

**AKTIVITAS KEFIR DAN ISOLAT BAKTERI ASAM
LAKTAT DARI KEFIR DALAM MENGHAMBAT
PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus***

Manuscript



Oleh :

I Agus Adi Gunawan

G1C217239

**PROGRAM STUDI DIV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
2018**

PERNYATAAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan judul

AKTIVITAS KEFIR DAN ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI KEFIR DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, 4 Oktober 2018

Pembimbing I


Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si, Med

NIK. 28.6.1026.034

Pembimbing II


Wildiani Wilson, M.Sc

NIK. 28.6.1026.314

SURAT PERNYATAAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : I Agus Adi Gunawan

NIM : G1C217239

Fakultas / Jurusan : Fakultas Keperawatan dan Kesehatan / D4 Analis Kesehatan

Jenis Penelitian : Skripsi

Judul : Aktivitas Kefir dan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Kefir dalam
Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Email : gunawanagusadi@gmail.com

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk :

1. Memberikan hak bebas royalti kepada Perpustakaan UNIMUS atas penulisan karya ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan.
2. Memberikan hak menyimpan, mengalihmediakan / mengalihformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, serta menampilkannya dalam bentuk softcopy untuk kepentingan akademis kepada Perpustakaan UNIMUS, tanpa perlu meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis / pencipta.
3. Bersedia dan menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UNIMUS, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 4 Oktober 2018

Yang menyatakan

(I Agus Adi Gunawan)

AKTIVITAS KEFIR DAN ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI KEFIR DALAM MENGHAMBATPERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*

I Agus Adi Gunawan¹, Sri Sinto Dewi², Wildiani Wilson²

1. Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

2. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Muhammadiyah Semarang

Abstract

Info artikel

Kefir is a milk product produced in the process of bacterial and yeast fermentation that can be used as a probiotic. Lactic Acid Bacteria produce antimicrobial compounds as probiotic bacteria that can inhibit the growth of Gram-negative and Gram-positive pathogenic bacteria, one of them is *Staphylococcus aureus*. The purpose of this study was to determine the activity of kefir and isolates of BAL from kefir in inhibiting the growth of *S. aureus* bacteria. Kefir samples were obtained from the Kefir Production House in Semarang Regency. Bacterial isolation based on bacterial growth on MRS agar media which was added with CaCO₃ 1%. Test the ability of kefir and isolates BAL to inhibit *S. aureus*, analyzed based on *Kruskal-Wallis*. The results showed 4 BAL isolates were found, consisting of 3 isolates identified in the genera *Lactobacillus* (K1, K7a and K7b) and 1 isolate identified in the genus *Pediococcus* (K6). BAL identified by *Pediococcus* (K6) shows the largest inhibition zone of 22.16 mm (suspension) and 20.37 mm (supernatant). *Lactobacillus* (K7b) shows the largest inhibitory zone of 18.5 mm (suspension) and 20.5 mm (supernatant) while the Kefir (K) isolate shows a inhibition zone of 20.62 mm (suspension) and 18.87 (supernatant). Based on the results of the *Kruskal-Wallis* test obtained significant values of $p = 0,000$ ($p < 0.05$) there were significant differences in Kefir and BAL isolates in inhibiting the growth of *S. aureus* bacteria.

Keywords

Antimicrobial, Lactic Acid Bacteria, *Staphylococcus aureus*.

Pendahuluan

Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang diperoleh selama perawatan di rumah sakit. Sebagian besar infeksi nosokomial disebabkan oleh bakteri yang resisten terhadap semua jenis antibiotik (*multi drug resistant infection*). Salah satu penyebab infeksi nosokomial yang saat ini telah tersebar luas di seluruh dunia adalah infeksi

yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Wirahjasa, 2012).

S. aureus termasuk bakteri yang memiliki daya tahan paling kuat di antara bakteri yang tidak membentuk spora. Bakteri *S. aureus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik, protein permukaan yang berfungsi untuk memudahkan kolonisasi pada jaringan inang.

* Corresponding Author :

I Agus Adi Gunawan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : gunawanagusadi@gmail.com

Bakteri ini dapat ditemukan pada hidung, mulut, kulit, mata, jari, usus, dan hati (Radji, 2010). Infeksi *S. aureus* menyebabkan penyakit pada manusia melalui invasi jaringan atau karena pengaruh toksin yang dihasilkannya. *S. aureus* adalah penyebab utama bakteremia nosokomial yang menginfeksi melalui darah dan merupakan penyebab utama tingginya angka morbiditas dan mortalitas infeksi akibat mikroorganisme patogen (Soedarto, 2015).

Permasalahan resistensi mikroba terhadap antibiotik dapat menimbulkan dampak merugikan dan menurunkan mutu pelayanan kesehatan (Permenkes, 2015). Resistensi terhadap golongan β -laktam telah memberi kesulitan dalam menangani infeksi *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (Wirahjasa, 2012). Timbulnya resistensi obat dalam populasi mikroba, terutama akibat terjadinya mutasi genetik yang berbeda sehingga menghasilkan berbagai jenis resistensi dan menjadi mikroorganisme resisten-obat (Jawetz *et al.*, 2012). Oleh karena itu, diperlukan obat alternatif sebagai pengganti obat sintesis dalam pengobatan. Kefir adalah produk susu yang dapat digunakan sebagai probiotik. Difermentasi dengan cara menginokulasi susu yang telah dipasteurisasi dengan suatu biakan mikroorganisme menggunakan starter berupa biji kefir. Bakteri *Streptococcus lactis* dan *Lactobacillus Bulgaris* merupakan mikroorganisme utama yang melakukan fermentasi dalam pembuatan kefir (Pelczer, 1988).

BAL adalah bakteri yang mampu menghasilkan sejumlah komponen antimikroba yang dapat menghambat bakteri patogen, diantaranya asam-asam organik, etanol, hidrogen peroksida dan bakteriosin (Syukur & Purwanti, 2013). Salah satu ciri-ciri BAL mampu mengubah glukosa menjadi asam laktat. Bakteri tersebut adalah *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *pediococcus*, dan *Bifidobacterium* (Purwoko, 2007). Hasil penelitian Kadir (2016), menyatakan bahwa BAL dapat tumbuh pada pH 4, 5, dan 6. Berdasarkan hal tersebut

isolat BAL dari kefir dapat berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai probiotik.

Berdasarkan dari uji antimikroba, BAL dari fermentasi kakao memiliki antimikroba terhadap *S. aureus* yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram dengan diameter 15 mm (Ismail *et al.*, 2017). Hasil penelitian Rachmawati (2005) menunjukkan bahwa kultur BAL dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*, disebabkan oleh komponen metabolit hasil fermentasi senyawa mikroba yang bersifat bakterisidal.

Pemanfaatan kefir digunakan sebagai pencegahan dan pengobatan alternatif dalam pengendalian mikroorganisme patogen, dimana terjadinya peningkatan kasus resistensi terhadap obat dan tingginya angka morbiditas yang disebabkan oleh *S. aureus*. Oleh karena itu perlu dikaji untuk mengetahui aktifitas kefir dan isolat BAL dari kefir dalam menghambat *S. aureus*.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, yaitu untuk mengetahui kemampuan kefir dan isolat BAL hasil isolasi dari kefir dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Desain penelitian ini adalah *true experimental* yaitu kelompok desain *Post Test Only Control Group* dimana kefir dan isolat BAL dari kefir diberikan perlakuan kemudian dilakukan pengukuran. Perlakuan yang digunakan adalah K0 (kefir), K1 (isolat BAL 1) dan K2 (isolat BAL 2).

Obyek dari penelitian ini adalah *S. aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Kefir dan BAL dari kefir yang diperoleh dari Rumah Produksi Kefir di Ungaran Kabupaten Semarang

Prosedur penelitian aktivitas kefir dan isolat bakteri asam laktat dari kefir dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* sebagai berikut :

* Corresponding Author :

I Agus Adi Gunawan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : gunawanagusadi@gmail.com

1. Sterilisasi Alat

Peralatan dan media yang akan digunakan disterilisasi, dimasukkan dalam autoclave dengan rapi dan ditutup rapat. Suhu ditunggu hingga 121°C kemudian biarkan selama 30 menit. Setelah selesai, suhu ditunggu sampai turun kemudian keluarkan alat-alat yang sudah steril.

2. Isolasi BAL dari stater kefir

Isolasi BAL dari kefir dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan MRS *broth* sampai 10^{-8} . Sebanyak 0,1 ml dari pengenceran 10^{-6} dan 10^{-8} diambil dan disebar pada media MRS agar + CaCO₃ 1%. CaCO₃ berfungsi untuk menetralkan asam yang terbentuk oleh BAL sehingga menghasilkan Ca-laktat yang larut dalam media menyebabkan terbentuknya zona jernih. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 12-24 jam. (Nuryady *et al.*, 2013).

3. Peremajaan BAL

Kultur bakteri diinokulasikan pada media MRS agar yang mengandung 1% CaCO₃ dengan metode *spread plate* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C (Yuliana & Dizon, 2011).

4. Identifikasi Kelompok BAL

Identifikasi BAL dilakukan berdasarkan uji katalase, uji motilitas, uji produksi gas, pewarnaan gram (Hartayanie *et al.*, 2015) :

a. Uji Katalase

Kultur bakteri yang telah ditumbuhkan pada media MRS agar disebar pada object glass. Diteteskan larutan H₂O₂ 3% di atas kultur tersebut dan diamati perubahan yang terjadi. Uji katalase positif ditandai dengan timbulnya gelembung - gelembung oksigen pada kultur.

b. Uji Motilitas

Isolat bakteri ditusukkan ke dalam media MRS agar lunak tegak (konsentrasi agar pada MRS diturunkan sampai 0,7%), selanjutnya inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolat yang motil akan

tumbuh menyebar sedangkan isolat yang non motile hanya akan tumbuh disekitar tusukan.

c. Uji Produksi Gas

Isolat diinokulasikan dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml media MRS *broth* yang diberi tabung durham terbalik. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam

d. Pewarnaan Gram

Kultur bakteri diambil sebanyak 1 ose, disebar pada *object glass* dan difiksasi diatas nyala api. Sediaan diwarnai menggunakan Gram A selama 1 menit, bilas menggunakan air mengalir. Selanjutnya dengan pewarnaan Gram B selama 1 menit, dicuci kembali dengan air. Zat warna dihilangkan menggunakan Gram C selama 30 detik atau sampai warna ungu tidak luntur lagi, kemudian bilas dengan air. Pewarnaan penutup menggunakan Gram D selama 10-30 detik, dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Kemudian diamati di bawah mikroskop dengan *oil imersi* pada perbesaran 100X lensa objektif.

4. Identifikasi Genus

Identifikasi tingkat genus BAL dapat dilakukan berdasarkan pewarnaan gram, uji produksi gas, pertumbuhan pada kadar NaCl (6,5% dan 18%), pertumbuhan pada pH (4,4 dan 9,6), pertumbuhan pada suhu (10°C, 45°C, dan 50°C) (Hartayanie *et al.*, 2015) :

a. Uji Produksi Gas dari Glukosa

BAL diinokulasikan sebanyak 50 µl inokulum ke dalam 5 ml media glukosa yang berisi tabung durham terbalik. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung durham

b. Pertumbuhan Pada Kadar NaCl (6,5% dan 18%)

BAL diinokulasikan sebanyak 50 µl inokulum ke dalam 5 ml media MRS *broth* dengan konsentrasi NaCl 6,5% dan 18%. Masing-masing media yang berisi inokulum BAL, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan menginokulasikan 50µl inokulum kedalam MRS agar yang berisi

* Corresponding Author :

I Agus Adi Gunawan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : gunawanagusadi@gmail.com

CaCO₃ 1% dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian diamati pertumbuhan bakteri pada jam ke-12 dan 24. Hasil pertumbuhan dapat dilihat dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada pengamatan jam ke-24.

c. Pertumbuhan Pada pH (4,4 dan 9,6)

BAL diinokulasikan sebanyak 50 µl inokulum ke dalam 5 ml media MRS *broth* dengan pH 4,4 dan pH 9,6. Masing-masing media yang berisi inokulum BAL, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan menginokulasikan 50µl inokulum kedalam MRS agar yang berisi CaCO₃ 1% dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian diamati pertumbuhan bakteri pada jam ke-12 dan 24. Hasil pertumbuhan dapat dilihat dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada pengamatan jam ke-24.

d. Pertumbuhan Pada Suhu (10°C, 45°C, dan 50°C).

BAL diinokulasikan sebanyak 50 µl inokulum ke dalam 5 ml media MRS *broth*. Kemudian masing-masing media yang berisi inokulum BAL tersebut diinkubasi pada suhu 10°C, 45°C, dan 50°C selama 48 jam. Pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan menginokulasikan 50µl inokulum kedalam MRS agar yang berisi CaCO₃ 1% dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian diamati pertumbuhan bakteri pada jam ke-12 dan 24. Hasil pertumbuhan dilihat dari pertumbuhan koloni bakteri pada pengamatan jam ke-24.

Hasil karakterisasi dari masing-masing isolat BAL diidentifikasi berdasarkan panduan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Buchanan *et al.*, 1974).

5. Uji Daya Hambat

Uji daya hambat kefir dan isolat BAL dari kefir dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.typhi* (Nursini, 2015) :

a. Persiapan Bakteri Uji

Isolat bakteri uji disuspensikan pada media BHI kemudian diinokulasikan pada media BAP inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diamati ciri-ciri koloni, dilakukan uji MSA dan koagulase, selanjutnya ditanam pada media HIA. Sampel suspensi kefir sebanyak 1 gram dihaluskan kemudian

diinokulasikan ke dalam media MRS *broth* diinkubasi pada suhu 37°C selama 12-24 jam.

b. Persiapan Supernatan dan Suspensi Kefir dan BAL

Sampel kefir sebanyak 1 gram dihaluskan kemudian diinokulasikan ke dalam media MRS *broth* diinkubasi pada suhu 37°C selama 12-24 jam, sedangkan isolat BAL yang diperoleh diremajakan kembali pada media MRS *broth* diinkubasi pada suhu 37°C selama 12-24 jam. Tabung yang berisi BAL dan kefir disentrifugasi 7000 rpm selama 5 menit sehingga diperoleh supernatan bebas sel.

c. Uji Daya Hambat

S. aureus disuspensikan ke dalam NaCl fisiologis sesuai standar Mc Farland 0,5 kemudian disubkultur kedalam media MHA dengan ketebalan 0,4-0,6 cm menggunakan metode *spread plate*. Pengujian dilakukan dengan metode difusi sumuran. Supernatan BAL diambil sebanyak 100µl, 150µl, 200µl, dan 250µl diinokulasikan ke media yang telah mengandung bakteri *S. aureus* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam dan diameter zona bening yang terbentuk diukur menggunakan mistar dalam satuan mm.

6. Teknik Pengumpulan Data

Analisa data hasil penelitian dilakukan secara statistik, yaitu dilakukan uji pendahuluan dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk memeriksa normalitas data dan uji Levene untuk melihat homogenitas data. Hasil uji statistik yang diperoleh adalah data hasil uji tidak terdistribusi normal dan dan tidak homogen karena hasil yang diperoleh $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis*

Hasil Penelitian

1. Isolasi BAL dari Starter Kefir

Berdasarkan hasil penelitian isolasi BAL dari starter kefir telah diisolasi empat bakteri yang tumbuh pada media MRS agar yang ditambahkan CaCO₃ 1% dengan

*** Corresponding Author :**

I Agus Adi Gunawan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : gunawanagusadi@gmail.com

menggunakan seri pengenceran. Ciri-ciri isolat BAL yang tumbuh pada permukaan media MRS agar dengan penambahan CaCO_3 1% memiliki zona jernih disekitar koloni (Gambar 1).



Gambar 1. isolat BAL yang diisolasi dari stater kefir menggunakan media MRS agar + CaCO_3 1%.

2. Identifikasi Kelompok BAL

Identifikasi 4 isolat BAL yang diperoleh dilakukan pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia. Hasil pengamatan makroskopis isolat bakteri yang tumbuh pada media MRS agar dengan penambahan CaCO_3 1% dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Makroskopis isolat BAL dari stater kefir

Isolat	Zona Jernih	Warna	Bentuk	Tinggi	Warna	Bentuk
K1	+	Putih	Merah	Kecil	Kecil	Merah
K2	+	Putih	Merah	Kecil	Kecil	Merah
K3	+	Putih	Merah	Kecil	Kecil	Merah
K4	+	Putih	Merah	Kecil	Kecil	Merah

Hasil pengamatan mikroskopis dan uji biokimia isolat BAL sesuai pada Tabel 2.

Tabel 2. Fisiologis isolat BAL dari stater kefir

Isolat	Pemeriksaan Gram	Bentuk Bakteri	Pemeriksaan Spora	Katalase	Motilitas	Produksi Gas
K1	+	Basil	+	+	+	+
K2	+	Basil	+	+	+	+
K3	+	Basil	+	+	+	+
K4	+	Basil	+	+	+	+

3. Identifikasi Genus BAL

Identifikasi genus isolat BAL berdasarkan uji pertumbuhan bakteri pada kadar NaCl, pH serta suhu. Hasil pengamatan dilihat pertumbuhan bakteri pada media MRS agar pada jam ke 16-18 jam, selanjutnya dilakukan uji pewarnaan Gram, bentuk bakteri dan uji produksi gas dari glukosa. Identifikasi genus isolat BAL seperti Tabel 3

Isolat	NaCl (%)	pH	Suhu (°C)	Gas	Bentuk	Genus
K1	4.5	4.4	10	+	Basil	<i>Lactobacillus</i>
K2	4.5	4.4	10	+	Basil	<i>Lactobacillus</i>
K3	4.5	4.4	10	+	Basil	<i>Lactobacillus</i>
K4	4.5	4.4	10	+	Basil	<i>Lactobacillus</i>

* Corresponding Author :

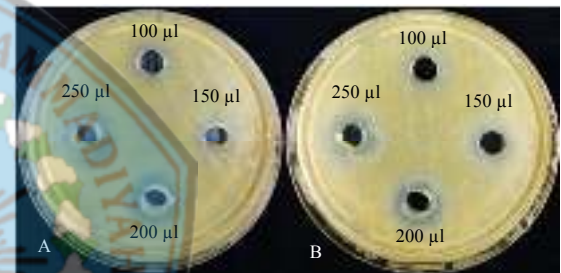
I Agus Adi Gunawan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : gunawanagusadi@gmail.com

4. Uji Daya Hambat.

Isolat BAL telah teridentifikasi K6 sebagai *Pediococcus*. Isolat K1, K7a dan K7b teridentifikasi sebagai *Lactobacillus*. Isolat K7b sebagai perwakilan dari genus *Lactobacillus* dan isolat K6 sebagai perwakilan dari genus *Pediococcus* selanjutnya diuji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* pada media MHA dengan ketebalan 0,5 mm. Sebanyak 4 buah sumuran yang masing-masing sumuran diberi supernatan atau suspensi bakteri dengan volume 100 μl , 150 μl , 200 μl , dan 250 μl . Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan mistar dengan satuan mili meter. Hasil uji daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dapat dilihat pada Gambar 2.



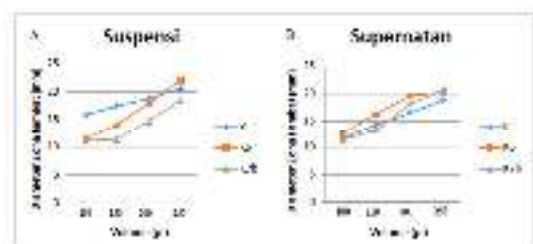
Gambar 2. Gambar dari hasil uji daya hambat isolat Kefir (K) dan isolat BAL (K6 dan K7b) dari sampel suspensi maupun supernatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. typhi*. Keterangan : (A) Suspensi, (B) Supernatan.

Hasil pengukuran diameter zona hambat isolat Kefir (K) dan isolat BAL (K6 dan K7b) dari sampel suspensi maupun supernatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ditunjukkan pada Tabel 4 dan Gambar 3.

Tabel 4. Hasil diameter zona hambat BAL terhadap *S. aureus*.

Isolat	Suspensi (µl)				Supernatan (µl)			
	100	150	200	250	100	150	200	250
K1	11.40	8.80	11.20	11.10	8.80	11.20	11.10	11.10
K2	11.80	8.80	11.20	11.10	8.80	11.20	11.10	11.10
K3	11.80	8.80	11.20	11.10	8.80	11.20	11.10	11.10
Kontrol	11.80	8.80	11.20	11.10	8.80	11.20	11.10	11.10

Keterangan: Kontrol positif (*Staphylococcus aureus*) 10 µl



Gambar 3. Grafik dari hasil uji daya hambat isolat Kefir (K) dan isolat BAL (K6 dan K7b) dari sampel suspensi maupun supernatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Keterangan : (A) Suspensi dan (B) Supernatan

Berdasarkan Tabel 4, menunjukkan bahwa suspensi maupun supernatan dari kefir dan BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Namun hasil yang diperoleh bervariasi dan hasil diameter zona hambat lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol. Hasil kontrol menggunakan antibiotik *Ciprofloxacin* dengan konsentrasi 5 µg/ml ≥ 27 mm. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang terbentuk antara suspensi dan supernatan berbeda. Sebagian besar sampel suspensi menunjukkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan supernatan.

5. Uji Statistik

Berdasarkan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan hasil signifikan $p=0,000$ dari kedua sampel (suspensi dan supernatan) yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap isolat Kefir dan BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* karena nilai signifikan $p<0,05$.

Diskusi

Gambar 1 menunjukkan bahwa hasil isolasi bakteri dari starter kefir diperoleh 4 isolat BAL yang ditandai dengan zona jernih yang terbentuk pada media MRS agar dengan penambahan CaCO_3 1%. Penambahan CaCO_3 1% berfungsi untuk menetralkan asam yang terbentuk oleh BAL sehingga dapat menghasilkan Ca-laktat yang larut dalam media dan menyebabkan terbentuknya zona jernih disekitar koloni (Nuryady *et al*, 2013).

Tabel 1 dan 2 menunjukkan bahwa isolat BAL yang diperoleh merupakan

kelompok BAL yang telah diidentifikasi secara makroskopis koloni, mikroskopis sel dan uji biokimia. Menurut Sopandi & Wardah (2014), BAL memiliki ciri-ciri yaitu merupakan bakteri gram positif, berbentuk basil atau bulat, tidak menghasilkan spora, *non motil*, memiliki katalase negatif, menghasilkan gas dan mampu menghasilkan asam laktat.

Identifikasi genus isolat BAL menunjukkan bahwa isolat K6 termasuk kedalam genus *Pediococcus* sedangkan isolat K1, K7a dan K7b termasuk kedalam genus *Lactobacillus*. Menurut Widodo (2017), genus *Pediococcus* memiliki ciri-ciri yaitu bakteri gram positif berbentuk bulat. Bakteri tumbuh pada kadar NaCl 6,5% dan pH 4,4 serta pada rentang suhu 10°C-45°C, tidak menghasilkan gas dari fermentasi glukosa, tidak dapat tumbuh pada kadar NaCl 18% dan pH 9,6. Genus *Lactobacillus* memiliki ciri-ciri yaitu bakteri gram positif berbentuk batang, dapat tumbuh pada kadar NaCl 6,5% dan tidak tumbuh pada NaCl 18%, tumbuh pada pH 4,4 dan tidak dapat tumbuh pada kadar pH 9,6 serta tumbuh pada rentang suhu 10°C-45°C, menghasilkan gas dari fermentasi glukosa. Beberapa genus *Lactobacillus* menghasilkan gas dan ada beberapa tidak mampu menghasilkan gas.

Berdasarkan dari hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada setiap kefir dan BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Kemampuan BAL dalam menghambat bakteri *S. aureus* disebabkan karena komponen antimikroba yang dihasilkan oleh BAL, salah satunya asam organik (asam laktat dan asam asetat). Asam organik yang dihasilkan oleh BAL dapat menyebabkan penurunan pH sehingga pertumbuhan bakteri patogen yang tidak tahan pH rendah akan terhambat. Hal ini karena asam-asam organik yang dihasilkan oleh bakteri akan menyebabkan kandungan asam di dalam peptidoglikan bakteri Gram positif akan meningkat sehingga dinding sel bakteri akan mengeras dan menyebabkan metabolisme

* Corresponding Author :

I Agus Adi Gunawan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : gunawanagusadi@gmail.com

bakteri terhambat. Menurut Chotiah (2013), protein dalam filtrat yang belum dimurnikan diduga hambatan yang terjadi terhadap pertumbuhan *S. aureus* ATCC 25932/BCC B 2062 disebabkan oleh bakteriosin bukan karena asam organik, karena pada filtrat yang diuji dalam keadaan pH netral yaitu pH 7. Bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* SS78 potensial untuk mengobati mastitis klinis maupun subklinis, karena kemampuannya dalam menghambat bakteri *S. aureus*.

Penelitian Kefir dari sampel suspensi maupun supernatan mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan hasil yang bervariasi tergantung dari volume yang diinokulasikan pada sumuran. Hasil diameter zona hambat yang terbentuk pada isolat kefir lebih rendah dibandingkan dengan isolat BAL. Diameter zona hambat paling besar pada isolat kefir ditunjukkan pada sampel suspensi sebesar 20,62 mm sedangkan supernatan hanya menunjukkan zona hambat paling besar yaitu 18,87 mm. Hal ini terjadi karena persaingan diantara berbagai macam spesies yang terdapat pada kefir dalam mendapatkan nutrisi, sehingga asam laktat yang dihasilkan semakin sedikit (Hanum, 2016).

Sampel suspensi dan supernatan dari BAL dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan diameter zona hambat yang berbeda-beda tergantung dari volume suspensi maupun supernatan yang diujikan. Aktivitas antara kefir (K) dan isolat BAL (K6 dan K7b) memiliki aktivitas yang berbeda-beda pula. Antara ketiga isolat uji diameter zona hambat yang paling besar ditunjukkan pada isolat K6 dari suspensi sebesar 22,12 mm, sedangkan pada supernatan ditunjukkan pada isolat K7b sebesar 20,5 mm. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh kefir (K) lebih rendah dibandingkan isolat K6 maupun K7b. Isolat kefir (K) hanya mampu menghambat sebesar 20,62 mm pada suspensi dan 18,87 mm pada supernatan.

Penelitian ini memperoleh perbedaan hasil diameter zona hambat antara sampel suspensi dan supernatan. Diameter zona hambat dari sampel suspensi lebih besar

dibandingkan dengan supernatan. Hal ini karena pada sampel suspensi yang dimasukkan ke dalam sumuran adalah BAL yang mampu melepaskan asam laktat ke dalam medium dan menyebabkan pH lingkungan pada media menurun sehingga menyebabkan bakteri patogen terhambat pertumbuhannya. Menurut Pelczar dan Chan (2007) menyatakan bahwa umumnya bakteri patogen tidak mampu tumbuh pada pH lingkungan yang asam namun umumnya tumbuh pada kisaran 6,0-8,0 sehingga banyak bakteri patogen mengalami kematian yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih. Walaupun demikian, zona hambat pada supernatan lebih rendah dibandingkan dengan suspensi. Hal ini karena pada suspensi BAL yang diinokulasikan ke dalam sumuran dalam keadaan hidup sehingga selama inkubasi BAL mampu menghasilkan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antimikroba (salah satunya bakteriosin) dan menyebabkan zona hambat yang terbentuk lebih besar dibandingkan dengan supernatan.

Pada sampel supernatan menunjukkan diameter hasil yang lebih rendah dibandingkan dengan suspensi. Hal ini karena pada supernatan terdapat senyawa metabolit sekunder berupa bakteriosin dan protein lainnya. Bakteriosin pada umumnya merupakan peptida atau kompleks peptida yang memiliki sifat bakterisidal berspektrum sempit (Hafsan, 2014). Menurut Salvago (2006) strain bakteri Gram positif sensitif terhadap bakteriosin dengan spektrum yang bervariasi sedangkan strain bakteri Gram negatif cenderung resisten terhadap bakteriosin. Target kerja bakteriosin yaitu membran sitoplasma bakteri yang sensitif karena reaksi awal bakteriosin adalah merusak permeabilitas membran dan menghilangkan *proton motive force* (PMF) sehingga menghambat produksi energi dan biosintesis protein atau asam nukleat.

Hasil pada penelitian yang dilakukan juga sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ismail *et al.*, (2017), yang menunjukkan bahwa BAL mampu menghambat bakteri patogen yaitu *E. coli* dan *S. aureus*, dimana hasil aktivitas yang

*** Corresponding Author :**

I Agus Adi Gunawan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : gunawanagusadi@gmail.com

dihasilkan terhadap bakteri *E. Coli* dan *S. aureus* sebesar 17 mm dan 15 mm. Hasil diameter yang terbentuk dibandingkan dengan kontrol antibiotik yaitu *Ciprofloxacin* menunjukkan diameter zona hambat sebesar 32 mm terhadap *S. aureus*. Hal ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hartayanie *et al.*, (2015), yang menyatakan bahwa BAL dari genus *Lactobacillus* yang diisolasi dari makanan fermentasi asinan rebung dapat menghambat bakteri patogen yaitu *E. coli* dan *S. aureus*. *Lactobacillus* memiliki kemampuan antimikroba tertinggi terhadap bakteri *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 14,53 mm dan terhadap bakteri *E. coli* dengan zona hambat sebesar 10,93 mm

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan :

1. Satu isolat (K6) teridentifikasi sebagai genus *Pediococcus* dan Tiga isolat (K, K7a dan K7b) yang teridentifikasi merupakan genus *Lactobacillus*.
2. Sampel uji suspensi dan supernatan memiliki hasil yang bervariasi. Sampel uji suspensi memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan supernatan.
3. Suspensi dan supernatan isolat BAL dari kefir dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Diameter zona hambat terbesar ditunjukkan pada isolat K6 sebesar 22,12 mm pada suspensi sedangkan pada supernatan ditunjukkan pada isolat K7b yaitu sebesar 20,5 mm, jika dibandingkan dengan kontrol menggunakan antibiotik *Cifrofloxacin* memiliki hasil yang lebih rendah. Kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat sebesar 27 mm.
4. Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap isolat kefir dan BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* karena nilai signifikan $p=0,000$ ($p<0,05$).

* Corresponding Author :

I Agus Adi Gunawan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : gunawanagusadi@gmail.com

Saran

Peneliti menyarankan sebagai berikut :

1. Melakukan identifikasi isolat BAL sampai tingkat spesies.
2. Mengidentifikasi senyawa antibakteri yang diproduksi oleh genus *Lactobacillus* dan *Pediococcus* dengan menggunakan metode KLT atau HPLC.
3. Melakukan pengujian daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).
4. Berdasarkan hasil penelitian diharapkan kefir dapat digunakan sebagai obat alternatif dalam menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh *S. aureus*.

Referensi

- Chotiah, S., 2013. Penapisan Bakteri Asam Laktat Penghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Balai Besar Penelitian Veteriner. Bogor. 422-425.
- Hafsan., 2014. Bakteriosin Asal Bakteri Asam Laktat sebagai Biopreservatif Pangan. *Jurnal Teknosains*. 8 (2) : 175-184.
- Hanum, G.R., 2016. Pengaruh Waktu Inkubasi dan Jenis Inokulum Terhadap Mutu Kefir Susu Kambing. *Stigma Journal of Science*. 9(2) : 12-15.
- Hartayanie, L., Lindayani., Murniati, M P., 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Asinan Rebung Bambu Betung yang Difermentasi pada Hidayat, N., Masdiana, C. Padaga, Sri S., 2006. *Mikrobiologi Industri*. C.V AndiOffset, Yogyakarta.
- Ismail Y.S., Yulvizar C., & Putriani., 2017. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *BIOLEUSER*. 1(2) : 45-53.
- Jawetz., Melnick., & Adelberg., 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Kadir, I.R., 2016. Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) Kandidat

- Probiotik Asal Saluran Pencernaan DOC Boiler Terhadap Berbagai Kondisi Asam Lambung. *Universitas Islam Negri Aulauddin*. Makasar
- Nursini, N.W., dan I.B.A. Yogeswara., 2015. Aktivitas Antimikrobia Bakteri Asam Laktat Isolat Susu Kambing terhadap Bakteri Patogen Saluran Cerna. *Jurnal Virgin*. 1(2) : 169-176.
- Nuryady, *et al.*, 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Youghurt. *UNEJ JURNAL*. 1(5): 1-11.
- Rachmawati, I., Suranto., Setyaningsih, R., 2005. Uji Anti Bakteri Asam Laktat Asinan Sawi Terhadap Bakteri Patogen. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Soedarto., 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. CV. Sagung Seto. Jakarta.
- Sopandi, T & Wadah., 2014. *Mikrobiologi Pangan—Teori dan Praktik*. C.V ANDI OFFSET. Yogyakarta.
- Syukur, S & Purwati E., 2013. *Bioteknologi Probiotik*. C.V Andi Offset, Yogyakarta.
- Pelczar, M.J., 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia Press. Jakarta
- Permenkes., 2015. *Peraturan Menteri Kesehatan Nomer 2401/menkes/per/XII/ 2011*.
- Purwoko, T., 2007. *Fisiologi Mikroba*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Widodo., 2017. *Bakteri Asam Laktat Strain Lokal Isolasi Sampai Aplikasi Sebagai Probiotik dan Starter Fermentasi Susu*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wirahjasa, I. P., 2012. Pengelolaan Infeksi Akibat Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Lab SMF Anastesi*. 2 (3) : 135-143.
- Yuliana, N. & Dizon, EL., 2011. Phenotypic Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Tempoyak (Fermented Durian) Made in the Philippines. *International of Journal Biology*, 3 (2) : 145-151.

*** Corresponding Author :**

I Agus Adi Gunawan

Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail : gunawanagusadi@gmail.com