

Daya Hambat Bakteri *Lactobacillus plantarum* JBS4 Asal Fermentasi Tigarun Terhadap Bakteri Patogen

Gusti Nur Aida Fasha*¹, Nazarni Rahmi², Hasrul Satria Nur³

^{1,3} Program Studi Biologi FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

² Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri, Banjarbaru

*e-mail: gusti_aida@ulm.ac.id

Abstract

Lactobacillus plantarum JBS4 is a lactic acid bacterium isolated from the fermentation of tigarun (*Crataeva nurvala* Buch.-Ham) with potential antimicrobial activity. This study aimed to evaluate the inhibitory effect of *Lac. plantarum* JBS4 against pathogenic bacteria *Escherichia coli* ATCC25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923 *in vitro*. The inhibition test was conducted using the well diffusion method on NA and MRS agar media. The results showed that *Lac. plantarum* JBS4 effectively inhibited the growth of *E. coli* and *S. aureus*, with inhibition zone diameters of 9.10 ± 0.08 mm and 9.32 ± 0.29 mm, respectively. Furthermore, this isolate did not exhibit inhibitory effects against *Lactobacillus acidophilus* FNCC0051, a nonpathogenic bacterium. These findings suggest that *Lac. plantarum* JBS4 has the potential to act as a selective antimicrobial agent against pathogenic bacteria without affecting beneficial microorganisms.

Keywords: *Lactobacillus Plantarum*; Inhibition Activity; *Escherichia Coli*; *Staphylococcus Aureus*; Lactic Acid Bacteria

Abstrak

Lactobacillus plantarum JBS4 merupakan bakteri asam laktat yang diisolasi dari fermentasi tigarun (*Crataeva nurvala* Buch.-Ham) dan memiliki potensi sebagai agen antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi daya hambat *L. plantarum* JBS4 terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* ATCC25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923 secara *in vitro*. Pengujian dilakukan dengan metode sumuran pada medium NA dan MRS agar. Hasil menunjukkan bahwa *Lac. plantarum* JBS4 mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* dengan zona hambat masing-masing sebesar $9,10 \pm 0,08$ mm dan $9,32 \pm 0,29$ mm. Selain itu, isolat ini tidak menunjukkan penghambatan terhadap *Lactobacillus acidophilus* FNCC0051, yang merupakan bakteri nonpatogen. Temuan ini mengindikasikan bahwa *Lac. plantarum* JBS4 memiliki potensi sebagai agen antimikroba yang selektif terhadap bakteri patogen tanpa menghambat bakteri menguntungkan.

Kata kunci: *Lactobacillus Plantarum*; Daya Hambat; *Escherichia Coli*; *Staphylococcus Aureus*; Bakteri Asam Laktat

1. PENDAHULUAN

Bakteri *Lactobacillus plantarum* JBS4 adalah bakteri yang diisolasi dari pangan fermentasi tumbuhan tigarun (*Crataeva nurvala* Buch.-Ham) oleh Rahmi et al. (2016). Pada penelitian tersebut, diungkapkan juga bahwa bakteri asam laktat ini berpotensi sebagai agen antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Diketahui bahwa *Lactobacillus plantarum* dari strain berbeda juga menunjukkan kemampuan daya hambat terhadap bakteri patogen (Wang et al., 2017). Selain itu, bakteri yang berasal dari fermentasi pangan cenderung aman dikonsumsi, utamanya bakteri asam laktat (Skowron et al., 2022)

Adapun, penelitian terkait penghambatan bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen sudah banyak dilakukan sebelumnya baik dalam aplikasi pada Kesehatan maupun di bidang peternakan pakan unggas. Komara et al. (2022) menemukan bahwa *Lactobacillus* sp. Strain KG61 memiliki kemampuan penghambatan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Selanjutnya, Sutrisna et al. (2022) juga membuktikan bahwa bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen Gram positif di usus itik.

Demikian, isolat bakteri asam laktat sangat berpotensi dalam aplikasinya terhadap berbagai bidang. Utamanya, karena jenis bakteri ini umumnya memiliki kemampuan penghambatan bakteri patogen. Kemampuan penghambatan bakteri *Lactobacillus plantarum* JBS4 belum diuji baik secara in

vitro maupun in vivo. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa *Lactobacillus plantarum* memiliki efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen secara in vitro.

2. METODE

Penyiapan isolat *Lac. plantarum* JBS4

Isolat *Lac. plantarum* diremajakan dari biakan murni yang telah dikarakterisasi pada penelitian sebelumnya (Rahmi et al., 2016). Isolat *Lac. plantarum* diambil sebanyak 1-2 ose dari biakan stok. Berikutnya diinokulasikan pada media *MRS Agar* di agar miring dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Isolat yang telah diremajakan disimpan di dalam refrigerator untuk digunakan pada pengujian lanjutan.

Uji daya hambat *Lac. plantarum* JBS4 terhadap bakteri patogen

Bakteri patogen yang digunakan pada penelitian ini adalah *E. coli* ATCC25922 dan *S. aureus* ATCC25923. Pengujian dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan. Satu ose dari satu koloni tunggal isolat bakteri uji (*E. coli* dan *S. aureus*) masing-masing diinokulasikan kedalam media NB 10 mL dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Isolat *Lac. plantarum* diambil 1-2 ose dari biakan di agar miring dan dipindahkan ke media *MRS Agar*, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Satu ose koloni tunggal diambil dari isolat yang telah diinkubasi tersebut, kemudian diinokulasikan ke dalam 10 mL *MRS Broth* dan diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Masing-masing bakteri uji (*E. coli* dan *S. aureus*) diinokulasikan sebanyak 25 μL ke dalam NA dan diratakan menggunakan *cotton swab*. Sumuran dibuat pada media NA cawan dengan menggunakan *cork borer* steril. Sumuran yang telah dibuat di media NA diinokulasikan sebanyak 50 μL suspensi *Lac. plantarum*, kemudian diinkubasi pada 30°C selama 1 x 24 jam. Diameter zona jernih yang terbentuk di sekitar sumuran diukur menggunakan *calliper*. Ukuran diameter zona penghambatan pada masing-masing pengulangan direrata.

Uji interaksi *Lac. Plantarum* JBS4 dengan bakteri nonpatogen

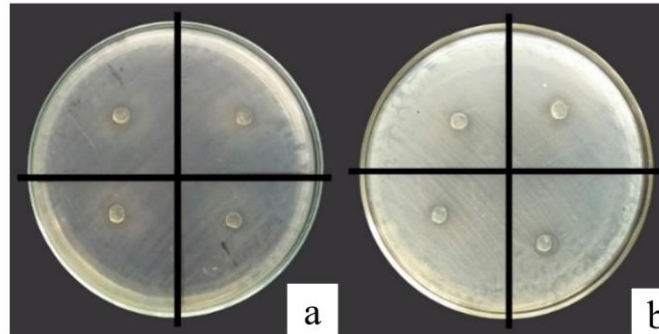
Bakteri nonpatogen yang digunakan pada penelitian ini adalah *Lac. acidophilus* FNCC0051. Isolat *Lac. plantarum* diambil sebanyak 1-2 ose dari biakan di agar miring dan dipindahkan ke media *MRS Agar* dan selanjutnya diinkubasi pada $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Satu ose koloni tunggal diambil dari isolat yang telah diinkubasi tersebut, kemudian diinokulasikan ke dalam 10 mL *MRS Broth* dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 1 x 24 jam. Bakteri *Lac. acidophilus* diinokulasikan sebanyak 50 μL secara *spread plate*. Sumuran dibuat pada media *MRS Agar* cawan dengan menggunakan *cork borer* steril dan diinokulasikan suspensi isolat *Lac. plantarum* sebanyak 50 μL , kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 1 x 24 jam. Interaksi antara koloni isolat bakteri *Lac. plantarum* dan *Lac. acidophilus* diamati, jika terbentuk zona jernih diukur sebagai zona penghambatan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji daya hambat *Lac. plantarum* JBS4 terhadap terhadap *E. coli* ATCC25922 diinterpretasikan sebagai penghambatan terhadap bakteri patogen Gram negatif dan penghambatan terhadap *S. aureus* ATCC25923 diinterpretasikan sebagai penghambatan terhadap bakteri patogen Gram positif. Ukuran diameter zona penghambatan isolat *Lac. Plantarum* JBS4 terhadap masing-masing bakteri patogen disajikan pada (Tabel 1, Gambar 1). Hasil menunjukkan bahwa *Lac. Plantarum* JBS4 mampu menghambat bakteri patogen *E. coli* dan *S. aureus*. Zona penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* lebih besar daripada *E. coli*.

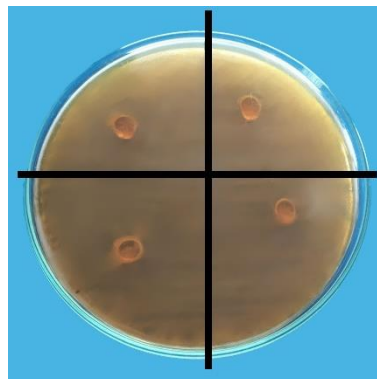
Tabel 1. Rerata Diameter Zona Penghambatan Isolat *Lac. Plantarum* JBS4 Terhadap Bakteri Patogen

Isolat BAL	Isolat bakteri patogen	Rerata ± STDEV (mm)
<i>Lac. plantarum</i> JBS4	<i>E. coli</i> ATCC25922	9,10 ± 0,08
	<i>S. aureus</i> ATCC25923	9,32 ± 0,29



Gambar 1. Zona hambat *Lac. plantarum* JBS4 terhadap *E. coli* (a) dan *S. aureus* (b)

Uji interaksi antara *Lac. plantarum* JBS4 terhadap *Lac. acidophilus* FNCC0051 dilakukan untuk membuktikan bahwa kedua isolat tersebut tidak menghambat pertumbuhan bakteri yang bersifat nonpatogen. Hasil (Gambar 2) menunjukkan bahwa tidak terdapat zona penghambatan pada media *MRS Agar* yang ditumbuhkan *Lac. acidophilus* FNCC0051 setelah ke dalam sumuran diinokulasikan isolat *Lac. plantarum* JBS4 dan diinkubasi pada $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Hal ini membuktikan bahwa secara *in vitro* isolat *Lac. plantarum* JBS4 tidak menghambat pertumbuhan mikroba nonpatogen.



Gambar 2. Interaksi *Lac. plantarum* JBS4 terhadap *Lac. acidophilus* FNCC0051

Besar diameter zona penghambatan pada medium merupakan interpretasi dari besar penghambatan isolat *Lac. plantarum* JBS4 terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Adapun ditinjau dari besar zona penghambatan dan aspek mekanisme aksi penghambatan yang belum dapat dijabarkan, maka dikatakan penghambatan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* oleh isolat tergolong kategori intermediet (Matuschek et al., 2018). Diameter zona penghambatan kedua isolat terhadap *S. aureus* lebih besar daripada *E. coli*, yang mana *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif sedangkan *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif.

Adanya perbedaan besar zona penghambatan terhadap *E. coli* dan *S. aureus* tidak menutup kemungkinan dikarenakan perbedaan struktur membran dan dinding sel dari kedua mikroba tersebut. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks (Kandasamy et al., 2017). Sebagian besar penyusun dinding sel bakteri Gram positif adalah peptidoglikan dengan ketebalan berkisar 30-100 nm,

sedangkan Gram negatif memiliki beberapa lapisan pada dinding selnya berupa membran terluar, periplasma, lapisan tipis peptidoglikan, dan membran dalam (Borisova et al., 2016). Salah satu struktur penyusun dinding sel dari Gram negatif yang memungkinkan bakteri tersebut memiliki proteksi lebih baik terhadap faktor-faktor penghambat pertumbuhan adalah membran terluar dari dinding selnya, yang mana membran terluar ini merupakan lipid bilayer yang memiliki permeabilitas sangat terbatas terhadap senyawa hidrofilik, tidak terkecuali senyawa antimikrob. Membran terluar ini juga berperan dalam sistem pompa ion bakteri Gram negatif, kontrol terhadap keluar dan masuk nutrisi maupun toksin dari lingkungan, dan berperan dalam osmoregulasi (pencegahan lisis sel). Faktor-faktor tersebut yang diduga berpengaruh terhadap daya hambat *Lac. plantarum* JBS4 yang lebih lemah terhadap *E.coli* pada penelitian ini (Kim et al., 2016). Terlepas dari struktur dinding selnya, telah diketahui secara umum bahwa beberapa spesies bakteri Gram negatif memiliki resistensi lebih tinggi terhadap senyawa penghambat pertumbuhan (Breijyeh et al., 2020).

Isolat *Lac. plantarum* JBS4 memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen, tetapi tidak ada efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri nonpatogen. Tidak terdapatnya efek penghambatan kedua isolat terhadap *Lac. acidophilus* FNCC0051 dapat disebabkan oleh karakteristik dan jalur metabolisme yang hampir sama pada kedua isolat bakteri tersebut (Theilmann et al., 2017). Hal ini juga menunjukkan secara in vitro bahwa bakteri *Lac. plantarum* JBS4 dapat tumbuh di lingkungan yang sama dengan bakteri nonpatogen.

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* JBS4 memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli* ATCC25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923 dengan kategori penghambatan intermediet. Zona hambat yang lebih besar terhadap *S. aureus* dibandingkan *E. coli* mengindikasikan bahwa efektivitas penghambatan dipengaruhi oleh perbedaan struktur dinding sel kedua bakteri. Selain itu, *Lac. plantarum* JBS4 tidak menunjukkan efek penghambatan terhadap *Lactobacillus acidophilus* FNCC0051, yang merupakan bakteri nonpatogen, sehingga menunjukkan kompatibilitasnya dalam ekosistem mikroba yang menguntungkan. Dengan demikian, penelitian ini mengonfirmasi potensi *Lac. plantarum* JBS4 sebagai agen antimikroba alami yang selektif terhadap bakteri patogen, sehingga dapat diaplikasikan dalam bidang kesehatan maupun industri pangan fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Borisova, M., Gaupp, R., Duckworth, A., Schneider, A., Dalügge, D., Mühleck, M., Deubel, D., Unsleber, S., Yu, W., Muth, G., Bischoff, M., Götz, F., & Mayer, C. (2016). Peptidoglycan recycling in gram-positive bacteria is crucial for survival in stationary phase. *MBio*, 7(5). <https://doi.org/10.1128/mBio.00923-16>
- Breijyeh, Z., Jubeh, B., & Karaman, R. (2020). Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25061340>
- Kandasamy, S., Vlasova, A. N., Fischer, D. D., Chattha, K. S., Shao, L., Kumar, A., Langel, S. N., Rauf, A., Huang, H. C., Rajashekara, G., & Saif, L. J. (2017). Unraveling the differences between gram-positive and gram-negative probiotics in modulating protective immunity to enteric infections. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 8, Issue MAR). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00334>
- Kim, S., Patel, D. S., Park, S., Slusky, J., Klauda, J. B., Widmalm, G., & Im, W. (2016). Bilayer Properties of Lipid A from Various Gram-Negative Bacteria. *Biophysical Journal*, 111(8), 1750–1760. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.09.001>
- Komara, D., Turnip, M., Kurniatuhadi, R., Program, D., Biologi, S., Matematika, F., Ilmu, D., & Alam, P. (2022). *Potensi Uji Daya Hambat Bakteri Asam Laktat Isolat Lactobacillus sp. (KG61) Terhadap Escherichia coli DAN Staphylococcus aureus* (Vol. 6, Issue 1).
- Matuschek, E., Åhman, J., Webster, C., & Kahlmeter, G. (2018). Antimicrobial susceptibility testing of colistin – evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for

- Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter spp. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(8), 865–870. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.11.020>
- Rahmi, N., Harmayani, E., Santosa, U., & Darmadji, P. (2016). Identifikasi Bakteri Asam Laktat dan Aktivitas Penghambatan Radikal pada Jaruk Tigarun (Crataeva nurvala, Buch Ham) (Identification of Lactic Acid Bacteria and Radical Scavenging Activity in Jaruk Tigarun (Crataeva nurvala, Buch HAM)). *Jurnal Agritech*, 36(03), 317. <https://doi.org/10.22146/agritech.16604>
- Skowron, K., Budzyńska, A., Grudlewska-Buda, K., Wiktorczyk-Kapischke, N., Andrzejewska, M., Walecka-Zacharska, E., & Gospodarek-Komkowska, E. (2022). Two Faces of Fermented Foods—The Benefits and Threats of Its Consumption. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.845166>
- Sutrisna, R., Ekowati, N., & Rahmawati, D. D. (2022). Uji Daya Hambat Isolat Bakteri Asam Laktat Usus Itik (Anas Domestica) Pada Bakteri Gram Positif Dan Pola Pertumbuhan Isolat Bakteri Usus Itik Pada Media Mrs Broth Inhibition Test of Bacterial Isolates Gut Duck (Anas Domestica) on Gram Positive Bacteria and Growth Patterns Isolates on Media Mrs Broth. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 13(1), 52–59.
- Theilmann, M. C., Goh, Y. J., Nielsen, K. F., Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., & Hachem, M. A. (2017). Lactobacillus acidophilus metabolizes dietary plant glucosides and externalizes their bioactive phytochemicals. *MBio*, 8(6). <https://doi.org/10.1128/mBio.01421-17>
- Wang, S., Peng, Q., Jia, H. M., Zeng, X. F., Zhu, J. L., Hou, C. L., Liu, X. T., Yang, F. J., & Qiao, S. Y. (2017). Prevention of Escherichia coli infection in broiler chickens with Lactobacillus plantarum B1. *Poultry Science*, 96(8), 2576–2586. <https://doi.org/10.3382/ps/pex061>