

## DAYA ANTIBAKTERI FILTRAT ASAM LAKTAT DAN BAKTERIOSIN *Lactobacillus bulgaricus* DALAM SOYGURT TERHADAP PERTUMBUHAN *Klebsiella pneumoniae*

Fauziah, P.N<sup>1</sup>., Nurhajati, J. dan Chrysanti<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Prodi Analisis Kesehatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Jenderal Achmad Yani

<sup>2</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

<sup>3</sup>Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Padjadjaran

E-mail: primanandafauziah@analisis-ayani.ac.id

### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini mendapatkan perlakuan terbaik antara konsentrasi filtrat asam laktat dan bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt terhadap nilai minimum inhibitory concentration (MIC) dan daerah hambat pertumbuhan berbagai strain *K. pneumoniae*. Hasil penelitian tahap pertama menunjukkan bahwa konsentrasi 20% filtrat asam laktat dan 50% filtrat bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt bersifat bakterisidal terhadap berbagai strain *K. pneumoniae*. Tahap kedua memperlihatkan bahwa konsentrasi 90% filtrat asam laktat dan bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt menunjukkan daerah hambat terbesar terhadap berbagai strain *K. pneumoniae* dibandingkan konsentrasi 80% dan 70%. Hasil analisis sidik ragam dilanjutkan dengan uji Duncan's multiple range test (DMRT) menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi terbesar terhadap daerah hambat *K. pneumoniae* diperoleh pada perlakuan konsentrasi 90% asam laktat *L. bulgaricus* dalam soygurt, sedangkan daerah hambat terbesar diperoleh *K. pneumoniae* strain S941 pada konsentrasi 90% asam laktat dalam soygurt sebesar 15,3 mm.

**Kata kunci:** Asam laktat, bakteriosin, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus bulgaricus*, soygurt

### ABSTRACT

This research was aimed to get the best treatment between concentration of lactic acid filtrate and bacteriocins of *L. bulgaricus* in soygurt toward minimum inhibitory concentration (MIC) value and growth inhibition zones of *K. pneumoniae* strains. Result of the first research showed that the concentration 20% of lactic acid and 50% of bacteriocins of *L. bulgaricus* in soygurt had the character of bactericidal against the growth of *K. pneumoniae* strains. Second phases showed that the 90% concentration of lactic acid and bacteriocins of *L. bulgaricus* in soygurt showed the greatest of growth inhibition zones of *K. pneumoniae* strains than 80% and 70% concentration. Results of ANOVA followed by Duncan's multiple range test (DMRT) showed that the greatest concentration effect of *L. bulgaricus* in soygurt toward inhibition zones of *K. pneumoniae* strains obtained concentration treatment 90% of lactic acid in soygurt, whereas the greatest of inhibition zones obtained *K. pneumoniae* S941 in concentration 90% of lactic acid in soygurt amounting 15.3 mm.

**Key words:** Lactic acid, bacteriocins, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus bulgaricus*, soygurt

### PENDAHULUAN

Probiotik merupakan mikroba hidup yang jika dikonsumsi akan menimbulkan efek terapeutik dan manfaat kesehatan bagi penjamu (Kaboosi, 2011). Agen antibakteri seperti asam laktat dan bakteriosin yang dimiliki bakteri probiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Fauziah dkk., 2012). Hal ini dikarenakan agen antibakteri mampu menurunkan pH menjadi rendah sehingga bakteri patogen sulit bertahan hidup (Tambekar and Bhutada, 2010). Nutrisi probiotik juga mampu memperbaiki toleransi terhadap laktosa dan kecemasan produk susu, misalnya probiotik pada soygurt (Lovita et al., 2013).

Salah satu bakteri probiotik yang paling umum digunakan adalah bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang merupakan salah satu bakteri probiotik dari genus *Lactobacillus* yang telah lolos uji klinis dan mampu menyekresikan enzim yang dapat mengatasi intoleransi terhadap laktosa, menormalkan komposisi bakteri saluran pencernaan yang terbunuh akibat konsumsi antibiotik, dan menghasilkan agen anti bakteri yang mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Johnston et al., 2012).

Menurut Kartasasmita dalam Buletin Jendela Epidemiologi (2010), pneumonia merupakan penyakit penyebab kematian kedua tertinggi setelah diare di antara balita. Bakteri merupakan penyebab tersering dari pneumonia (90%), sedangkan jamur, protozoa dan virus merupakan penyebab yang tidak lazim. Bakteri yang diketahui dapat menyebabkan pneumonia, yaitu *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus* sp., dan *Klebsiella pneumoniae* (Alsagaff and Mukty, 2005).

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri yang paling penting karena merupakan penyebab pneumonia terbesar pada bayi dan orang dewasa yang diperoleh dari infeksi rumah sakit. Hal ini terbukti dengan sekitar 93% bayi dan orang dewasa terkena pneumonia akibat infeksi *K. pneumoniae* (Rudan et al., 2008).

Penggunaan antibiotik yang dahulu efektif mengobati penyakit seperti pneumonia kini justru menimbulkan efek samping berupa terbunuhnya mikroflora dalam usus yang berperan dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Selain itu, antibiotik diketahui dapat menimbulkan sifat resistensi terhadap bakteri penyebab penyakit infeksi (Khalili et al., 2012; Seth et al., 2012). Oleh sebab itu dibutuhkan salah satu alternatif lain yaitu dengan pemberian probiotik. Penggunaan bakteri probiotik belum memasyarakat dikarenakan masih banyak yang belum memahami penggunaan kultur bakteri flora normal yang dapat

bersifat penghalang bagi bakteri patogen (Sanchez *et al.*, 2013).

Penelitian ke arah pembuktian pencegahan atau manfaat terapeutik probiotik terhadap berbagai strain *K. pneumoniae* sebagai bakteri uji serta penelitian mengenai *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan efektivitas filtrat *L. bulgaricus* terhadap besar daerah hambat pertumbuhan berbagai strain *K. pneumoniae* belum banyak terungkap. Dengan demikian pengujian daya antibakteri filtrat asam laktat dan bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt terhadap pertumbuhan berbagai strain *K. pneumoniae* perlu dilakukan untuk mengurangi meledaknya bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Di samping itu, penggunaan probiotik dalam soygurt merupakan upaya untuk memperoleh langkah terbaik dalam mendapatkan metode pencegahan infeksi bakteri yang aman.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan (RSP) Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran pada bulan September 2012 yang terdiri dari dua tahap penelitian, yaitu tahap pertama menguji MIC filtrat asam laktat dan bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt terhadap pertumbuhan berbagai strain *K. pneumoniae* menggunakan metode agar tuang (*pour plate*), sedangkan tahap kedua menguji efektivitas filtrat asam laktat dan bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt terhadap besar daerah hambat pertumbuhan berbagai strain *K. pneumoniae* menggunakan metode difusi agar (kertas cakram).

Kultur bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *L. bulgaricus* KS1 yang diperoleh dari hasil isolasi *Yoghurt King Plain* dan bakteri *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, CT1538 dan S941 yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Bakteri *L. bulgaricus* ditumbuhkan pada media *the Man Rogosa Sharpe* (MRS) Agar (OXOID CM0361) yang telah ditambahkan dengan 5% CaCO<sub>3</sub> dan bakteri *K. pneumoniae* ditumbuhkan pada *Mac Conkey Agar* (MCA) (OXOID CM0007).

Pembuatan susu kedelai diawali dengan menyortir kacang kedelai kuning varietas lokal (GIANT) hingga mencapai 300 g dan dicuci sampai bersih kemudian direndam dalam air panas 5 L untuk menghilangkan bau dan rasa langu pada kedelai, serta untuk memudahkan pengupasan kulit kedelai. Agar bebas antitripsin, ke dalam 5L air panas tersebut ditambahkan NaHCO<sub>3</sub> (KOEPOE-KOEPOE) dengan konsentrasi 0.25-0.5% dan direndam selama 12-24 jam. Biji kedelai kemudian dicuci hingga air bekas rendaman tidak terlihat keruh, ditiriskan, dan kulit biji dikupas. Biji kedelai yang telah dikupas lalu dihancurkan dengan menggunakan blender dan ditambahkan air panas (80°C-100°C) sebanyak 2,5 L selama 7 menit hingga menjadi bubur kedelai. Bubur kedelai yang diperoleh disaring dengan

menggunakan kain saring sehingga diperoleh susu kedelai mentah kemudian ditambahkan 125 g gula pasir dan disterilisasi menggunakan autoklaf vertikal dengan uap bertekanan tinggi, bertemperatur 121°C dan tekanan 1 atm (15 lbs) selama 10 menit (Fauziah dkk., 2012).

Soygurt dibuat dengan menggunakan medium susu kedelai dan menggunakan kultur murni *L. bulgaricus* yang telah dipersiapkan dalam medium MRS Agar miring. Sebanyak dua ose kultur *L. bulgaricus* diinokulasikan dalam medium susu kedelai sebanyak 100 mL. Medium kultur diinkubasi dengan *shaker bath incubator* selama 24 jam pada temperatur 37-40°C dengan kecepatan 125 rpm (Nurhajati *et al.*, 2012).

Filtrat asam laktat probiotik *L. bulgaricus* KS1 diperoleh dengan cara menyentrifugasi bakteri *L. bulgaricus* KS1 yang telah aktif dalam soygurt dengan kecepatan 6.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit untuk memisahkan sel dengan filtratnya (*supernatan*). Filtrat yang diperoleh disterilkan dengan filter milipore 0,22 µm, kemudian filtrat di dalam tabung dipapar di bawah sinar UV dengan jarak 40 cm selama 40 menit (Vidya and Iyer, 2010). Selain itu, filtrat bakteriosin probiotik *L. bulgaricus* KS1 diperoleh dengan cara menyentrifugasi bakteri yang telah aktif dalam soygurt dengan kecepatan 6.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit untuk memisahkan sel dengan filtratnya, selanjutnya dinetralisasi dengan NaOH 2N dan disterilkan dengan filter Millipore 0,22 µm (Ogunbanwo *et al.*, 2003).

Pada pengujian MIC dilakukan beberapa prosedur, yaitu isolat bakteri yang telah diremajakan pada medium MCA, diaktifkan pada *brain heart infusion* (BHI) broth (OXOID CM1135). Satu ose isolat bakteri *K. pneumoniae* disuspensikan ke dalam tabung sentrifugasi yang berisi NaCl fisiologis 0,9% dan disentrifugasi sebanyak dua kali. *Supernatan* dibuang dan dipindahkan ke dalam tabung yang berisi NaCl fisiologis 0,9% serta dihomogenkan. Tahap selanjutnya kekeruhan disetarakan dengan *Mc Farland 1* (3x10<sup>8</sup> CFU/mL) (Vieira *et al.*, 2012). Sebanyak 1 mL suspensi bakteri ditambahkan ke dalam filtrat asam laktat atau bakteriosin *L. bulgaricus* pada MRS broth untuk setiap konsentrasi, yaitu NaCl (kontrol 1), 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Suspensi diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C, kemudian hasil inkubasi diambil 1 ose dan digoreskan pada medium MCA dan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. Pengamatan dilakukan dengan melihat pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* pada medium MCA di dalam cawan petri (Maldonado, *et al.*, 2007).

Setelah pengujian MIC, dilakukan uji efektivitas filtrat *L. bulgaricus* menggunakan metode difusi agar (kertas cakram). Koloni bakteri uji *K. pneumoniae* yang telah diremajakan pada MCA diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam 9 mL BHI broth dan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C (Vieira dkk., 2012). Satu mL suspensi bakteri pada BHI broth disuspensikan sebanyak dua kali ke dalam

10 mL *bulyon* gula tebu dan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi *Mueller Hinton Agar* (OXOID CM0337) kemudian dihomogenkan. Sisa cairan suspensi yang berlebih dibuang ke dalam cairan desinfektan, kemudian kertas cakram yang telah direndam di dalam berbagai konsentrasi filtrat asam laktat atau bakteriosin hasil pengujian MIC (70%, 80%, 90%) diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. Pengamatan dilakukan dengan mengukur besar daerah hambat pertumbuhan yang terbentuk disekitar kertas cakram setelah masa inkubasi. Pengukuran diameter zona hambat ini dilakukan sesuai dengan standar pengukuran daerah hambat yang ditetapkan *National Committee for Clinical Laboratory Standarts* (NCCLS). Data hasil MIC dianalisis secara deskriptif. Data hasil efektivitas filtrat dianalisis secara statistika dengan sidik ragam dan dilanjutkan *Duncan's multiple range test* (DMRT) jika berbeda nyata ( $p < 0,01$ ).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil penelitian MIC dengan teknik agar tuang (*pour plate*) *Mueller Hinton* memperlihatkan bahwa filtrat asam laktat *L. bulgaricus* KS1 dalam soygurt pada konsentrasi 20% dapat menghambat pertumbuhan *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, CT1538, dan S941 (Tabel 1). Ini terlihat dengan tidak adanya pertumbuhan *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, CT1538 dan S941 pada medium *Mac Conkey Agar* (MCA) setelah diinkubasi selama 24 jam.

Tabel 2 Hasil analisis DMRT pengaruh konsentrasi filtrat asam laktat *L. bulgaricus* dalam Soygurt terhadap besar daerah hambat pertumbuhan *K. pneumoniae*

Perlakuan (%)	Diameter daerah hambat pertumbuhan <i>K. pneumoniae</i>		Notasi
	Rata-rata (mm)	Selisih antar Rata-rata	
70	13,056		a
80	14,667	1,611	b
90	15,667	2,611	1,000 c

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang tidak sama berbeda nyata menurut Uji DMRT taraf 1%

Hasil penelitian dengan teknik difusi agar (kertas cakram) memperlihatkan filtrat asam laktat *L. bulgaricus* KS1 dalam soygurt pada konsentrasi 90%

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi filtrat asam laktat *L. bulgaricus* KS1 dalam soygurt terhadap pertumbuhan strain *K. pneumoniae*

Bakteri Patogen	Strain	Ulangan	sk	Konsentrasi Filtrat Asam Laktat <i>L. bulgaricus</i> dalam soygurt (%)											
				c <sub>10</sub>	c <sub>20</sub>	c <sub>30</sub>	c <sub>40</sub>	c <sub>50</sub>	c <sub>60</sub>	c <sub>70</sub>	c <sub>80</sub>	c <sub>90</sub>	c <sub>100</sub>		
<i>K. pneumoniae</i>	ATCC	1x	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		2x	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	CT 1538	1x	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		2x	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	S 941	1x	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		2x	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

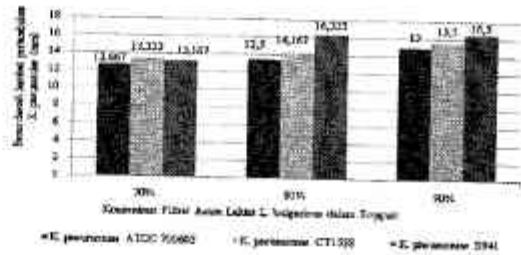
Keterangan: +: Pertumbuhan *K. Pneumoniae*; -: Tidak ada pertumbuhan *K. Pneumoniae*; c: Konsentrasi; sk: susu kedelai/soygnik (kontrol)

memberikan rata-rata diameter daerah hambat terbesar 16,5 mm untuk *K. pneumoniae* strain S941 (Gambar 1). Pada konsentrasi 70% dan 80% rata-rata diameter daerah hambat terbesar di sekeliling kertas cakram adalah 13,333 mm untuk *K. pneumoniae* strain CT1538 dan 16,333 mm untuk *K. pneumoniae* strain S941.

Hasil uji analisis varians untuk konsentrasi menunjukkan bahwa nilai  $p=0,000$  lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga konsentrasi yaitu 70%, 80% dan 90% dan ketiga strain *K. pneumoniae* yaitu ATCC 700603, CT1538 dan S941 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata. Hasil uji varians ini kemudian dilanjutkan dengan DMRT yang memperlihatkan konsentrasi 90% filtrat asam laktat *L. bulgaricus* KS1 dalam soygurt berbeda sangat nyata dibandingkan konsentrasi 70% dan 80% (Tabel 2), sedangkan daerah hambat terbesar diperoleh oleh *K. pneumoniae* strain S941 (Tabel 3).

Filtrat asam laktat *L. bulgaricus* dalam soygurt bersifat mematikkan atau bakterisidal pada konsentrasi 20-100% dan bersifat menghambat atau bakteristatik pada konsentrasi 10% terhadap *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, CT1538, dan S941. Hal tersebut menunjukkan bahwa sensitivitas *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, CT1538, dan S941 sama terhadap filtrat asam laktat *L. bulgaricus* dalam soygurt (Tabel 1).

Semua konsentrasi filtrat asam laktat menghasilkan besar daerah hambat pertumbuhan yang berbeda pada setiap strain bakteri *K. pneumoniae*. Daerah hambat terbesar dihasilkan oleh *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, yaitu sebesar 15,333 mm pada konsentrasi filtrat asam laktat sebesar 90%, disusul oleh strain S941 sebesar 14,7 mm dan strain CT1538 sebesar 14,667 mm pada konsentrasi filtrat asam laktat yang sama (Gambar 1).



Gambar 1. Efektivitas filtrat asam laktat *L. bulgaricus* dalam soygurt terhadap besar daerah hambat pertumbuhan berbagai strain *K. pneumoniae*

Perlakuan berbagai konsentrasi filtrat asam laktat *L. bulgaricus* dalam soygurt (70%, 80%, 90%) dan berbagai strain *K. pneumoniae* memberikan pengaruh terhadap peningkatan besar daerah hambat dan menunjukkan perbedaan yang nyata dengan daerah hambat terbesar yaitu 15,667 mm pada konsentrasi filtrat asam laktat sebesar 90% (Tabel 2) dan 15,333 mm pada *K. pneumoniae* strain S941 (Tabel 3). Notasi pada Tabel 2 dan 3 menunjukkan besarnya nilai selisih antara setiap perlakuan, semakin besar selisihnya, maka notasi yang diberikan akan semakin besar. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi filtrat asam laktat *L. bulgaricus*, maka semakin besar pula diameter daerah hambat pertumbuhan *K. pneumoniae* yang terbentuk.

Tabel 3. Hasil analisis DMRT pengaruh strain *K. pneumoniae* terhadap besar daerah hambat pertumbuhan *K. pneumoniae* pada konsentrasi asam laktat *L. bulgaricus* dalam soygurt 90%

Perlakuan Strain	Diameter daerah hambat pertumbuhan <i>K. pneumoniae</i>		Notasi
	Rata-rata (mm)	Selisih antar Rata-rata	
ATCC 700603	13,722		a
CT1538	14,333	0,611	a
S941	15,333	1,611	b

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang tidak sama berbeda nyata menurut Uji DMRT taraf 1%

Probiotik merupakan bakteri asam laktat seperti *L. bulgaricus* umumnya akan memecah glukosa untuk menghasilkan asam laktat. Hal ini menyebabkan pH media menjadi rendah (< 4,5), sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Nurhajati *et al.*, 2012).

Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri probiotik akan berdifusi ke dalam sel mikroba patogen, kemudian sel bakteri patogen tersebut akan terdisosiasi sehingga mengganggu sistem transportasi nutrisi. Peristiwa terdisosiasinya sel bakteri patogen mengakibatkan sel membentuk proton dan anion, sehingga keberadaan proton tersebut mengganggu keseimbangan dalam pengangkutan nutrisi pada sel bakteri patogen. Oleh sebab itu, bakteri akan berusaha mengeluarkan proton tersebut dari dalam sel. Proses pengeluaran proton ini membutuhkan energi yang tinggi dan mengakibatkan bakteri patogen mati karena kehabisan energy (Kumar *et al.*, 2012). Selain itu, asam laktat yang dihasilkan dalam proses fermentasi mampu menurunkan pH dan keadaan ini akan mengganggu aktivitas enzim sehingga sel bakteri patogen tidak dapat melakukan aktivitas metabolisme (Ray and Bhunia, 2008).

Menurut Ligocka dan Paluszak (2005), susunan biokimia dari asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) memiliki kemampuan yang berbeda dalam memberikan efek antagonis terhadap bakteri patogen. Perlakuan dengan menggunakan *K.*

*pneumoniae* strain S941 menunjukkan perbedaan yang nyata, yaitu dengan membentuk daerah hambat pertumbuhan terbesar dibandingkan pada *K. pneumoniae* strain ATCC 700603 dan CT1538. Hal ini terjadi karena aktivitas senyawa antimikroba filtrat asam laktat *L. bulgaricus* memberikan pengaruh yang berbeda terhadap bakteri patogen dan dapat bersifat bakteriostatik atau bakterisidal, bergantung dari jenis, karakteristik, dan strain bakteri patogen.

Hasil penelitian MIC dengan teknik agar tuang (*pour plate*) Mueller Hinton memperlihatkan bahwa filtrat bakteriosin *L. bulgaricus* KS1 pada konsentrasi 50% dapat menghambat pertumbuhan *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, CT1538, dan S941 (Tabel 4). Ini terlihat dengan tidak adanya pertumbuhan *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, CT1538 dan S941 pada medium MCA setelah diinkubasi selama 24 jam.

Hasil penelitian dengan teknik difusi agar (kertas cakram) memperlihatkan filtrat bakteriosin *L. bulgaricus* KS1 pada konsentrasi 90% memberikan rata-rata diameter daerah hambat terbesar 15 mm pada *K. pneumoniae* strain ATCC 700603 (Gambar 2). Pada konsentrasi 70% dan 80% rata-rata diameter daerah hambat terbesar di sekeliling kertas cakram adalah 13 mm dan 14,167 mm pada *K. pneumoniae* strain ATCC 700603.

Filtrat bakteriosin *L. bulgaricus* bersifat mematikan atau bakterisidal pada konsentrasi 50-100% dan bersifat menghambat atau bakteriostatik pada konsentrasi 10-40% terhadap *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, CT1538, dan S941. Hal tersebut menunjukkan bahwa sensitivitas *K. pneumoniae* strain ATCC 700603, CT1538 dan S941 sama terhadap filtrat bakteriosin *L. bulgaricus* (Tabel 4).

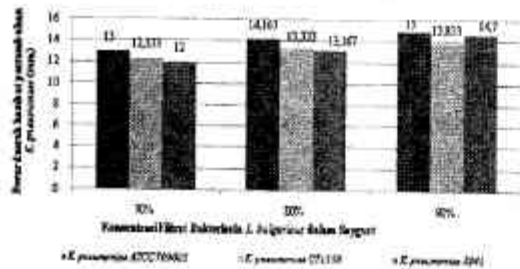
Semua konsentrasi filtrat bakteriosin membentuk daerah hambat dengan besar diameter yang berbeda pada setiap strain bakteri *K. pneumoniae*. Daerah hambat terbesar dihasilkan oleh *K. pneumoniae* strain ATCC 700603 yaitu 15 mm pada konsentrasi 90%, disusul oleh strain S941 sebesar 14,7 mm dan terakhir strain CT1538 sebesar 13,833 mm pada konsentrasi yang sama (Gambar 2).

Bakteriosin merupakan senyawa protein yang diekskresikan oleh bakteri probiotik yang bersifat anti mikroba yang mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen. Perbedaan besar daerah hambat pertumbuhan yang dibentuk pada setiap bakteri disebabkan perbedaan aktivitas hambat yang dipengaruhi oleh jenis dinding sel bakteri yang dihambat. Hal ini berpengaruh terhadap ketahanan suatu bakteri terhadap zat antimikroba karena perbedaan struktur dinding selnya. Aktivitas produksi bakteriosin oleh bakteri probiotik dipengaruhi oleh faktor pH, suhu, sumber karbon, serta fase pertumbuhan. Jenis sumber karbon dan nitrogen yang digunakan dalam medium produksi mempengaruhi laju pertumbuhan sel bakteri probiotik, yang selanjutnya berpengaruh terhadap metabolisme produksi bakteriosin. Selain itu, tingkat salinitas medium produksi seperti kandungan garam dari media juga memengaruhi metabolisme produksi bakteriosin. Aplikasi bakteriosin sebagai biopreservatif pada bahan pangan tidak mengubah rasa

Tabel 4. Pengaruh Konsentrasi Filtrat Bakteriosin *L. bulgaricus* dalam Soygurt terhadap Pertumbuhan Strain *K. pneumoniae*

Bakteri Patogen	Strain	Ulangan	Konsentrasi Filtrat Bakteriosin <i>L. bulgaricus</i> dalam Soygurt (%)											
			sk	c <sub>10</sub>	c <sub>20</sub>	c <sub>30</sub>	c <sub>40</sub>	c <sub>50</sub>	c <sub>60</sub>	c <sub>70</sub>	c <sub>80</sub>	c <sub>90</sub>	c <sub>100</sub>	
<i>K. pneumoniae</i>	ATCC	1x	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		2x	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
	CT 1538	1x	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
		2x	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
	S 941	1x	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
		2x	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	

Keterangan: +; Pertumbuhan *K. pneumoniae*; -; Tidak ada pertumbuhan *K. pneumoniae*; c: Konsentrasi; sk: susu kedelai/soymilk (kontrol)



Gambar 2. Efektivitas filtrat bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt terhadap besar daerah hambat pertumbuhan berbagai strain *K. pneumoniae*

dan tekstur tetapi dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen (Usmiati dkk., 2009).

Target utama bakteriosin adalah membran sitoplasma sel mikroba patogen karena reaksi awal bakteriosin adalah merusak permeabilitas membran dan menghilangkan *proton motive force* (PMF), sehingga menghambat produksi energi dan biosintesis protein. Mekanisme aktivitas bakterisidal bakteriosin adalah bakteriosin kontak langsung dengan membran sel. Proses kontak ini mampu mengganggu potensial membran berupa destabilitas membran sitoplasma, sehingga sel menjadi tidak kuat. Ketidakstabilan membran mampu memberikan dampak pembentukan lubang atau pori pada membran sel bakteri patogen melalui proses gangguan terhadap PMF. Kebocoran yang terjadi akibat pembentukan lubang pada membran sitoplasma tersebut ditunjukkan oleh adanya aktivitas keluar masuknya molekul seluler. Kebocoran ini berdampak pada penurunan pH seluler. Pengaruh pembentukan lubang sitoplasma merupakan dampak adanya bakteriosin yang menyebabkan terjadinya perubahan gradien potensial membran dan pelepasan molekul interseluler maupun masuknya substansi ekstraseluler. Peristiwa tersebut berpengaruh pada terhambatnya pertumbuhan sel bakteri patogen dan mampu menyebabkan kematian pada sel bakteri yang sensitif terhadap bakteriosin (Usmiati dkk., 2009).

Bakteriosin disintesis selama fase pertumbuhan eksponensial. Perpanjangan waktu inkubasi setelah fase stationer menyebabkan aktivitas bakteriosin menurun karena terbebasnya protease dari sel pada saat sel memasuki fase kematian. Bakteriosin merupakan suatu senyawa protein yang memiliki sifat bakterisidal terhadap bakteri patogen Gram positif dan negatif dengan spektrum yang luas terhadap bakteri target yang memiliki sifat pengikatan spesifik

(*specific binding site*) (Nurhajati *et al.*, 2012).

Mirtal dan Steinkraus (1971) dalam Fauziah dkk. (2012) menyatakan susu kedelai dapat menjadi substrat bagi *L. bulgaricus* yang dibuktikan dengan kemampuan bakteri tersebut dalam melakukan fermentasi pada susu kedelai. Soygurt yang merupakan hasil fermentasi susu kedelai yang telah diteliti memiliki kemampuan antioksidan yang besar dan tidak mengandung laktosa maupun kolesterol sehingga sangat baik untuk kesehatan. Salah satu kandungan kedelai yang memiliki banyak manfaat adalah isoflavon yang berperan dalam perbaikan profil lipid serum, perlindungan *low-density lipoprotein* (LDL) terhadap oksidasi, meningkatkan aktivitas beberapa enzim antioksidan pada hati dan membunuh bakteri patogen.

## SIMPULAN

Filtrat asam laktat dan bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt memberikan daya antibakteri yang berbeda pada setiap konsentrasinya terhadap nilai MIC dan besar daerah hambat pertumbuhan berbagai strain *K. pneumoniae*. Konsentrasi 90% filtrat asam laktat atau bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt menghasilkan daerah hambat pertumbuhan terbesar terhadap berbagai strain *K. pneumoniae* dibandingkan dengan konsentrasi 80% dan 70%. Berdasarkan penelitian ini, pemberian filtrat asam laktat dan bakteriosin *L. bulgaricus* dalam soygurt diketahui dapat memberikan manfaat kesehatan bagi yang meminumnya berupa terbawanya bakteri probiotik hidup ke dalam tubuh yang bersifat antibakteri, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* dan mengatasi mewabahnya penyakit infeksi pneumonia di masa mendatang dan juga sebagai upaya dalam mengatasi masalah bagi orang dengan ketidakmampuan mencerna laktosa (*lactose intolerance*).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Hibah Penelitian Muda Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Dikti) untuk sumbangan yang diberikan. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Mikrobiologi Unit Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran atas bantuan dalam penyediaan bahan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alsagoff, H., & Mukty, H.A. 2005. Dasar-dasar ilmu penyakit paru. Surabaya: Airlangga University Press. hlm. 35-9.
- Fauziah, P.N., Nurhajati, J., & Chrysanti. 2012. Penghambatan adhesi berbagai strain *Klebsiella pneumoniae* oleh *Lactobacillus bulgaricus* dalam soyghurt secara in vitro pada HEP-2 cell lines dengan berbagai proses perlakuan infeksi [skripsi]. Bandung: Universitas Padjadjaran. hlm. 66-75.
- Johnston, B.C., Ma, S.S., Goldenberg, J.Z., Thorlund, K., Vandvik, P.O., Loch, M., & Guyatt, G.H. 2012. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile* associated diarrhea. *Ann Intern Med*, 157(12):878-888.
- Kaboosi, H. 2011. Antibacterial effects of probiotics isolated from yoghurt against some common bacterial pathogens. *Afr J Microbiol Res*, 5(25):4363-4367.
- Kartasmita, C.B. 2010. Pneumonia pembunuh balita. *Buletin Jendela Epidemiologi Bakti Husada*, 3:1-3.
- Khalili, H., Soltani, R., Safhami, S., Dashti-Khavidaki, S., & Alijani, B. 2012. Antimicrobial resistance pattern of gram-negative bacteria of nosocomial origin at a teaching hospital in the Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J*, 18(2):172-177.
- Kumar, M., Nagpal, R., Verma, V., Kumar, A., Kaur, N., Hemalatha, R., Gautam, S.K., & Singh, B. 2012. Probiotic metabolites as epigenetic targets in the prevention of colon cancer. *Nutr Rev*, 7(1):23-34.
- Ligoeka, A., & Paluszak, Z. 2005. Capability of lactic acid bacteria to inhibit pathogens in sewage sludge subjected to biotechnological processes. *Bull Vet Inst Pulawy*, 49:23-27.
- Lovita, A., Widjastuti, T., & Rizki, D. 2013. The effect of probiotic supplemented ration on broiler abdominal fatty content and final weight. *Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Iași. Lucrări Științifice-Seria Zootehnie*, 53:94-96.
- Maldonado, N.C., Silva de Ruiz, C., Cecilia, M., & Nader-Macias, M.E. 2007. A simple technique to detect *Klebsiella* biofilm-forming strains. Inhibitory potential of *Lactobacillus fermentum* CRL 1058 whole cells and products. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology* (Mendez-Vilas, A., ed.). The Formatex Microbiology Book Series Formatex Center, 1(6): 52-59.
- Nurhajati, J., Sayuti, Chrysanti, & Syachroni<sup>1</sup>. 2012. An in-vitro model for studying the adhesion of *Lactobacillus bulgaricus* in soyghurt and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) on HEP-2 cells. *Afr J Microbiol Res*, 6(24): 5142-5146.
- Nurhajati, J., Atira, Aryantha, I.N.P., & Kadek, I.D.G<sup>2</sup>. 2012. The curative action of *Lactobacillus plantarum* FNCC 226 to *Saprolegnia parasitica* A3 on catfish (*Pangasius hypophthalmus* Sauvage). *IFRJ*, 19(4):1723-1727.
- Ogunbanwo, S.T., Sanni, & Onilude. 2003. Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *Afr J Biotechnol*, 2(3):219-227.
- Ray, B., & Bhunia, A. 2008. Microbial stress response in the food environment. *Fundamental food microbiology*. Edisi ke-4. Boca Raton London New York: CRC Press. hlm. 83-86.
- Rudan, I., Boschi-Pinto, C., Biloglav, Z., Mulholland, K., & Campbell, H. 2008. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. *Bull World Health Organ*, 86(5):408-416.
- Sanchez, G.V., Master, R.N., Clark, R.B., Fyyaz, M., Duvvuri, P., Ekta, G., & Bordon, J. 2013. *Klebsiella pneumoniae* antimicrobial drug resistance, United States, 1998-2010. *Emer Infect Dis*, 19(1):133-136.
- Seth, A.K., Matthew, Geringer, Anandev, N.G., Jonathan, A.A., Ping, C., You, T., Hong, S.J., Galiano, R.D., Mustoe, T.A., & Leung, K.P. 2012. Understanding the host inflammatory response to wound infection: an in vivo study of *Klebsiella pneumoniae* in a rabbit ear wound model. *Wound Repair Regen*, 20(2):214-225.
- Tambekar, D.H., & Bhutada, S.A. 2010. An evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus* sp. from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections. *Recent Research Science and Technology*, 2(10):82-88.
- Usmiati, S., Miskiyah, & Rarah, R.A.M. 2009. Pengaruh penggunaan bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. galur SCG 1223 terhadap kualitas mikrobiologi daging sapi segar. *JITV*, 14(2):150-166.

- Vidya, R., & Iyer, P.R. 2010. Antagonistic activity of probiotic organism against *Vibrio cholerae* and *Cryptococcus neoformans*. *Mal J Microbiol*, 6(1): 41–46.
- Vieira, T.L., Gondim, B.L.C., Santiago, B.M., & Valenca, A.M.G. 2012. In vitro antibacterial and non-stick activity of extracts from leaves of *Psidium guineense* Sw. and *Syzygium cumini* (L.) Skeels on oral microorganisms. *Rev Gaucha Ondotol Porto Alegre*, 60(3):359–365.
-