



[JDS]
**JOURNAL OF SYIAH KUALA
DENTISTRY SOCIETY**

Journal Homepage : <http://jurnal.unsyiah.ac.id/JDS/>



**DAYA HAMBAT MINUMAN PROBIOTIK YOGHURT SUSU SAPI TERHADAP
Porphyromonas gingivalis SECARA IN VITRO**

Zulfan M. Alibasyah¹, Diana Setya Ningsih¹, Siti Fadhilla Ananda²

¹ Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala

² Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala

Abstract

Chronic Periodontitis is one periodontal disease. The main cause of periodontitis chronic disease is bacteria which present in subgingival plaque, that called *porphyromonas gingivalis*. Chronic periodontitis treatment includes treatment to eliminate pathogenic bacteria such as *Porphyromonas gingivalis*. Use of probiotics such as *yoghurt* can be used as a treatment to inhibited pathogenic bacteria because it contains lactic acid bacteria. In this study, uses *yoghurt* derived from cow's milk. This study aims to know the inhibitory from probiotic drinks of *yoghurt* to *Porphyromonas gingivalis* in vitro. Cow's milk *yoghurt* is made with adding lactic acid bacteria 2%, 3%, 4%, and 5% concentration. In this research used an agar-well diffusion assay to see inhibited the drink probiotic *yoghurt* cow's milk in *Porphyromonas gingivalis*. The result was analyzed with one way ANOVA. The result showed there are differences in the inhibition of *Porphyromonas gingivalis* zone after being exposed to probiotic cow's milk *yoghurt* with concentration 2%, 3%, 4%, and 5% ($p < 0,05$). Inhibition zone probiotic drinks of cow's milk *yoghurt* against *Porphyromonas gingivalis* which made by beginning at probiotic cow's milk on the *Porphyromonas gingivalis* concentration 4% (14,6 mm) and 5% (19,2 mm), both includes as weak category and average according to Ahn classification. The conclusion of this study is probiotic cow's milk *yoghurt* has inhibitory effect againts *Porphyromonas gingivalis*.

Keyword: Chronic periodontitis, *Porphyromonas gingivalis*, probiotic, cow's milk *yoghurt*.

PENDAHULUAN

Yoghurt adalah salah satu produk probiotik yang dikena oleh masyarakat yang menggunakan susu sapi. *Yoghurt* dari susu sapi berwarna putih kekuning-kuningan dan memiliki kandungan vitamin A yang tinggi.¹

- Corresponding author
Email address: ufanraiz@yahoo.com

Yoghurt difermentasi dengan menggunakan bakteri asam laktat (BAL) seperti *Lactobacillus Bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*.² Selama proses fermentasi, BAL akan menghasilkan asam-

asam organik seperti asam laktat, asam asetat, asam format, hidrogen peroksida, diasetil, dan bakteorisin yang bersifat antibakteri.³ Penelitian Arista (2014) menunjukkan bahwa *yoghurt* memiliki efek inhibisi terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Porphyromonas gingivalis*.⁴

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri Gram-negatif anaerob, berpigmen hitam, dan berbentuk batang.⁵ *Porphyromonas gingivalis* merupakan salah satu bakteri yang dominan pada penyakit periodontitis kronis yang terdapat pada plak subgingiva.⁶ *Porphyromonas gingivalis* menghasilkan beberapa faktor virulensi yaitu, fimbria,

kapsul, polisakarida, lipopolisakarida, dan hemolisis yang bersifat patogen di rongga mulut.^{7,8} Hasil penelitian Habasneh dkk (2014) menunjukkan bahwa prevalensi *Porphyromonas gingivalis* pada periodontitis kronis yaitu mencapai 96,2%.⁹

Periodontitis kronis merupakan salah satu penyakit periodontal. Periodontitis kronis dapat ditandai dengan kehilangan perlekatan dan pembentukan poket periodontal yang diakibatkan oleh perkembangan bakteri patogen.¹⁰ Perawatan periodontitis kronis dapat dilakukan dengan cara mengeliminasi bakteri yang ada pada plak gigi yaitu dengan *scaling* dan *root planing*.¹¹ Perawatan periodontitis kronis juga dapat didukung dengan pemberian obat kumur dan antibiotik baik secara lokal maupun sistemik.^{6,12} Salah satu obat kumur yang sering digunakan pada terapi periodontitis kronis adalah klorheksidin. Efek samping dari penggunaan klorheksidin adalah perubahan warna pada gigi, iritasi pada mukosa mulut, dan perubahan sensasi rasa.¹³ Penggunaan antibiotik dalam jangka waktu yang lama juga dapat menyebabkan resistensi bakteri.⁶ Oleh karena itu alternatif lain yang terus dikembangkan yaitu berupa terapi probiotik minuman *yoghurt* susu sapi yang dapat menghambat bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian Sari (2014) menunjukkan bahwa efek antibakteri pada probiotik mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram-negatif seperti *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.¹⁴ Penelitian Zhu dkk (2010) menunjukkan hasil bahwa *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dapat menghambat *Fusobacterium nucleatum* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.¹⁵ Hasil penelitian Koll-Klais dkk (2010) menunjukkan bahwa setelah penggunaan probiotik terjadinya penurunan jumlah *Porphyromonas gingivalis* dan *Prevotella intermedia* yang cukup signifikan yaitu 65%-82%.¹⁶ Berdasarkan uraian di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang daya hambat minuman

probiotik *yoghurt* susu sapi terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan *post test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan pada Maret 2016 di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pengolahan Susu Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian untuk proses pembuatan *yoghurts* susu sapi. Proses pengujian daya hambat minuman probiotik *yoghurt* susu sapi terhadap *Porphyromonas gingivalis* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh.

Sampel pada penelitian ini adalah isolat *Porphyromonas gingivalis* ATCC (*American Type Culture Cell*) 33277 yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Pembuatan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi dilakukan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pengolahan Susu Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala.

Alat yang digunakan terdiri dari *anaerobic jar* (*Oxoid*); labu *Erlenmeyer* (*Pyrex*); gelas ukur (*Pyrex*), cawan petri (*Pyrex*); inkubator (*Memmert*), autoklaf (*ALP*); *waterbath* (*Techne Tempette Junior*); lemari pendingin (*Panasonic*); jarum ose, kaca preparat (*Pyrex*); perforator besi; pipet tetes (*Iwaki*); lampu spiritus; tabung reaksi (*Pyrex*); rak tabung; timbangan analitik (*Ohaus*); mikroskop cahaya (*Olympus*), mikropipet (*Ependorf*); *vortex* (*Rotamixer*), jangka sorong (*Caliver*)

Bahan yang digunakan terdiri dari susu sapi 400 ml; starter *yoghurt* dengan kandungan *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*; bahan pewarnaan Gram (*Kristal violet*, *Lugol's iodine*, *Safranin*); masker; sarung tangan *disposable*; *Phosphat Buffered Saline* (*PBS*); alkohol 70%; etanol 96%; *gas pack CO₂ generating sachet*; *McFarland*; *Mann Rogosa Sharpe*

(MRS) dengan komposisi (*Polypeptone* 10g/L, ekstrak daging 10 g/L, ekstrak ragi 5g/L, dipotassium fosfat 2 g/L, Agar 15g/L, glukosa 20 g/L, sodium asetat 5g/L, amonium sitrat 2 g/L, magnesium 0,05 g/L); media *Nutrient Agar* terdiri dari (*Lab-lemco powder* 42,5g/L, *yeast extract* 2 g/L, *peptone* 5 g/L, agar 15g/L, *sodium chloride* 5 g/L); media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan formula (*beef extract* 300 mg/L, *casein hydrolase* 17,5 g/L, *starch* 1,5 g/L, agar 17 g/L, *aquadest* 1L) dan Natrium Klorida (NaCl) 0,9%

Seluruh alat-alat yang digunakan untuk penelitian terlebih dahulu dicuci dan dikeringkan. Alat-alat yang tidak tahan panas seperti cawan petri, gelas ukur, labu *erlenmeyer*, dan tabung reaksi dibungkus dengan kertas *aluminium foil* dan selanjutnya disterilisasi di dalam sterilisator pada suhu 160°C selama 15 menit. Jarum ose disterilisasi menggunakan api spiritus dan kaca preparat disterilisasi menggunakan alkohol 70%.^{36,38}

Susu sapi sebanyak 400 ml dipasteurisasi pada suhu 90°C selama 30 menit, lalu didinginkan hingga suhu 42°C. Selanjutnya susu sapi dibagi menjadi 4 bagian dituangkan dalam gelas ukur (masing-masing 100 ml). Masing-masing ditambahkan starter *yoghurt* dengan kandungan *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* sebanyak 2%, 3%, 4% dan 5%. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 42°C selama 8 jam, kemudian disimpan pada lemari pendingin dengan suhu 4°C.^{39,40}

Total populasi bakteri (dalam CFU-*colony forming unit*) dihitung pada media MRS. Setiap 1 ml *yoghurt* ditambahkan 9 ml *Phosphat Buffered Saline* (PBS) dan dihomogenkan dengan *vortex*. Sebanyak 1 ml larutan sampel dengan faktor pengenceran antara 10^{-4} - 10^{-6} diinokulasikan ke medium MRS dengan metode tuang (*pour plate*). Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah bakteri (CFU/ml).⁴¹

Total Bakteri Asam Laktat =

$$\text{jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

Serbuk *Nutrient Agar* sebanyak 4,2 gram dilarutkan ke dalam 150 ml akuades, lalu dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan *microwave* hingga mendidih. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Media agar kemudian dituang ke dalam cawan petri pada suasana aseptis.³⁴

Jarum ose dipanaskan menggunakan lampu spiritus dan ditunggu sampai dingin. Selanjutnya diambil 1 ose isolat *Porphyromonas gingivalis* kemudian digoreskan pada media *Nutrient Agar*. Kultur *Porphyromonas gingivalis* dilakukan dengan menggunakan cara goresan T, pertama cawan petri dibagi menjadi 3 bagian menggunakan spidol marker, lalu daerah 1 diinokulasi dengan goresan zig-zag, kemudian dilakukan goresan zig-zag pada daerah 2 dan 3. Selanjutnya diinkubasi dalam suasana anaerob menggunakan *anaerobic jar* dan *GasPack CO₂ generating sachet* lalu dimasukkan ke dalam inkubator selama 72 jam pada suhu 37°C.³⁸

Tahap selanjutnya dilakukan uji konfirmasi *Porphyromonas gingivalis* diamatidengan pewarnaan Gram. Kaca objek yang telah difiksasi dengan *Porphyromonas gingivalis* ditetesi kristal violet sebagai pewarna utama, di diamkan selama ± 1 menit, lalu bilas dengan air mengalir. Selanjutnya ditetaskan larutan etanol 96% setetes demi setetes hingga etanol berwarna jernih lalu dibilas menggunakan air. Selanjutnya ditetaskan *safranin* dan ditunggu ± 45 detik, dicuci dengan air mengalir. Kemudian preparat yang telah disterilisasi di tempelkan pada bagian ulasan yang telah ditetaskan *safranin* dan diamati di bawah mikroskop cahaya untuk mengkonfirmasi warna *Porphyromonas gingivalis*.³⁸

Pembuatan suspensi dilakukan setelah pewarnaan Gram. Koloni hasil pengkulturan *Porphyromonas gingivalis* diambil sebanyak 1-2 ose dengan jarum ose, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% sebanyak 5 ml lalu dihomogenkan dengan *vortex*. Kemudian

kekeruhan bakteri disetarakan dengan McFarland 0,5 atau setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.³⁷

Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1ml *Porphyromonas gingivalis* yang telah disetarakan dengan Mc. Farland 0,5 dengan menggunakan mikropipet, kemudian dicampurkan larutan NaCl 9ml sehingga diperoleh larutan dengan tingkat pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya dibuat pengenceran hingga tingkat pengenceran 10^{-6} . Masing-masing suspensi sebanyak 0,1 ml diinokulasikan pada cawan petri berisi media MHA. Setiap suspensi diinkubasikan pada suhu 37°C selama 72 jam dan diamati jumlah koloninya. Kemudian jumlah koloni *Porphyromonas gingivalis* dipilih yang memiliki jumlah koloni antara 30-300.⁴²

Pengujian dilakukan dengan metode difusi sumur. Dilakukan sebanyak 1 ml suspensi *Porphyromonas gingivalis* dimasukkan ke dalam cawan petri menggunakan pipet dan ditambahkan media *Nutrient Agar*, sehingga terbentuk agar dengan ketebalan 4 mm. Selanjutnya dibuat sumuran dengan perforator besi yang berdiameter 6 mm kemudian diisi dengan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi dengan berbagai konsentrasi yaitu, 2%, 3%, 4%, dan 5% (v/v) sebanyak 50 µl, klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif, dan menggunakan akuades steril sebagai kontrol negatif dengan menggunakan mikropipet.³⁶

Media MHA yang telah ditetesi dengan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi berbagai konsentrasi diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diameter zona bening yang terbentuk diukur dengan jangka sorong. Penelitian ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Hasil penelitian diinterpretasikan berdasarkan klasifikasi oleh Ahn.

Tabel Klasifikasi Diameter Zona Hambat Menurut Ahn⁴³

Diameter Zona Terang (mm)	Respons Daya Hambat Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i>
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* untuk mengetahui apakah terdapat atau tidak pengaruh daya hambat minuman probiotik *yoghurt* susu sapi terhadap *Porphyromonas gingivalis* pada tiap katagori perlakuan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi konsentrasi 2%, 3%, 4%, dan 5%, serta pada klorheksidin 0,2% dan pada akuades.

HASIL PENELITIAN

Total bakteri asam laktat (BAL) pada minuman probiotik *yoghurt* susu sapi. Perhitungan BAL ini dipilih pada cawan yang memiliki koloni BAL sebanyak 30-300. Hasil dari perhitungan total BAL pada konsentrasi minuman probiotik *yoghurt* susu sapi 2% sebanyak $5,0 \times 10^7$ CFU/ml, konsentrasi minuman probiotik *yoghurt* susu sapi 3% sebanyak $8,9 \times 10^7$ CFU/ml, konsentrasi minuman probiotik *yoghurt* susu sapi 4% sebanyak $1,49 \times 10^7$ CFU/ml, dan pada konsentrasi minuman probiotik *yoghurt* susu sapi 5% sebanyak $1,32 \times 10^7$ CFU/ml. Hasil dari perhitungan koloni BAL pada konsentrasi 2%, 3%, 4%, dan 5% pada minuman probiotik *yoghurt* susu sapi menunjukkan bahwa jumlah koloni BAL minuman probiotik *yoghurt* susu sapi melebihi jumlah minimal BAL di dalam minuman probiotik *yoghurt* susu sapi yaitu 10^7 CFU/ml.

Hasil kultur *Porphyromonas gingivalis* yang ada pada stok media *Blood Nutrient* di kultur ke media *Nutrient Agar* yang terdapat di dalam cawan petri. Hasil kultur *Porphyromonas gingivalis* menggunakan media *Nutrient Agar* yang telah diinkubasi selama 72 jam menunjukkan adanya koloni

Porphyromonas gingivalis yang berwarna putih kekuningan, berbentuk bulatan kecil dengan permukaan yang cembung.

Uji konfirmasi *Porphyromonas gingivalis* dilakukan dengan pewarnaan Gram, yaitu melalui pengamatan yang menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 100. Hasil pewarnaan menunjukkan *Porphyromonas gingivalis* berwarna merah muda atau kemerahan, halus, dan kokobasil (berbentuk batang pendek dengan ujung membulat).

Hasil uji daya hambat minuman probiotik *yoghurt* susu sapi dengan berbagai konsentrasi menggunakan metode sumuran pada media MHA yang telah dituang 1ml suspensi *Porphyromonas gingivalis*.

Daya hambat terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* menggunakan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi dimulai pada konsentrasi terendah yaitu 2% dan konsentrasi terbesar 5%. Hasil uji daya hambat terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* menggunakan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2% (5,83 mm), konsentrasi 3% (7,17 mm), konsentrasi 4% (14,4 mm), dan konsentrasi 5% (19,2 mm). Kontrol negatif (KN) menggunakan akuades menunjukkan tidak adanya respons zona hambat terhadap *Porphyromonas gingivalis*, sedangkan pada kontrol positif (KP) menggunakan klorheksidin 0,2% (20,1 mm) menunjukkan adanya zona hambat minuman probiotik *yoghurt* susu sapiresponkuat terhadap *Porphyromonasgingivalis*.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Minuman Probiotik *Yoghurt* Susu Sapi terhadap *Porphyromonas gingivalis* Menurut Ahn.

Konsentrasi Minuman Probiotik <i>Yoghurt</i> Susu Sapi	Diameter Zona Hambat (mm) Minuman Probiotik <i>Yoghurt</i> Susu Sapi				Diameter Zona Hambat Menurut Ahn
	Uji 1	Uji 2	Uji 3	Rata-rata	
2%	5,7	5,3	6,5	5,83	Tidak ada
3%	7,5	7,6	6,4	7,17	Tidak ada
4%	15,3	14	14,5	14,6	Lemah
5%	18,5	19,5	19,6	19,2	Sedang
Akuades	0	0	0	0	Tidak ada
Klorheksidin 0,2%	20,5	21,4	21	20,1	Kuat

Tabel 2. Hasil Uji *One Way* ANOVA Pengaruh Daya Hambat Minuman Probiotik *Yoghurt* Susu Sapi Terhadap *Porphyromonas gingivalis*.

Konsentrasi Minuman Probiotik <i>Yoghurt</i> Susu Sapi	Daya Hambat Minuman Probiotik <i>Yoghurt</i> SusuSapi (mm)	P
2%	5,83	0,000*
3%	7,17	
4%	14,60	
5%	19,20	
Akuades	0	
Klorheksidin 0,2%	20,47	

* $p < 0,05$ terdapat perbedaan yang bermakna setelah diuji *one way* ANOVA

Pada penelitian ini dilakukan analisis data menggunakan *one way* ANOVA. Pada uji normalitas menunjukkan bahwa data diameter zona hambat minuman probiotik *yoghurt* susu sapi berdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk melihat kesamaan data. Hasil uji homogenitas data menunjukkan nilai $p = 0,246$ yang berarti $p > 0,05$ sehingga dapat dilanjutkan penggunaan uji ANOVA. Uji ANOVA yang dilakukan menunjukkan nilai $p < 0,00$ yang berarti minuman probiotik *yoghurt* susu sapi memiliki daya hambat terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Selanjutnya dilakukan uji *Least Significans Difference* (LSD) untuk melihat setiap kelompok perlakuan, kelompok kontrol negatif, dan kontrol positif terdapat perbedaan yang signifikan.

Tabel 3. Hasil Uji LSD Zona Hambat Minuman Probiotik *Yoghurt* Susu Sapi Terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Kelompok Uji	2%	3%	4%	5%	Akuades	Klorheksidin 0,2%
2%	-	0,027*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
3%	0,027*	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
4%	0,000*	0,000*	-	0,000*	0,000*	0,000*
5%	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*	0,034*
Akuades	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*
Klorheksidin 0,2%	0,000*	0,000*	0,000*	0,034*	0,000*	-

* $p < 0,05$ terdapat perbedaan yang bermakna

Berdasarkan tabel dapat dilihat bahwa uji lanjut LSD pada kelompok perlakuan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi dengan konsentrasi 2%, 3%, 4% dan 5% memiliki perbedaan yang signifikan dengan seluruh kelompok kontrol negatif (akuades) dan kontrol positif (klorheksidin 0,2%) dengan nilai uji $p < 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa minuman probiotik *yoghurt* susu sapi dengan konsentrasi 2%, dan 3% tidak memiliki potensi antibakteri terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*, sedangkan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi 4% dan 5% memiliki potensi antibakteri terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

PEMBAHASAN

Minuman probiotik *yoghurt* susu sapi dibuat dengan penambahan starter *yoghurt* yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan konsentrasi berbeda yaitu 2%, 3%, 4% dan 5%. Minuman probiotik *yoghurt* susu sapi selanjutnya dihitung total koloni bakteri asam laktat (BAL). Hasil perhitungan total BAL pada penelitian ini terlihat pada yang menunjukkan bahwa minuman probiotik *yoghurt* susu sapi pada konsentrasi 2%, 3%, 4% dan 5% pada penelitian ini memiliki jumlah koloni BAL yaitu sebesar $5,0 \times 10^7$ sampai $1,32 \times 10^7$ CFU/ml. Jumlah tersebut sesuai dengan jumlah Standar Nasional Indonesia (SNI) yaitu 10^7 CFU/ml.⁴⁴ Minuman probiotik *yoghurt* susu sapi yang telah sesuai dengan SNI tersebut sudah dapat digunakan untuk pengujian terhadap bakteri.

Bakteri yang diuji pada penelitian ini adalah *Porphyromonas gingivalis* yang

tersedia pada media *Blood Agar* dan kemudian dilakukan kultur ulang menggunakan goresan zig-zag pada media *Nutrient Agar*. Hasil kultur pada *Blood Agar* menunjukkan koloni *Porphyromonas gingivalis* berbentuk konveks, bulatan kecil, dan berwarna merah gelap pada bagian tengah. Hasil kultur *Porphyromonas gingivalis* yang ada pada media *Nutrient Agar* menunjukkan koloni berwarna putih kekuningan, halus, konveks, dan berdiameter 1-2mm. Hal tersebut dikarenakan pada media *Nutrient Agar* terdapat komposisi yang mengandung ekstrak daging sapi, pepton, dan agar. Pencampuran komposisi tersebut menyebabkan adanya warna coklat muda pada media dan menyebabkan warna pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* tampak berwarna putih kekuningan.^{36,38} Hal tersebut sesuai dengan penelitian Zayanti (2012) yang menunjukkan bahwa koloni *Porphyromonas gingivalis* berwarna putih kekuningan, dan berbentuk konveks.⁴⁵

Setelah dilakukan kultur *Porphyromonas gingivalis* selanjutnya dilakukan uji konfirmasi dengan pewarnaan Gram. Uji konfirmasi dengan pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui bahwa bakteri yang dikultur adalah *Porphyromonas gingivalis* yang tidak terkontaminasi dengan bakteri lain. Hasil dari uji perwarnaan Gram yang dilihat di bawah mikroskop cahaya menunjukkan bahwa *Porphyromonas gingivalis* berwarna merah muda, halus, dan berbentuk kokobasil. Terbentuknya warna merah muda pada *Porphyromonas gingivalis* dikarenakan pada dinding sel bakteri *Porphyromonas gingivalis* mengikat warna terakhir yang diberikan yaitu safranin. Pengikatan zat warna safranin terjadi karena lemak yang terdapat pada membran luar bakteri *Porphyromonas gingivalis* larut saat penetesan alkohol, sehingga terlepasnya kristal violet yang pertama diberikan. Kristal violet yang terlepas dari permukaan sel bakteri *Porphyromonas gingivalis* menyebabkan safranin yang berwarna merah dapat melekat pada permukaan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.³⁸ Hal tersebut sesuai dengan

Penelitian Mysak (2014) yang menyatakan bahwa setelah melakukan uji perwarnaan Gram bakteri *Porphyromonas gingivalis* berwarna merah muda, dan berbentuk kokobasil.⁴⁶

Setelah dilakukan pewarnaan Gram pada penelitian ini, untuk mengetahui bakteri yang digunakan tidak terkontaminasi oleh bakteri lain, selanjutnya dilakukan uji konsentrasi minuman probiotik *yoghurt* susu sapi untuk mengetahui ada atau tidaknya daya hambat terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini yaitu minuman probiotik *yoghurt* susu sapi dengan konsentrasi 2%, 3%, 4% dan 5% memiliki daya hambat terhadap *Porphyromonas gingivalis* dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran. Terbentuknya zona bening di sekitar sumuran dikarenakan minuman probiotik *yoghurtsusu* sapi memiliki kemampuan senyawa antibakteri seperti asam laktat, bakterisin, diasetil, dan hidrogen peroksida yang dapat menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Asam laktat memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri Gram-negatif, kemudian bakterisin yang dihasilkan dapat berperan sebagai bakterisidal terhadap bakteri.²² Hal tersebut sesuai dengan penelitian Fitriani (2014) yang menyatakan bahwa pada minuman probiotik *yoghurt* susu sapi memiliki senyawa-senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen.⁴⁷

Daya hambat minuman probiotik *yoghurt* susu sapi terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* pada penelitian ini didapat pada konsentrasi 4% dan 5%. Hasil interpretasi zona hambat dengan menggunakan klasifikasi Ahn menunjukkan bahwa minuman probiotik *yoghurt* susu sapi konsentrasi 4% terbentuk rata-rata zona hambat (14,6 mm) yang menandakan zona hambat lemah, sedangkan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi konsentrasi 5% terbentuk rata-rata zona hambat (19,2 mm) yang menandakan zona hambat sedang. Terbentuknya respons zona hambat lemah

pada minuman probiotik *yoghurt* susu sapi konsentrasi 4% jika dibandingkan dengan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi konsentrasi 5% diduga dapat dipengaruhi oleh sedikitnya laktosa yang dihasilkan oleh susu sapi yang digunakan pada pembuatan minuman probiotik *yoghurtsusu* sapi pada penelitian ini. Laktosa merupakan sebagai sumber energi yang digunakan BAL.⁴⁸ Kandungan laktosa yang rendah mengakibatkan laktosa yang difermentasi lebih sedikit sehingga senyawa antibakteri hasil metabolisme yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* juga dihasilkan lebih sedikit.^{17,48}

Pada minuman probiotik *yoghurt* susu sapi konsentrasi 5% yang menandakan repons zona hambat sedang pada penelitian ini diduga oleh adanya senyawa antibakteri yang cukup untuk menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dihasilkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* yang terdapat dalam minuman probiotik *yoghurt* susu sapi. Semakin bertambahnya starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* yang digunakan pada konsentrasi 5% maka semakin banyak senyawa antibakteri yang dihasilkan sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Singh dkk (2011) dan Koll dkk (2005) yang menyatakan bahwa kandungan *yoghurt Lactobacillus bulgaricus* memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.^{49,16} Berbeda halnya dengan konsentrasi minuman probiotik *yoghurt* susu sapi 2% dan 3%.

Pada minuman probiotik *yoghurt* susu sapi konsentrasi 2% (5,83 mm) dan 3% (7,17 mm) menunjukkan tidak adanya respons zona hambat terhadap *Porphyromonas gingivalis* menurut klasifikasi Ahn. Hasil uji LSD yang digunakan pada penelitian ini juga menunjukkan bahwa konsentrasi minuman probiotik *yoghurt* susu sapi 2%, dan 3%,

memiliki nilai $p < 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak adanya respons daya hambat terhadap *Porphyromonas gingivalis* diduga karena rendahnya senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada konsentrasi 2%, 3%, dibandingkan pada konsentrasi 4% dan 5%, sehingga senyawa antibakteri yang dihasilkan sulit untuk melawan pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

Pada klorheksidin 0,2% yang digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dengan katagori kuat (20,1mm) menurut klasifikasi Ahn. Hal tersebut disebabkan oleh senyawa antibakteri yang bersifat bakteriostatik dan bakterisidal pada klorheksidin 0,2% yang mampu merusak dinding sel bakteri dengan cara membentuk pori pada membran sel. Klorheksidin juga memiliki aktivitas sprektum luas terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif baik aerob maupun anaerob.⁵⁰ Penelitian Taheri (2012) menyatakan bahwa klorheksidin 0,2% dapat menghambat bakteri pada plak.⁵¹ Akuades yang digunakan sebagai kontrol negatif pada penelitian ini tidak menunjukkan adanya respons zona hambat bakteri karena akuades tidak memiliki senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan, *Porphyromonas gingivalis*.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian eksperimental yang telah dilakukan dapat di disimpulkan bahwa Daya hambat minuman probiotik *yoghurt* susu sapi terhadap *Porphyromonas gingivalis* berada pada konsentrasi 5% dengan rata-rata diameter zona hambat 19,2 mm dan termasuk kategori sedang menurut klasifikasi Ahn. Saran pada penelitian ini uji daya hambat minuman probiotik *yoghurt* susu sapi terhadap *Porphyromonas gingivalis* menggunakan konsentrasi 2%, 3%, 4%, dan 5%, diharapkan pada penelitian selanjutnya, dapat dilakukan penelitian menggunakan minuman probiotik *yoghurt* susu sapi dengan konsentrasi lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ginting N, Pasaribu E. Pengaruh temperatur dalam pembuatan *yoghurt* dari berbagai jenis susu dengan menggunakan *Lactobacillus Bulgaricus* dan *Streptococcus Thermophilus*. Jurnal Agribisnis Peternakan 2005;1(2):73-77.
2. Agustina W, Andriana Y. Karakteristik produk *yoghurt* susu nabati kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.). Balai Besar Pengembangan Teknologi Tepat Guna 2010.
3. Khikmah N. Uji antibakteri susu fermentasi komersial pada bakteri pathogen. Jurnal Penelitian Saintek 2015;20 (1):45-51.
4. Arista F. Efek *yoghurt* terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Universitas Indonesia, 2014. Skripsi.
5. Kusumawardani B, Pujiastuti P, Sari DS. Uji biokimiawi sistem api 20 a mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* isolat klinik dari plak subgingiva pasien periodontiti kronis. Jurnal PDGI 2010;59(3):110-114.
6. Utama DBS, Arina YMD, Amin MN. Pengaruh ekstrak daun pepaya terhadap jumlah sel limfosit pada gingiva tikus wistar jantan yang mengalami periodontitis. e-Jurnal Pustaka Kesehatan 2014;2(1):50-57.
7. Nitawati NPM, Robin DMC, Syafriadi M. Respon imun limfosit t sitotoksik pada gingivitis setelah pemberian kurkumin. e-Jurnal Pustaka Kesehatan 2014;2(1):42-49.
8. Suwandi T. Perawatan awal penutupan diastema gigi goyang pada penderita periodontitis kronis Dewasa. Jurnal PDGI 2010;59(3):105-109.
9. Habashnesh RA, Karashneh JA, Khader YS. Predominant microflora in chronic and generalized aggressive periodontitis in a Jordanian population. Dentistry 2014;4(2):1-6.
10. Nisa TD, Primartha R. Diagnosis penyakit gigi periodontal menggunakan sistem

- pakar fuzzy. Jurnal Generic 2010;10(10):10-13.
11. Putri MH, Herijulianti E, Nurjannah N. Ilmu Pencegahan Penyakit Jaringan Keras dan Jaringan Pendukung Gigi. Jakarta: EGC. 2013. p.105,150.
 12. Krismariono A. Antibiotika sistemik dalam perawatan penyakit periodontal. Periodontic Journal 2009;1(1):15-19.
 13. Majidah D, Fatmawati DWA, Gunadi A. Daya antibakteri ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai alternatif obat kumur. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa 2014.
 14. Sari DN. Perbedaan pengaruh antara probiotik a,b, dan c terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (kajian in vitro). Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2014. Naskah Publikasi.
 15. Zhu Y, Xiao L, Shen D, Hao Y. Competition between *yoghurt* probiotics and periodontal pathogens *in vitro*. Acta Odontologica Scandinavica 2010;68:261-268.
 16. Koll-Klais P, Mandar R, Leibur E. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health : species composition and antimicrobial activity. Oral Microbiol Immunol 2005;20:354-61.
 17. Susanti, Utami S. Pengaruh lama fermentasi terhadap kandungan protein susu kefir sebagai bahan penyusun petunjuk praktikum mata kuliah biokimia. Florea Volume 2014;1(1):41-46.
 18. Fatmawati U, Prasatyo FI, Utami AN. Karakteristik yogurt yang terbuat dari berbagai jenis susu dengan penambahan kultur campuran *Lactobacillus Bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Bioedukasi 2013;6(2):1-9.
 19. Jaya F, Kusumahadi D, Amertaningtyas D. Pembuatan minuman probiotik (*yoghurt*) dari proporsi susu sapi dan kedelai dengan isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak 2011;6(1):13-17.
 20. Sharma R, Bhaskar B, Sanodiya B.S. probiotic efficacy and potential of streptococcus thermophilus modulating human health: a synoptic review. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences 2014;9(1):52-58.
 21. Chotimah CS. Peranan streptococcus thermophilus dan *Lactobacillus bulgaricus* dalam proses pembuatan *yoghurt*. Jurnal Ilmu Peternakan 2009;4(2):47-52.
 22. Rachmawati I, Suranto, Setyaningsih R. Uji antibakteri bakteri asam laktat asal asinan sawi terhadap bakteri patogen. Bioteknologi 2005;2(2):43-48.
 23. Anonymous. *Porphyromonas gingivalis*. Wikipedia. http://en.citizendium.org/wiki/Porphyromonas_gingivalis. 21 Maret 2011.
 24. Prabhu P, Prabhu MN, Elumalai M. The role of antibiotics in treatment of chronic periodontitis. International Journal of Sciences and Research 2014;2(1):16-18.
 25. Wardhana MY, Mayangsari MA, Nur MR. Groel *Porphyromonas gingivalis* pada penderita periodontitis sebagai pemicu terbentuknya aterosklerosis. BIMKGI 2015;3(2):39-48.
 26. Khusnan, Salasia SIO. Respon neutrofil, adhesi pada sel epitel, aglutinasi eritrosit terhadap *Stapylococcus aureus*: kajian hidrofobitas in vitro. J.Sain 2006;24(1):102-109.
 27. Dumitrescu AL, Ohara M. Periodontal Microbiology. in: Dumitrescu AL. Etiology and Pathogenesis of Periodontal Diseases. 1st ed. Newyork: Springer.2010.
 28. Saptorini KK. Poket periodontal pada lanjut usia di Posyandu Lansia Kelurahan Wonosari Kota Semarang. FKM-UNSIL 2011.
 29. Hamrum N, Hatta M. Polimorfisme gen vitamin D receptor pada penderita periodontitis kronis. JST Kesehatan 2011;1(2):165-172.

30. Suhanda DJ, Pangemanan DHC, Juliantri. Gambaran kebutuhan perawatan periodontal pada perokok di Desa Matungkas Kecamatan Dimembe. *Jurnal e-GiGi (eG)* 2015;3(1):109-114.
31. Swastini GAAP. Kerusakan gigi merupakan fokal infeksi penyebab timbulnya penyakit sistemik. *Jurnal Kesehatan Gigi* 2013;1(1):63-68.
32. Daliemunthe S. Periodonsia. Universitas Sumatera Utara: Departemen Periodonsia, 2008;p.108-186.
33. Pejcic A, Kesic L, Obradovic R, Mikrovic D. Antibiotics in the management of periodontal disease. *Scientific Journal of the Faculty of Medicine in Nis* 2010;27(2):85-92.
34. http://www.smile-mag.com/art_files/periodontitis.pdf.
35. Al-Shamari KF, Neiva RF, Hill RW, Wang H-L. Surgical and non-surgical treatment of chronic periodontal disease. *International Chinese journal of Dentistry* 2002;15-32.
36. Sulfani M. Daya hambat ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara In Vitro. Unsyiah, 2014. Skripsi.
37. Rasyid KH. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebagai agen penyebab periodontitis agresif. Unsyiah, 2012. Skripsi.
38. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. Purwokerto: Lab Mikrobiologi Universitas Jendral Soedirman, 2008.
39. Dibiyanti P, Radiati LE, Rosyidi D. Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi kultur dan waktu inkubasi terhadap pH, kadar keasaman, viskositas dan sineresis set *yoghurt*. Universitas Brawijaya 2014.
40. El Bashiti AT. Production of *yoghurt* by locally isolated starters: *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus Bulgaricus*. *Journal Of Al Azhar University-Gaza* 2010;12(1):56-58.
41. Yani L, Roza RM, Martina A. Isolasi dan seleksi bakteri asam laktat dari *yoghurt* produksi industri rumah tangga di Pekanbaru yang bersifat antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Universitas Binawidya 2011.
42. Harmita dan Radji M. Analisis hayati. Ed. 3. Jakarta: EGC. 2008. p.7-8.
43. Alfath CR, Yulina V, Sunnati. Antibacterial effect of granati fructurs cortex extract on *Streptococcus mutans* : in vitro. *Journal Of Dentistry Indonesia* 2013;20(1):5-8.
44. Badan Standarisasi Nasional (BSN). Standar Nasional Indonesia (SNI): *Yoghurt*. Badan Standarisasi Nasional Jakarta 2009. SNI 2981:2009.
45. Zayanti V. Kemampuan *Porphyromonas gingivalis* mempengaruhi pertumbuhan *Candida albicans* dalam berbagai pH saliva buatan. Unsyiah 2012. Skripsi.
46. Mysak J, Podzimek S, Somerova P. *Porphyromonas gingivalis* : major periodontitopathic pathogen overview. *Journal of Immunology Research* 2014; 10: 1-8.
47. Fitriani D, Ibrahim M, Trimulyono G. Aktivitas antibakteri *yoghurt* susu sapi dan *yoghurt* susu kedelai terhadap *Shigella dysenteriae* secara in vitro. *Ejournal Unesa* 2014;3(1):2-13.
48. Kumalasari, Legowo AM, Al-Baari. Total bakteri asam laktat, kadar laktosa, ph, keasaman, kesukaan minuman yogurt dengan penambahan ekstrak buah kelengkeng. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2013;4(2):165-168
49. Singh T, Kukreja J B, Dodwad V. *Yoghurt* may take the bite out of gun disease. *The Probiotic Way. Indian J stomatol* 2011;2(4):249-50.
50. Balagopal S and Arjunker R. Chlorhexidine: the gold standar antiplaque agent. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2013;5(12):270-4.

51. Taheri M, Mokhtari MR, Forouzanfar A, Farazi F. Comparative study of 0,2% and 0,12% digluconate clorhexidine mount rinses on the level of dental staining and gingival idice. Dental Research Journal 2012;2(1):16-18.