

TULISAN PENDEK/SHORT COMMUNICATION

**Karakterisasi Dan Uji Antagonis *Lactobacillus plantarum* Dad-13 Sebagai probiotik Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*
[Characterization And Antagonist Test Of *Lactobacillus plantarum* Dad-13 As Probiotic Against *Escherichia coli* And *Staphylococcus aureus*]****Kadek Dwi Adi Mas Putrayana¹, Anak Agung Ayu Putri Permatasari², Ni Kadek Dwipayani Lestari³, & Ni Kadek Yunita Sari⁴**^{1,2,3,4}Program Studi Biologi Fakultas Kesehatan, Sains & Teknologi Universitas Dhyana Pura, Jalan Raya Padang Luwih Tegaljaya Dalung Kuta Utara, Bali, Indonesia Email:dwiadimasputrayana@gmail.com

Memasukkan: September 2022, Diterima: Januari 2023

ABSTRACT

Defecation disorder diarrhea (bowel movements) that lasts for 3 times in a day in a row. The administration of the probiotic *Lactobacillus plantarum* Dad-13 which is isolated from curd fermentation and can inhibit the growth of pathogenic bacteria. The purpose of this study was to determine the characteristics of probiotic bacteria indigenous powder *Lactobacillus plantarum* Dad-13 and the antagonist properties of bacteria against the growth of bacteria that cause diarrhea *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. This study used a Randomized Complete Design (RAL) with 3 treatments, namely 5 tests, a concentration treatment of 100% *Lactobacillus plantarum* Dad-13 powder, a positive control of metronidazole 500mg as a comparison and negative control of aquades using the Kirby-bauer method (*disk diffusion*) and characterization by conducting macroscopic tests with visual observations and microscopic tests by observation under a microscope. The results of this study showed that probiotic bacteria powder *Lactobacillus plantarum* Dad-13 have characteristics with a round colony shape, white color, gram-positive bacteria, stem colony shape or bacillus with negative catalase. Probiotic bacteria powder *Lactobacillus plantarum* Dad-13 is able to inhibit the growth of diarrhea-causing bacteria with an inhibitory diameter at 24 hours of 3 mm with a weak category and at a time of 48 hours of 7.6 mm with a moderate category in medium *Escherichia coli* bacteria in *Staphylococcus aureus* the diameter of the inhibitory power both at 24 and 48 hours is 3 mm with a weak category. And the results of the SPSS test version 25 for windows with the One way Anova test with a result of $p=0.00$ ($p<0.05$) and the duncan test with the results of each experiment showed the difference of each treatment with a test level value of 5%.

Keywords : diarrhea, probiotic *L.plantarum* Dad-13

ABSTRAK

Diare gangguan defekasi (buang air besar) yang berlangsung selama 3 kali dalam sehari berturut-turut. Pemberian probiotik *Lactobacillus plantarum* Dad-13 yang diisolasi dari fermentasi dadih dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui karakteristik bakteri probiotik powder *Lactobacillus plantarum* Dad-13 dan sifat antagonis bakteri terhadap pertumbuhan bakteri penyebab diare *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan yaitu 5 ulangan, perlakuan konsentrasi 100% powder *Lactobacillus plantarum* Dad-13, kontrol positif metronidazole 500mg sebagai pembanding dan kontrol negatif aquades dengan menggunakan metode Kirby-bauer (*disk diffusion*) dan karakterisasi dengan melakukan uji makroskopik dengan pengamatan secara visual dan uji mikroskopik dengan pengamatan dibawah mikroskop. Hasil penelitian ini menunjukkan bakteri probiotik powder *Lactobacillus plantarum* Dad-13 memiliki karakteristik dengan bentuk koloni bulat, berwarna putih, bakteri gram positif, bentuk koloni batang atau basil dengan katalase negatif. Bakteri probiotik powder *Lactobacillus plantarum* Dad-13 mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab diare dengan diameter daya hambat pada waktu 24 jam sebesar 3 mm dengan kategori lemah dan pada waktu 48 jam sebesar 7.6 mm dengan kategori sedang pada bakteri *Escherichia coli* sedangkan pada *Staphylococcus aureus* diameter daya hambat baik pada waktu 24 dan 48 jam sebesar 3 mm dengan kategori lemah. Dan hasil uji SPSS versi 25 for windows dengan uji One way Anova dengan hasil $p=0,00$ ($p<0,05$) dan Uji duncan dengan hasil setiap percobaan menunjukkan perbedaan dari masing-masing perlakuan dengan nilai taraf uji 5%.

Kata Kunci : diare, probiotik *L.plantarum* Dad-13

PENDAHULUAN

WHO (*World Health Organization*) tahun 2017 menyatakan bahwa diare menyebabkan 688 juta orang sakit dan 525.000 kematian di seluruh dunia pada anak-anak di bawah 5 tahun, serta 1.7 miliar kasus diare pada anak tiap tahunnya (WHO, 2017) Diare menjadi masalah kesehatan masyarakat di negara berkembang seperti di Indonesia, hal ini terjadi karena morbiditas dan mortalitasnya yang masih tinggi serta masih sering timbul dalam bentuk Kejadian Luar Biasa (KLB) (Kemenkes RI, 2018) Secara global jumlah kematian yang diakibatkan penyakit diare di Indonesia masih tergolong tinggi dan sangat mengkhawatirkan (Apriliana et al., 2018) Di Provinsi Bali angka kejadian diare berdasarkan data Badan Pusat Statistik Provinsi Bali tahun 2019-2020 sebesar 60.554 kasus terjadi pertahunnya. (BPSPB, 2021)

Diare disebabkan oleh virus sebesar 70% (*Rotavirus* dan *adenovirus*) dan bakteri *E.coli*, *Shigell sp.*, *Salmonella enteria* sebesar 8,4% (Kemenkes RI, 2019) Gejala yang disebabkan diare yaitu gelisah, suhu tubu meningkat, kejang, muntah dan nafsu makan berkurang serta dehidrasi. (Sulaiman Yusuf, 2011) Diagnosis diare perlu ditegakkan atas dasar keluhan yaitu BAB cair lebih dari 3 kali, perubahan konsistensi BAB, muntah, demam >38°C, dehidrasi, disentri, kejang dan imunokompresi. (Suhartina, 2021)

Penatalaksanaan kasus diare memiliki tujuan mengembalikan cairan yang hilang akibat diare. Kegagalan terapi pengobatan diare menyebabkan infeksi berulang atau gejala berulang dan menimbulkan resistensi (Anzani & Saftarina, 2019), Salah satu penanganan kasus diare yang sering dijumpai di masyarakat yaitu, kecenderungan pemberian antibiotik, Penggunaan antibiotik yang tidak rasional, dapat menimbulkan resistensi antibakteri, mikroba dan virus terhadap antibiotik dan membunuh flora normal yang dibutuhkan tubuh. (Rajagukguk et al. 2013)

Terapi probiotik bertujuan untuk meminimalisir penggunaan antibiotik, dimana probiotik dalam terapi diare dapat memelihara Kesehatan saluran pencernaan atau menghilangkan diare yang diberikan dalam jumlah adekuat (Shinta et al., 2016) Akan tetapi belum diketahui secara

pasti untuk jenis probiotik serta dosis yang tepat dalam penanganan terapi probiotik. Pemberian probiotik *Lactobacillus plantarum* Dad-13 juga dapat membantu proses absorpsi nutrisi dan menjaga gangguan dalam penyerapan air yang akan berpengaruh pada perbaikan konsistensi feses, menurunkan pH usus dengan memproduksi asam laktat sehingga akan menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Dewi et al., 2021) Karakterisasi dan fungsionalitas isolat-isolat bakteri asam laktat (BAL) mempunyai sifat fungsional meningkatkan kesehatan saluran pencernaan sehingga perlu dilakukan karakteristik untuk mengetahui kelayakan sebagai kandidat probiotik (Emmawati et al., 2015)

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai karakteristik dan uji antagonis bakteri probiotik (*Lactobacillus plantarum* Dad-13) terhadap pertumbuhan bakteri penyebab diare *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini menggunakan metode RAK (Rancangan Acak Lengkap) dengan 3 perlakuan yaitu 5 ulangan, perlakuan konsentrasi 100% powder *Lactobacillus plantarum* Dad-13, kontrol positif metronidazole 500mg dan kontrol negatif aquades sebagai pembanding dengan menggunakan metode *Kirby-bauer (disk diffusion)* dan karakteristik dengan melakukan uji makroskopik dengan pengamatan secara visual dan uji mikroskopik dengan pengamatan dibawah mikroskop.

HASIL

Karakterisasi Bakteri *Lactobacillus plantarum* Dad-3

Berdasarkan hasil penelitian uji makroskopik diketahui bahwa koloni bentuk koloni bulat, berwarna putih dan uji mikroskopik diketahui bahwa bakteri berbentuk batang gram positif dan hasil uji katalase *indigenus powder Lactobacillus plantarum* Dad-13 diperoleh hasil negatif terhadap katalase karena tidak menghasilkan gelembung gas disekitar preparat bakteri ketika ditetaskan larutan H₂O₂ 3% (hidrogen peroksida) dapat dilihat pada Tabel 1.

Uji Antagonis Bakteri *L.plantarum* Dad-13 Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Stahpylococcus aureus*

Berdasarkan uji statistik diketahui bahwa data berdistribusi homogen dengan nilai $p=0.796$ ($p>0.05$), uji normalitas *Escherichia coli* diketahui data berdistribusi normal dengan nilai $p=0.424$ inkubasi 24 dan 48 jam dengan nilai $p=0.843$ ($p>0.05$) dan pada uji normalitas *Staphylococcus aureus* data berdistribusi normal dengan nilai $p=0.281$ ($p>0,005$). Maka statistik SPSS dilanjutkan uji *One Way* Anova untuk melihat perbandingan rata-rata zona daya

hambat konsentrasi 100% probiotik *Lactobacillus plantarum* Dad-13 terhadap per-tumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis uji *One Way* Anova menunjukkan probiotik *indigenus powder Lactobacillus plantarum* Dad-13 signifikan menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai $p=0,00$ ($p<0,05$). Kemudian dilanjutkan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan yaitu perlakuan P1 kontrol (+) metronidazole 500mg, perlakuan P0 yaitu kontrol (-) aquades dan perlakuan P2 yaitu konsentrasi 100% probiotik *indigenus powder Lactobacillus plantarum* Dad-13 menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Berdasarkan hasil penelitian uji antagonis bakteri *Lactobacillus plantarum* Dad-13 terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode *disk paper* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Karakterisasi Makroskopik Dan Mikroskopik Pada Bakteri Probiotik *Powder Lactobacillus Plantarum* Dad-13

Uji	Pengamatan	Gambar
Makroskopis	Bentuk koloni bulat, berwarna putih	
	Tidak menghasilkan gelembung	
Mikroskopis	Bakteri berbentuk batang atau basil dan bakteri gram positif	

PEMBAHASAN

Karakterisasi Bakteri *Lactobacillus plantarum* Dad-3

Hasil penelitian karakterisasi makroskopik didapatkan hasil koloni berbentuk bulat, berwarna putih dan pada uji mikroskopik dengan uji pewarnaan gram, menunjukkan sel bakteri berwarna ungu setelah ditetesi dengan kristal violet, hal ini disebabkan bahwa bakteri dengan golongan asam laktat termasuk bakteri gram positif dengan bentuk batang dan pada uji

Tabel 2. Uji Antagonis Bakteri *Lactobacillus plantarum* Dad-13 Sebagai Probiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*

Bakteri Uji	Waktu Pengamatan	Perlakuan	Rata-Rata Zona hambat (mm)	Kategori
<i>Escherichia coli</i>	24 jam	P1 +	11,00±1,225 ^a	Kuat
		P0 -	0,00±0,000 ^b	Lemah
		P2 100%	3,00±0,000 ^c	Lemah
	48 jam	P1 +	13,40±0,894 ^a	Kuat
		P0 -	0,00±0,00 ^b	Lemah
		P2 100%	7,60±0,837 ^c	Sedang
<i>Staphylococcus aureus</i>	24 jam	P1 +	18,8±0,447 ^a	Kuat
		P0 -	0,00±0,000 ^b	Lemah
		P2 100%	3,00±0,000 ^c	Lemah
	48 jam	P1 +	19,0±0,000 ^a	Kuat
		P0 -	0,00±0,000 ^b	Lemah

katalase didapatkan hasil negatif dapat di lihat pada tabel 1. bahwa *Lactobacillus plantarum* memiliki ciri-ciri koloni kecil, warna putih susu, bulat, dan tepi rata (Nur et al., 2015) Hal ini sejalan dengan penelitian Holt (2000) yang mengemukakan bakteri gram positif memiliki dinding sel dengan peptidoglikan lebih tebal sehingga penyerapan cat kristal violet terserap dalam sel dan akan bertahan, bakteri asam laktat memiliki karakteristik gram positif, berbentuk batang, dengan uji katalase negatif (Detha et al., 2019) Hasil penelitian yang sama juga dikemukakan Sari dkk. Bahwa BAL mempunyai ciri-ciri gram positif, koloni berbentuk batang dengan katalase negatif yang tidak menghasilkan gelembung gas. Selain itu bakteri asam laktat termasuk masuk bakteri anaerob yang tidak tumbuh tanpa adanya oksigen, koloni berbentuk batang, dan tidak dapat memecah H_2O_2 3% dan tidak dapat menghasilkan enzim katalase.

Uji Antagonis Bakteri *L.plantarum* Dad-13 Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Hasil uji antagonis bakteri *powder Lactobacillus plantarum* Dad-13 terhadap bakteri *Escherichia coli* menghasilkan zona hambat sebesar 3 mm pada inkubasi 24 jam dan 7.6 mm pada inkubasi 48 jam sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat sebesar 3 mm pada inkubasi 24 dan 48 jam. Hasil yang berbeda-beda ini disebabkan aktivitas bakteri asam laktat dalam menghasilkan bakteriosin dipengaruhi oleh nutrisi dalam media dan waktu inkubasi. Hal ini sejalan dengan penelitian Sari et al., (2016) menyatakan bahwa dengan melakukan optimasi waktu produksi bakteriosin dapat memperbesar zona hambat terhadap bakteri patogen *S.aureus* dan *E.coli*. Waktu inkubasi optimum adalah waktu senyawa antimikroba bakteriosin diproduksi optimal dengan besarnya zona hambat yang terbentuk pada bakteri patogen (Khoiriyah & Ardinarsih, 2014). Aktivitas bakteriosin akan mengalami fase optimum pada 24 jam hingga fase ke 36 jam dengan waktu produksi optimum bakteriosin pada waktu ke 28 jam dan 36 jam aktivitas bakteriosin akan menuju pada fase kematian sehingga aktivitas antibakteri pada

waktu 37 dan 48 jam tidak akan terbentuknya zona hambat (Prissilia et al., 2019).

KESIMPULAN

Probiotik *Lactobacillus plantarum* Dad-13 mempunyai karakteristik secara makroskopik yaitu koloni berbentuk bulat berwarna putih, dan secara mikroskopik bakteri bersifat gram-positif, batang dengan katalase negatif. Probiotik *Lactobacillus plantarum* Dad-13 efektif menghambat perkembangan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara sig. dengan nilai $p=0,00$ ($p<0,05$) dengan diameter daya hambat pada waktu inkubasi 24 jam yaitu 3 mm dengan kategori lemah dan waktu 48 jam yaitu 7,6 mm dengan kategori sedang sedangkan pada *Staphylococcus aureus* dapat menghambat namun belum signifikan seperti *E. coli* baik waktu inkubasi 24 dan 48 jam yaitu 3 mm dengan kategori lemah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Universitas Dhyana Pura Bali, Khususnya Program Studi Biologi yang telah memberikan izin untuk melaksanakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Anzani, B. P., & Saftarina, F. (2019). Penatalaksanaan Diare pada Anak Usia 2 Tahun dengan Pendekatan Kedokteran Keluarga. *Majority*, 8(2), 24–31.
- Aprilia, E., Ramadhian, M. R., Warganegara, E., & Hasibuan, A. (2018). Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara In Vitro Comparison of in vitro inhibitory effect of *Jatropha curcas* Linn extract on the growth of *St. Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, 5, 556–561.
- BPSPB. (2021). Jumlah Kasus Penyakit Menurut Jenis Penyakit Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Bali, 2019-2020 Jumlah Kasus Penyakit Menurut Jenis Penyakit

- Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Bali, 2020 Number of Jumlah Kasus Penyakit Menurut Jenis Penyakit.
- Detha, A., FU. Datta, E. Beribe, N. Foeh, & N. Ndaong. 2019. Karakteristik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Susu Kuda Sumba (Characteristics of Lactic Acid Bacteria from Sumba Mares Milk). *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1), 85–92. <https://doi.org/10.35508/jkv.v7i1.08>
- Dewi, R., UE. Siregar, O. Aristantia, S. Harapan, I. Jambi, P. Baru, I. Jambi, & P. Korespondensi. 2021. Evaluasi Penggunaan Kombinasi Zink dan Probiotik pada Penanggulangan Pasien Diare Anak Di Instalasi Rawat Inap RSUD H. Abdul Manap Jambi Tahun 2020.
- Emmawati, A., B. Sri, JL. Suryaatmadja, L. Nuraida, & D. Syah. 2015. Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Mandai Yang Berpotensi Sebagai Probiotik Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolates from Mandai Function as Probiotic.
- Holt, J. G., K. N. R., S. P. H. A., S. J. T. and W. S. T. (2000). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. *Scientific Research*, 786–788.
- Kemenkes RI. 2018. Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. Kementrian Kesehatan RI. 53 (9), 1689–1699.
- Kemenkes RI. 2019. Profil Kesehatan Indonesia 2018 [Indonesia Health Profile 2018].
- Khoiriyah, H., & Ardiningsih, P. (2014). Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus sp.* *RED* 4. 3(4), 52–56.
- Nur, F., A. Wahdiniar, & U. Alauddin. 2015. Isolasi Bakteri Asam Laktat Berpotensi Probiotik Pada Dangke, Makanan Tradisional dari Susu Kerbau di Curio Kabupaten Enrekang. *Jurnal Biologi Sains dan Teknologi*. 3(1).
- Prissilia, N., R. Sari, & P. Apridamayanti. 2019. Penentuan Waktu Optimum Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus plantarum* Terhadap Bakteri Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- Rajagukguk, S., C. Manoppo, & M. Mantik. 2013. Pengaruh Pemberian Probiotik Dan Sinbiotik Pada Anak Dengan Diare Akut Di Rsup Prof. Dr.R.D Kandou Manado. *Jurnal E-Biomedik*, 1(1), 587–591. <https://doi.org/10.35790/ebm.1.1.2013.4603>
- Sari, R., L. Deslianri, & P. Apridamayanti 2016. Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari Minuman Ce Hun Tiau. *Pharm Sci Res*.
- Shinta, K., H. Hartantyo, & N. Wijayahadi 2016. Pengaruh Probiotik pada Diare Akut: Penelitian dengan 3 Preparat Probiotik. *Sari Pediatri*, 13(2), 89. <https://doi.org/10.14238/sp13.2.2011.89-95>
- Suhartina 2021. Gambaran diagnostic dan Penatalaksanaan Diare akut pada Bali-tayang dirawat Inap di RSU Royal Prima Medan. *Prima Medical Journal: Artikel Penelitian* 4(1).
- Sulaiman, Y. 2011. Profil Diare di Ruang Rawat Inap Anak. *Sari Pediatri*. 13(4), 265–270.
- WHO. 2017. *Penyakit Diare*. 1–4.

