 kelompok konsentrasi masing-masing 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80%. Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis data menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan *Post Hoc Mann Whitney*. Hasil penelitian didapatkan median diameter zona hambat BAL yoghurt *double strain Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* > *single strain Lactobacillus bulgaricus* > *Streptococcus thermophilus*. Pada uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai  $p = 0,000$ , terdapat perbedaan antara kelompok yang diberi perlakuan dan tidak diberi perlakuan. Hasil uji penelitian didapatkan perbedaan signifikan median diameter zona hambat antar kelompok. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa yoghurt *double strain* memiliki kemampuan penghambatan pertumbuhan *Salmonella typhi* yang lebih baik dibandingkan yoghurt *single strain Lactobacillus bulgaricus* atau *Streptococcus thermophilus*.

**Kata kunci** : Bakteri Asam Laktat, Demam Tifoid, *Lactobacillus bulgaricus*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus thermophilus*.

### ABSTRACT

*Salmonella typhi* is a negative gram bacterium that is the cause of typhoid fever. This disease can be prevented by consuming fermented produce containing lactic acid bacteria (LAB). Yoghurt is one such produce made from LAB fermentation with milk being its main ingredient. The LAB used to make yoghurt is the single strain *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, and the double strain *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. This research's purpose is to find out the comparison between the LAB of single strain yoghurt and that of the double strain in terms of inhibiting the growth of *Salmonella typhi* by measuring the average zone of inhibition they formed. The method used in this research is the experimental design with post test only with control group design. Testing of bacteria in this study uses the well diffusion method. There were 12 samples in total, divided into 4 groups with 0%, 20%, 40%, 60%, and 80% concentration respectively as control. The experimental design in this study used the Completely Randomized Design (CRD) method. The Kruskal Wallis test and Mann Whitney Post Hoc test were used to analyze the data. The results showed that the median of the LAB inhibition zone for the double strain of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* > single strain *Lactobacillus bulgaricus* > *Streptococcus thermophilus*. In the Kruskal Wallis test, the p value obtained was 0.000, meaning the treated and the untreated groups differed. Results showed significant difference between each group regarding the median diameter of each of their LAB inhibition zone. This study concluded that yoghurt made with double strain *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* are better at inhibiting the growth of *Salmonella typhi* compared to the one made with the single strain *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*.

**Keywords:** Lactic Acid Bacteria, *Lactobacillus bulgaricus*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus thermophilus*, Typhoid Fever

---

**Penulis korespondensi:**

Anriani Puspita Karunia Ning Widhi  
Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman  
Jl. Dr. Gumbreg no. 1 Mersi, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia  
anrianiuspita@unsoed.ac.id

## PENDAHULUAN

Demam tifoid adalah penyakit demam akut karena infeksi pada usus halus yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enterica* khususnya turunannya, *Salmonella typhi* (Crump, 2015). Demam tifoid bersifat endemik di Indonesia dengan prevalensi 5,13% dan *Case Fatality Rate* sebesar 0,67% (Prehamukti, 2018). *Salmonella typhi* dilaporkan sudah mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik seperti kloramfenikol, amfisilin, dan trimethoprim sulfametoksazol (Jamilah, 2015). Pengendalian dan pencegahan nonantibiotik seperti konsumsi probiotik dengan kandungan bakteri asam laktat (BAL) yang berhasil mengurangi infeksi<sup>3</sup> dan mampu mengganggu jalur ekspresi gen bakteri patogen, sehingga patogen tidak mampu berkoloni dan menimbulkan penyakit<sup>7</sup>. BAL *Lactobacillus bulgaricus* memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* sebesar  $7,37 \pm 0,55$  mm. BAL *Streptococcus thermophilus* juga menunjukkan daya hambat terhadap

*Salmonella typhi* sebesar  $12,13 \pm 0,55$  mm (Alrosyidi, 2015). Yoghurt dengan kandungan BAL *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan konsentrasi 80% mampu menunjukkan hasil penghambatan terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* sebesar 99,94% (Putri, 2018). Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk membandingkan efektivitas antara yoghurt *single strain* dengan *double strain* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* penyebab demam tifoid.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *experimental design* dengan *post-test only with control group design*. Sampel penelitian berupa yoghurt dibuat dalam beberapa konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80% yang mengandung BAL *single* atau *double strain* yaitu *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Bakteri uji dalam penelitian ini yaitu *Salmonella typhi* yang diperoleh dari pasien

penderita demam tifoid diambil dari Laboratorium Mikrobiologi FK Unsoed.

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoklaf* (*All American Model No. 25X*), tabung erlenmeyer, hot plate/kompur listrik, cawan petri, jarum ose (*Germany Handle*), drugalsky (*Germany handle*), inkubator (*Memmert incubator*), jangka sorong, neraca digital (AND EK-1200), vortex, pH meter, tabung reaksi, rak tabung, tabung ukur, lemari pendingin, botol kaca, *cork borer*, mikroskop, termometer, api bunsen, gelas ukur, *object glass*, *cover glass*, mikropipet, *beaker glass*

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa isolat bakteri *Salmonella typhi* (biakan Laboratorium Mikrobiologi FK Unsoed yang didapatkan dari pasien demam tifoid), isolat bakteri *Lactobacillus bulgaricus* (biakan Laboratorium Teknologi Hasil Ternak (THT) Fakultas Peternakan Unsoed), isolat bakteri *Streptococcus thermophilus* (biakan Laboratorium Teknologi Hasil Ternak (THT)

Fakultas Peternakan Unsoed), media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), media *de Mann Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), *de Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), media uji biokimia TSIA (glukosa, sukrosa, fruktosa, fero sulfat, sodium tiosulfat), susu sapi murni, bubuk susu skim, larutan standar *Mc Farland* 0,5, kapas, plastik *wrapping*, akuades, alkohol 70%, kristal ungu, kalium iodida, safranin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, *paper oxidase*, slide koagulase, reagen koagulase, lisol, dan *emersi oil*.

### **Jalannya Penelitian**

Semua prosedur penelitian dilaksanakan setelah mendapat persetujuan dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman (Ref: 189/KEPK/VIII/2021). Sampel berupa yoghurt dibuat dalam beberapa konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80% yang mengandung BAL *single* atau *double strain* yaitu *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Bakteri uji dalam penelitian ini yaitu *Salmonella typhi*. Penelitian ini dilakukan secara

*in-vitro* menggunakan metode sumuran. Jumlah pengulangan sampel sebanyak 3 kali dengan total sampel sebanyak 12 sampel. Dalam pembuatan yoghurt *single strain*, masing-masing *strain* dimasukan ke dalam susu sapi sedangkan yoghurt *double strain*, kedua *strain* BAL dimasukan ke dalam susu dan diinkubasi selama 24 jam hingga terbentuk yoghurt. Penelitian ini menggunakan media MHA sebagai media uji, penanaman *Salmonella typhi* menggunakan swab steril setelah itu dilubangi menggunakan *cork borer* kemudian masing-masing diisi yoghurt sebanyak 60 $\mu$ l dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 6 jam-24 jam. Penghambatan *Salmonella typhi* apabila terbentuk area bening disekitar sumuran. Pengukuran zona hambat menggunakan penggaris satuan mm.

### **Analisis Data**

Hasil data yang didapat berupa data kuantitatif dengan skala rasio. Data yang dihasilkan diperoleh dari pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri

*Salmonella typhi* dengan menggunakan jangka sorong ditampilkan sebagai mean  $\pm$ SD. Hasil yang telah didapat dianalisis menggunakan aplikasi IBM SPSS versi 25.0 (produk dari SPSS Inc). Analisis univariat digunakan untuk mendeskripsikan karakteristik variabel berupa konsentrasi tiap yoghurt dan pertumbuhan *Salmonella typhi*. Analisis komparatif dengan uji normalitas Saphiro Wilk (sampel  $\leq$ 50) dan uji homogenitas varians menggunakan *Levene test*. Hasil data tidak terdistribusi normal maka menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Post Hoc Mann Whitney*. Analisis data menggunakan *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ) terdapat perbedaan signifikan diameter zona hambat *Salmonella typhi* yang diberikan. Uji *Post Hoc Mann Whitney* didapatkan hasil pada kelompok konsentrasi 0% terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok perlakuan 20%, 40%, 60%, dan 80% ( $p<0,05$ ) dan terdapat perbedaan signifikan pada beberapa kelompok perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Yoghurt dalam penelitian ini terbagi menjadi dua kelompok yaitu, yoghurt *single strain* dan yoghurt

*double strain*. Hasil uji keasaman menunjukkan yoghurt *double strain* memiliki tingkat asam yang lebih tinggi (Tabel 1).

**Tabel 1.** Hasil Uji pH Yoghurt

| Yoghurt | Konsentrasi | pH  |
|---------|-------------|-----|
| Lb      | 0%          | 6,8 |
|         | 20%         | 4,4 |
|         | 40%         | 4,3 |
|         | 60%         | 4,3 |
|         | 80%         | 4,2 |
| St      | 0%          | 6,8 |
|         | 20%         | 4,4 |
|         | 40%         | 4,4 |
|         | 60%         | 4,3 |
|         | 80%         | 4,3 |
| Ds      | 0%          | 6,8 |
|         | 20%         | 4,3 |
|         | 40%         | 4,2 |
|         | 60%         | 4,1 |
|         | 80%         | 4,1 |

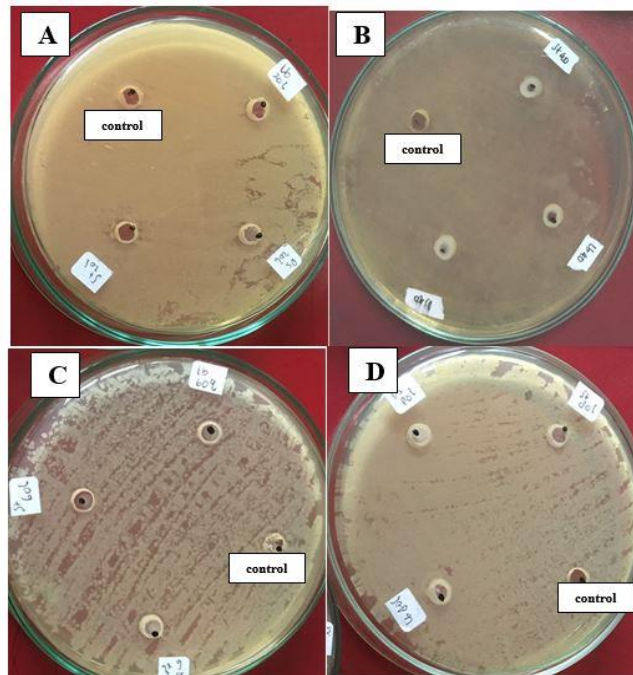
Catatan: *Lactobacillus bulgaricus* (Lb), *Streptococcus thermophilus* (St), Double strain (Ds).

Pada penelitian ini 0%(kontrol), 20%, 40%, 60% dan didapatkan hasil 16 sampel dari 4 80% (Tabel 2 dan Gambar 1). kelompok konsentrasi yang berbeda

**Tabel 1.** Hasil Penghambatan Yoghurt Terhadap *Salmonella typhi*

| No | Variabel      | ΣSampel | Rerata ± SD (mm) |
|----|---------------|---------|------------------|
| 1  | K1 kontrol 0% | 3       | 0                |
| 2  | K2 Lb 20%     | 3       | 7,33 ± 1,15      |
| 3  | K3 St 20%     | 3       | 6                |
| 4  | K4 Ds 20%     | 3       | 9,33 ± 1,15      |
| 5  | K5 Lb 40%     | 3       | 8                |
| 6  | K6 St 40%     | 3       | 7,33 ± 1,15      |
| 7  | K7 Ds 40%     | 3       | 10,67 ± 0,58     |
| 8  | K8 Lb 60%     | 3       | 10,33 ± 0,58     |
| 9  | K9 St 60%     | 3       | 8,67 ± 1,15      |
| 10 | K10 Ds 60%    | 3       | 12,67 ± 0,58     |
| 11 | K11 Lb 80%    | 3       | 11,33 ± 1,15     |
| 12 | K12 St 80%    | 3       | 10,67 ± 0,58     |
| 13 | K13 Ds 80%    | 3       | 13,33 ± 1,15     |

Catatan : *Lactobacillus bulgaricus* (Lb), *Streptococcus thermophilus* (St), Double strain (Ds).



Gambar 1. A) Hasil penghambatan yoghurt konsentrasi 20% terhadap *Salmonella typhi*, B) Hasil penghambatan yoghurt konsentrasi 40% terhadap *Salmonella typhi*, C) Hasil penghambatan yoghurt konsentrasi 60% terhadap *Salmonella typhi*, D) Hasil penghambatan yoghurt konsentrasi 80% terhadap *Salmonella typhi*.

Zat antimikroba yang dihasilkan BAL seperti asam laktat, bakteriosin dan hidrogen peroksida mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen sehingga terbentuk zona hambat (Putri, 2018). Asam laktat yang dihasilkan *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* membuat suasana asam sehingga menghambat

pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* yang memiliki pH optimum 6,5-7,5 (Prehamukti, 2018). Asam laktat juga berperan mengganggu keseimbangan transport nutrisi bakteri patogen dan mengganggu metabolisme bakteri patogen (Fauziah, 2015). Bakteriosin *thermophilin* dan *bulgarican* yang dihasilkan oleh

*Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dapat menempel pada membran *Salmonella typhi*, kemudian memengaruhi permeabilitas sehingga sel akan kehilangan proton seiring dengan gradien pH yang berubah pada membran sel. Hal tersebut menyebabkan kerusakan molekul-molekul yang berfungsi sebagai penyusun sintesis protein dalam sel dan memodifikasi ribosomal sehingga dapat menghambat bakteri gram negatif (Bali, 2016). Hidrogen peroksida dapat menimbulkan keracunan hiperbarik akibat peroksidasi lemak membran sel sehingga terjadi peningkatan permeabilitas membran sel. Selain efek oksidasi yang kuat, terdapat efek antimikroba lain berupa kemampuan untuk mendestruksi struktur molekul dasar dari asam nukleat dan protein sel mikroba patogen (Rahman, 2019).

Yoghurt *double strain* memiliki tingkat pH lebih asam dibandingkan yoghurt *single*

*strain*, karena BAL *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* menjalin simbiosis dan memproduksi lebih banyak asam (Ouwehand, 2018). *Lactobacillus bulgaricus* membantu memperpanjang fase logaritmik *Streptococcus thermophilus* dengan cara membebaskan peptida-peptida dari kasein susu yang merangsang pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* (Siuwerts, 2016). Pemecahan laktosa menjadi asam laktat dan asam format yang dihasilkan oleh *Streptococcus thermophilus* menurunkan pH dan membuat suasana menjadi asam sehingga *Lactobacillus bulgaricus* dapat tumbuh lebih baik (Rahman, 2019). Yoghurt *double strain* juga memiliki variasi antimikroba yang lebih besar seperti bakteriosin, hidrogen peroksida, molekul koagregasi, biosurfaktan, stimulasi produksi sIgA, dan sekresi lendir yang dapat mencegah enteropatogen (Ouwehand, 2018).



## KESIMPULAN

BAL yoghurt *single* dan *double strain Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. BAL yoghurt *double strain* lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* penyebab demam tifoid ketimbang *single strain* pada semua tingkat konsentrasi.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih pada dosen saya Anriani Puspita K.W., S.Si., M.Si., dr. Hajid Rahmadianto M., Sp.U, Dra. IDSAP Peramiarti, M. Si dan dr. Wiwiek Fatchurohmah M.Sc. atas ilmu dan saran yang diberikan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alrosyidi, A. C. H. F. 2015. Ringkasan Aktivitas Antibakteri Kombinasi Susu Probiotik *Lactobacillus bulgaricus* Dan *Streptococcus thermophilus* Terhadap Bakteri Penyebab Diare. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya. 8–9. (Tidak dipublikasikan).
- Bali, V. Parmijt P., Manab B., dan John F.K. 2016. Bacteriocins: Recent Trends and Potential Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 56(5): 817–834.
- Bourrie, B. C. T., Willing, B. P., dan Cotter, P. D. 2016. The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir. *Frontier Microbiology* 7(5):1–17.
- Crump, J. A. 2015. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, And Antimicrobial Management of Invasive Salmonella Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(4): 901–937.
- Fauziah, P. N., Nurhajati, J. dan Chrysanti. 2015. Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* KS1 dalam Menghambat Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* Strain ATCC 700603, CT1538, dan S941. *Makalah Kedokteran Bandung*. 47(1): 35–41.
- Jamilah. 2015. Evaluasi Keberadaan Gen catP terhadap Resistensi Kloramfenikol Pada Penderita Demam Tifoid. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*.1(1):146–152.
- Khikmah, N. 2015. Uji Antibakteri Susu Fermentasi Komersial pada Bakteri Patogen. *Jurnal Penelitian Sainstek*. 20(1):45–52.
- Ouwehand, A. C. 2018. Effectiveness of Multistrain Versus Single-strain Probiotics Current Status and Recommendations for the Future. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 52(00): S35–S40.
- Prehamukti, A. A. 2018. Faktor Lingkungan dan Perilaku terhadap Kejadian Demam Tifoid. *HIGEIA (Journal of Public Health Research and Development)*. 2(4): 587–598.
- Putri, D. Y. 2018. Uji Aktivitas Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus bulgaricus* Dan *Streptococcus thermophilus*) pada Yoghurt dalam Menghambat Pertumbuhan Isolat

- Salmonella typhi* Penyebab Demam Tifoid. *Skripsi* Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman. 53(9):1689–1699.
- Rahman, I. R., dan Nurkhasanah K. I. 2019. Optimasi Komposisi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada Yogurt Terfortifikasi Buah Lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) sebagai Antibakteri terhadap *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(2): 99–106.
- Rizky, A., Darniati, dan Ismail. 2017. Isolation and Identification of *Salmonella sp* in Roasted Chicken From Restaurant in Syiah Kuala, Banda Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*. 01(3): 265–274.
- Sieuwerts, S. 2016. Microbial Interactions in the Yoghurt Consortium: Current Status and Product Implications. *SOJ Microbiology & Infectious Diseases*, 4(2): 01–05.
- Stephens, J. dan Turner, D. 2015. *Streptococcus thermophilus* Bacteraemia In A Patient With Transient Bowel Ischaemia Secondary to Polycythaemia. *JMM Case Reports*. 2(3): 1–3.