

**PERBANDINGAN BAKTERI ASAM LAKTAT YOGHURT *SINGLE*
DAN *DOUBLE STRAIN* DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
*Shigella dysenteriae***

**THE COMPARISON BETWEEN SINGLE AND DOUBLE STRAIN
YOGHURT LACTIC ACID BACTERIA ON INHIBITING THE
GROWTH OF *Shigella dysenteriae***

**Bella Khoirunisa Prihandini¹, Anriani Puspita Karunia Ning Widhi¹, Nendyah
Roestijawati¹**

¹Fakultas Kedokteran Jenderal Soedirman, Universitas Jenderal Soedirman

ABSTRAK

Disentri adalah penyakit infeksi usus yang ditandai dengan adanya darah dalam feces. Upaya pencegahan salah satunya dengan mengkonsumsi susu fermentasi dalam bentuk yoghurt. Yoghurt merupakan produk susu fermentasi yang menggunakan bakteri asam laktat (BAL). Tujuan penelitian membandingkan BAL *single* dan *double strain* pada yoghurt dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* dengan menghitung zona hambat yang terbentuk. Desain penelitian menggunakan metode *experimental design* dengan *posttest only with control group design*. Bakteri diuji dengan difusi sumuran, sampel yang digunakan sebanyak 15, terbagi dalam 5 kelompok konsentrasi masing-masing 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80%. Rancangan percobaan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), data dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan *Post Hoc Mann Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa median diameter zona hambat BAL untuk yoghurt *double strain Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* > *single strain L. bulgaricus* > *single strain S. thermophilus*. Uji *Kruskal Wallis* memberikan nilai $p=0,002$, terdapat perbedaan antara kelompok yang diberi perlakuan dan tidak diberi perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa median diameter zona hambat signifikan pada beberapa kelompok. Kesimpulan dari penelitian menunjukkan bahwa BAL *double strain* lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* dibandingkan dengan BAL *single strain L. Bulgaricus* maupun *S. Thermophilus*.

Kata kunci: Bakteri asam laktat, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Shigella dysenteriae*.

ABSTRACT

Dysentery is an infectious intestinal disease characterized by the appearance of blood in the stool. One of the prevention efforts is consuming fermented milk as yogurt. Yoghurt is a fermented milk using lactic acid bacteria (LAB). LAB used as single strains of Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, and double strains of S.

thermophilus and *L. bulgaricus*. The purpose of this study was to determine the ratio of LAB of single strain and double strain yoghurt in inhibiting the growth of *Shigella dysenteriae* by calculating the inhibition zone formed. This research used experimental design method with posttest only with control group design. This study uses well diffusion. The total sample was 15, divided into 5 groups with 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80% concentration respectively as controls. The experimental design in this study used the Completely Randomized Design (CRD) method. Data analysis used Kruskal Wallis test and Mann Whitney Post Hoc test. The results show that the average diameter of the LAB inhibition zone for double strains of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* > single strain *L. bulgaricus* > *S. thermophilus*. In the Kruskal Wallis test, the *p* value was obtained = 0.002, it was found that the difference between the treated and untreated groups was obtained. The test results found a significant difference in the median inhibition zone diameter between groups. The conclusion of this study shows that the LAB double strains of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* are better at inhibiting growth *S. dysenteriae* compared to LAB single strains of *L. bulgaricus* or *S. thermophilus* yoghurt.

Keywords: lactic acid bacteria, *lactobacillus bulgaricus*, *streptococcus thermophilus*, *shigella dysenteriae*.

Penulis korespondensi:

Anriani Puspita Karunia Ning Widhi
Fakultas Kedokteran Jenderal Soedirman, Universitas Jenderal Soedirman
Jl. Dr. Gumbreg No.1Purwokerto Kode Pos 53147
Email: anrianipuspita@unsoed.ac.id

PENDAHULUAN

Disentri merupakan diare disertai darah, mukus, dan sel polimorfonuklear di dalam feses. Disentri dapat disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae* yang dikenal dengan istilah disentri basiler (Chang *et al.*, 2016). Kasus disentri basiler yang disebabkan oleh *S. dysenteriae* dapat menyebabkan penyakit disentri paling berbahaya jika dibandingkan dengan infeksi *Shigella* spesies lain (Sjahriani dan Patiyah, 2019). Karakteristik diare yang disebabkan oleh *S. dysenteriae* memiliki manifestasi klinis mirip seperti diare yang disebabkan oleh *Escherichia coli*. Karakteristik khas yang membedakan diare yang disebabkan oleh *E. coli* bersifat sitotonik menginduksi sekresi elektrolit Cl⁻ oleh mukosa usus halus sedangkan diare yang disebabkan oleh *S. dysenteriae* pada usus besar dengan mekanisme dosis infeksius lebih rendah sehingga penyakit yang ditimbulkan lebih berat dibandingkan dengan *E. coli* (WHO, 2018; Pasqua *et al.*, 2017).

Shigella diidentifikasi sebagai patogen utama yang menyebabkan disentri terutama pada anak-anak di seluruh dunia dan mengakibatkan 1,1 juta kematian per tahun, 61% diantaranya adalah anak-anak <5 tahun. Disentri basiler merupakan penyakit endemik di negara berkembang. Data Kemenkes RI (2019) menunjukkan bahwa 29% kematian akibat diare antara usia 1 sampai 4 tahun disebabkan oleh disenti basiler. Penyakit diare yang

perbandingan bakteri asam laktat yoghurt single dan double strain dalam menghambat pertumbuhan *shigella dysenteriae* (bella khoirunisa prihandini)

serius masih menjadi masalah kesehatan di negara berkembang seperti di Indonesia, menurut profil kesehatan Indonesia tahun 2018 jumlah penderita diare balita sebanyak 1.637.708 atau 40,90%. Proporsi kasus diare terpantau di Jawa Tengah tahun 2018 sebesar 62,7%, meningkat dari proporsi tahun 2017 sebesar 55,8% (Dinkes Jateng, 2018).

Data di atas menunjukkan jika kasus diare masih terbilang cukup tinggi, sehingga diperlukan upaya pencegahan. Salah satu upaya pencegahan disentri yaitu dengan mengkonsumsi yoghurt. Yoghurt dapat menggunakan bakteri asam laktat (BAL) *single* atau *double strain* spesifik (Mcfarland, 2020). BAL asam laktat yang digunakan yaitu *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*. Beberapa manfaat BAL yoghurt bagi kesehatan yaitu adanya aktivitas antimikroba berupa asam laktat, bakteriosin, dan H_2O_2 (Fitrianarni *et al.*, 2014). Senyawa antimikroba tersebut mampu menurunkan pH lingkungan, mengganggu permeabilitas membran bakteri patogen, mengurangi infeksi saluran pencernaan, dan sebagai upaya pencegahan penyakit saluran pencernaan seperti disentri basiler (Sari *et al.*, 2018). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan BAL yoghurt *single strain S. thermophilus* atau *L. bulgaricus* dan *double strain S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan berupa *experimental design* dengan *pos test-only with control group design*. Sampel berupa yoghurt dibuat dalam beberapa konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80% yang mengandung BAL *single* atau *double strain* yaitu *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*. Bakteri uji dalam penelitian ini yaitu *Shigella dysenteriae*. Penelitian ini dilakukan secara in-vitro menggunakan metode sumuran. Jumlah pengulangan sampel sebanyak 3 kali dengan total sampel sebanyak 15 sampel. Dalam pembuatan yoghurt *single strain*, masing-masing *strain* dimasukkan ke dalam susu sapi sedangkan yoghurt *double strain*, kedua *strain* BAL dimasukkan ke dalam susu dan diinkubasi selama 24 jam hingga terbentuk yoghurt. Penelitian ini menggunakan media MHA sebagai media uji, penanaman *S. dysenteriae* menggunakan *swab steril* setelah itu dilubangi menggunakan *cork borer* kemudian masing-masing diisi yoghurt sebanyak 60µl dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 6 jam-24 jam. Penghambatan *S. dysenteriae* apabila terbentuk area bening disekitar sumuran. Pengukuran zona hambat menggunakan penggaris satuan mm. Penelitian ini menggunakan uji normalitas *Saphiro Wilk* dan homogenitas *Levene test* ($p>0,05$). Hasil data tidak terdistribusi normal maka menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Post Hoc Mann Whitney*. Analisis data menggunakan *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa $p=0,002$ ($p<0,05$) terdapat perbedaan signifikan diameter zona hambat *S. dysenteriae* yang diberikan. Uji *Post Hoc Mann Whitney* didapatkan hasil pada kelompok konsentrasi 0% terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok perlakuan 20%, 40%, 60%, dan 80% ($p<0,05$) dan terdapat perbedaan signifikan pada beberapa kelompok perlakuan.

Alat dan Bahan

Autoklaf (*All American Model No. 25X*), tabung *erlenmeyer*, cawan petri, jarum ose (*Germany Handle*), *swab steril*, inkubator (*Memmert incubator*), penggaris, neraca digital (*AND EK-1200*), vortex, pH meter, tabung reaksi, tabung ukur, *cork borer*,

mikroskop, termometer, *object glass*, *cover glass*, mikropipet, *becker glass* (Pyrex). *Salmonella shigella* Agar (SSA), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfid Indol Motility* (SIM), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *de Mann Rogosse and Sharpe Broth* (MRSB), *de Mann Rogosse and Sharpe Agar* (MRSA), susu sapi murni, bubuk susu skim, akuades, bakteri *S. dysenteriae* dari stok laboratorium mikrobiologi FK Unsoed diperoleh dari pasien penderita disentri, biakan bakteri asam laktat (*S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*), alkohol 70%, kristal ungu, kalium iodida, safranin, lisol, *emersi oil*, larutan standar *Mc Farland* 0,5, H₂O₂ 3%.

Jalannya Penelitian

Sampel berupa yoghurt dibuat dalam beberapa konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80% yang mengandung BAL *single* atau *double strain* yaitu *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*. Bakteri uji dalam penelitian ini yaitu *Shigella dysenteriae*. Penelitian ini dilakukan secara in-vitro menggunakan metode sumuran. Jumlah pengulangan sampel sebanyak 3 kali dengan total sampel sebanyak 15 sampel. Dalam pembuatan yoghurt *single strain*, masing-masing *strain* dimasukan ke dalam susu sapi sedangkan yoghurt *double strain*, kedua *strain* BAL dimasukan ke dalam susu dan diinkubasi selama 24 jam hingga terbentuk yoghurt. Penelitian ini menggunakan media MHA sebagai media uji, penanaman *S. dysenteriae* menggunakan *swab steril* setelah itu dilubangi menggunakan *cork borer* kemudian masing-masing diisi yoghurt sebanyak 60µl dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 6 jam-24 jam. Penghambatan *S. dysenteriae* apabila terbentuk area bening disekitar sumuran. Pengukuran zona hambat menggunakan penggaris satuan mm. Penelitian ini menggunakan uji normalitas *Saphiro Wilk* dan homogenitas *Levene test* ($p>0,05$). Hasil data tidak terdistribusi normal maka menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Post Hoc Mann Whitney*. Analisis data menggunakan *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa $p=0,002$ ($p<0,05$) terdapat perbedaan signifikan diameter zona hambat *S. dysenteriae* yang diberikan. Uji *Post Hoc Mann Whitney* didapatkan hasil pada kelompok konsentrasi 0% terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok perlakuan 20%, 40%, 60%, dan 80% ($p<0,05$) dan terdapat perbedaan signifikan pada beberapa kelompok perlakuan.

Analisis Data

Analisa data menggunakan analisa univariat dan analisa bivariat. Analisa univariat mendeskripsikan karakteristik variabel yang di uji berupa konsentrasi tiap yoghurt dan pertumbuhan *S. dysenteriae* sedangkan analisa bivariat untuk menentukan perbandingan BAL yoghurt *single strain* dan *double strain* dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*. Data hasil penelitian berupa data kuantitatif dengan skala rasio. Data zona hambat pertumbuhan *S. dysenteriae* merupakan rata-rata diameter terpanjang yang dihasilkan pada fase pertumbuhan jam ke 6 diperoleh dari hasil pengukuran menggunakan M.I.C evaluator oxid, data ditampilkan sebagai median dan kuartil.

Pada penelitian ini pengujian statistik menggunakan uji normalitas data *Saphiro wilk* dan uji homogenitas *Levene test*. Hasil uji normalitas didapatkan bahwa data tidak terdistribusi normal pada beberapa kelompok (lampiran 5) dan hasil uji *Levene test* didapatkan $p=0,003$ menunjukkan data tidak homogen, setelah dilakukan ditransformasi data, didapatkan hasil uji *Saphiro Wilk* pada beberapa kelompok $p<0,05$ dan *Levene test* $p=0,075$ menunjukkan data tidak terdistribusi normal dan homogen. Sehingga uji

signifikansi menggunakan uji Kruskal Wallis. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan diameter zona hambat antar kelompok setidaknya 2 kelompok ditunjukkan oleh $p < 0,05$ (lampiran 6). Hasil dari uji Kruskal Wallis akan di analisis menggunakan Post Hoc Mann Whitney untuk mengetahui antar kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

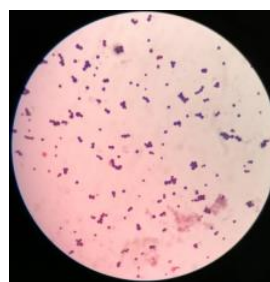
Hasil identifikasi terhadap BAL (*S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*) dan bakteri uji *S. dysenteriae* terangkum pada Tabel 1 dan Gambar 1, Gambar 2, dan Gambar 3.

Tabel 1 Hasil Identifikasi Bakteri

Bakteri	Morfologi Koloni	Morfologi Sel	Uji Biokimia
<i>S. thermophilus</i>	Bulat, tidak sedap, kecil sampai sedang, rata, halus, warna putih susu, cembung.	Cocus atau bulat, warna ungu (gram positif), susunan tunggal maupun berpasangan.	Uji katalase: negatif
<i>L. bulgaricus</i>	Bulat, tidak sedap, kecil sampai sedang, rata, halus, putih susu, cembung.	Batang, berwarna ungu, bakteri gram positif, susunan tunggal maupun berpasangan	Uji katalase: negatif
<i>S. dysenteriae</i>	Bulat, tidak sedap, kecil sampai sedang, rata, halus, putih pucat, cembung	Batang, warna merah bakteri gram negatif susunan tunggal atau berpasangan	Uji TSIA Slant : merah Butt : Kuning (memfermentasi glukosa) Uji SIM Sulfide : tidak terbentuk H_2S Indol: positif (terbentuk cincin merah) Motility: tidak motil



(A)

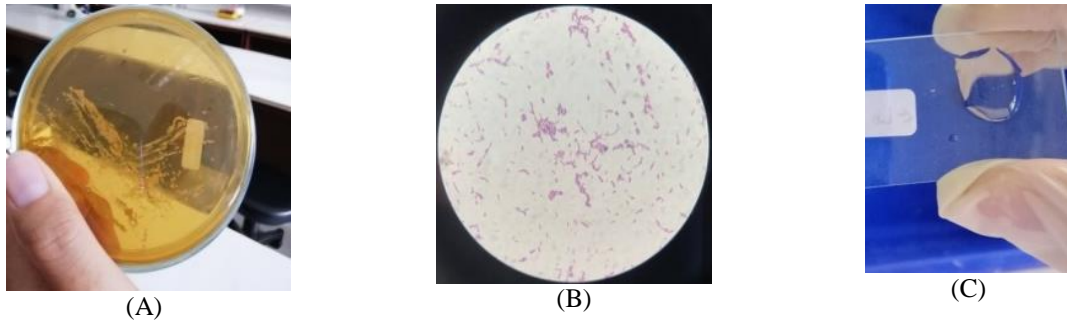


(B)

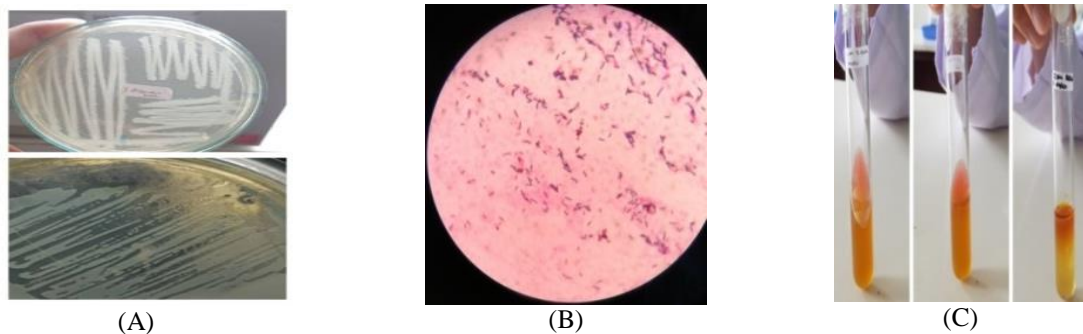


(C)

Gambar 1. A. Morfologi Koloni; B. Morfologi Sel; C. Uji katalase *S. thermophilus*



Gambar 2 A. Morfologi koloni; B Morfologi sel;; C Uji katalase bakteri *L.bulgaricus*



Gambar 3 A. Morfologi koloni; B. Morfologi sel; C. Uji TSIA dan SIM) bakteri *S.dysenteriae*

Uji keasaman yoghurt pada masing-masing jenis dan konsentrasi yoghurt diukur menggunakan pH meter. Uji tingkat keasaman yoghurt dari masing-masing jenis dan konsentrasi yoghurt tertera pada tabel 2.

Tabel 2. Uji Tingkat Keasaman Yoghurt

Yoghurt	Konsentrasi	pH
Lb	0%	6,8
	20%	4,4
	40%	4,3
	60%	4,3
	80%	4,2
St	0%	6,8
	20%	4,4
	40%	4,4
	60%	4,3
	80%	4,3
Ds	0%	6,8
	20%	4,3
	40%	4,2
	60%	4,1
	80%	4,1

Keterangan:

Lb : *L. bulgaricus*

perbandingan bakteri asam laktat yoghurt single dan double strain dalam menghambat pertumbuhan shigella dysenteriae (**bella khoirunisa prihandini**)

St : *S. thermophilus*

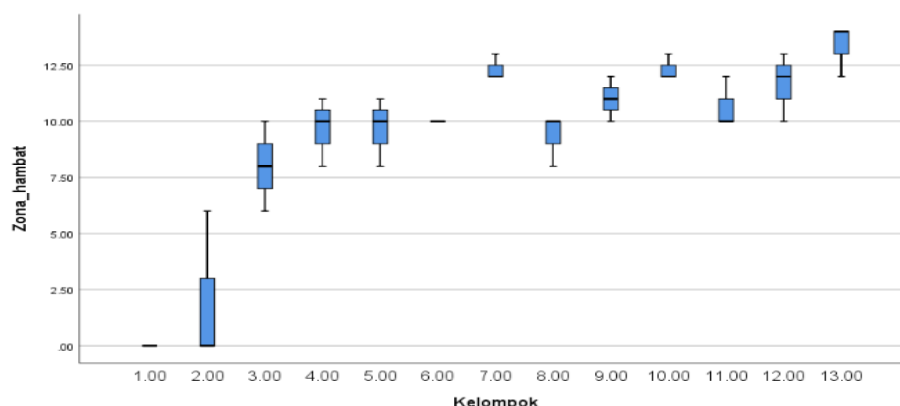
Ds : Double Strain (*L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*)

Hasil pengukuran tingkat keasaman yaitu pH yoghurt *double strain* lebih rendah jika dibandingkan dengan yoghurt *single strain*. Sedangkan, perbandingan yoghurt pada *single strain* antara *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* yaitu *L. Bulgaricus* memiliki pH yang lebih rendah.

Zona hambat BAL yoghurt terhadap penghambatan pertumbuhan *S. dysenteriae* diukur dengan menghitung diameter zona hambat terpanjang pada jam ke 6 fase pertumbuhan. Pada jam tersebut telah terlihat zona hambat yang dihasilkan dan data menunjukkan zona hambat jam ke 6 lebih luas dibandingkan dengan jam ke 12, 16, dan 18. Hasil pengukuran diameter zona hambat yoghurt *single strain* dan *double strain* pada setiap cawan ditampilkan sebagai median dan quartil zona hambat. Hasil analisis univariat ditampilkan dalam bentuk median zona hambat dan quartil menunjukkan peningkatan median zona hambat BAL *single strain* dan *double strain* mencakup data median dan quartil disajikan dalam tabel 3.

Tabel 3. Median (Q1-Q3) zona hambat yoghurt terhadap *S. Dysenteriae*

Variabel	ΣSampel	Median (Q1-Q3)
K1 0%	3	0 (0-0)
K2 St 20%	3	0 (0-6)
K3 Lb 20%	3	8 (6-10)
K4 Ds 20%	3	10 (8-11)
K5 St 40%	3	10 (8-11)
K6 Lb 40%	3	10 (10-10)
K7 Ds 40%	3	12 (12-13)
K8 St 60%	3	10 (8-10)
K9 Lb 60%	3	11 (10-12)
K10 Ds 60%	3	12 (12-13)
K11 St 80%	3	10 (10-12)
K12 Lb 80%	3	12 (10-13)
K13 Ds 80%	3	14 (12-14)



Gambar 4. Perbandingan zona hambat penghambatan antar kelompok yoghurt terhadap *S. dysenteriae* pada konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80%

Grafik tersebut menunjukkan perbandingan median dan quartil penghambatan antar kelompok yoghurt terhadap *S. dysenteriae* pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan nilai median zona hambat yang terbentuk pada setiap kelompok paling tinggi berasal dari kelompok K13, K10, K7, dan K4 BAL yoghurt *double strain* konsentrasi 80%,60%,40%,20% yang diikuti oleh kelompok K12, K9, K6, dan K3 BAL yoghurt *single strain L. bulgaricus* konsentrasi 80%,60%,40%,20%, pada urutan terakhir pada kelompok K11, K8, K5, dan K2 BAL yoghurt *single strain S. thermophilus* konsentrasi 80%,60%,40%,20%. Namun, beberapa konsentrasi yoghurt yaitu pada K5 (yoghurt *single strain S. thermophilus*) konsentrasi 40% dan K6 (yoghurt *single strain L. bulgaricus*) konsentrasi 40% memiliki median zona hambat yang sama yaitu 10 mm.

Analisis bivariat meliputi hasil uji normalitas dan homogenitas setelah ditransformasi. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan perbedaan median diameter zona hambat pada minimal dua kelompok perlakuan, yaitu nilai $p=0,002$ ($p<0,05$) artinya H_1 diterima dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Mann Whitney* untuk menentukan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan.

Tabel 4. Uji Post Hoc Mann Whitney

Variabel	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10	K11	K12	K13
Variabel												
K1	0,317	0,037*	0,037*	0,037*	0,025*	0,034*	0,034*	0,037*	0,034*	0,034*	0,037*	0,034*
K2		0,072	0,046*	0,046*	0,034*	0,043*	0,043*	0,046*	0,043*	0,043*	0,046*	0,043*
K3			0,261	0,261	0,121	0,046*	0,346	0,077	0,046*	0,105	0,077	0,046*
K4				1,000	1,000	0,046*	0,637	0,261	0,0486*	0,487	0,184	0,046*
K5					1,000	0,046*	0,637	0,261	0,046*	0,487	0,184	0,046*
K6						0,034*	0,317	0,121	0,034*	0,317	0,121	0,034*
K7							0,043*	0,105	1,000	0,099	0,637	0,239
K8								0,105	0,043*	0,197	0,105	0,043*
K9									0,105	0,637	0,500	0,072
K10										0,099	0,637	0,239
K11											0,346	0,068
K12												0,178

Tabel 4. uji *Post Hoc Mann Whitney* didapatkan hasil yang signifikan terhadap median diameter zona hambat ($p<0,05$) pada kelompok kontrol K1 dengan kelompok perlakuan yang diberi yoghurt *single strain S. thermophilus* (K2, K5, K8, K11), *single strain L. bulgaricus* (K3, K6, K9, K12), dan *double strain* (K4, K7, K10, K13). K2 *single strain S. thermophilus* 20% dengan *single strain L. bulgaricus* 40%,60%,80% (K6, K9, K12), *single strain S. thermophilus* 40%,60%,80% (K5, K8, K11), dan *double strain* 20% (K4). K3 *single strain L. bulgaricus* 20% dengan *double strain* 40%,60%,80% (K7, K10, K13). K4 *double strain* 20% dengan *double strain* 40%,60%,80% (K7, K10, K13). K5 *S. thermophilus* 40% dengan *double strain* 40%,60%,80% (K7, K10, K13). K6 *single strain L. bulgaricus* 40% dengan *double strain* 40%, 60%, 80% (K7, K10, K13). K7 *double strain* 40% dengan *single strain S. thermophilus* 60% (K11). K8 *single strain S. thermophilus* 60% dengan *double strain* 60%, 80% (K10, K13).

Hasil dari perhitungan zona hambat *S. dysenteriae* didapatkan nilai $p < 0,002$ ($p < 0,05$) artinya pemberian berbagai konsentrasi yoghurt yang mengandung BAL *single strain S. thermophilus*, *single strain L. bulgaricus*, dan *double strain (S. thermophilus dan L. bulgaricus)* dapat mempengaruhi pertumbuhan koloni *S. dysenteriae*. Pada uji lanjut *Post-Hoc Mann Whitney* terdapat perbedaan signifikan pada beberapa kelompok. Hal tersebut menunjukkan bahwa intervensi yang dilakukan memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*.

Hasil median diameter zona hambat dan kuartil digunakan untuk menentukan jenis yoghurt yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*. Terdapat 3 jenis yang digunakan dalam penelitian yaitu yoghurt St, Lb, dan Ds dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 0% sebagai kontrol. Median (Q1-Q3) zona hambat pada konsentrasi 20% yoghurt Ds > Lb > St masing-masing 10 (8-11) mm > 8 (6-10) mm > 0 (0-6) mm. Median zona hambat pada konsentrasi 40% yoghurt Ds > Lb > St masing-masing memiliki zona hambat yaitu 12 (12-13) mm > 10 (10-10) mm > 10 (8-11) mm. Median (Q1-Q3) zona hambat pada konsentrasi 60% yoghurt Ds > Lb > St masing-masing 12 (12-13) mm > 11 (10-12) mm > 10 (8-10) mm. Median zona hambat pada konsentrasi 80% yoghurt Ds > Lb > St masing-masing 14 (12-14) mm > 12 (10-13) mm > 10 (10-12) mm. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa yoghurt Ds ditetapkan memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*.

Zona hambat yang terbentuk menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri *S. dysenteriae* disebabkan oleh aktivitas BAL. Yoghurt *double strain* memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae*. Aktivitas kombinasi BAL *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* pada yoghurt *double strain* kedua bakteri ini bersinergis dalam menghambat bakteri patogen *S. dysenteriae* dengan menghasilkan zat-zat anti mikroba. Terdapat 4 mekanisme BAL dalam menghambat *S. dysenteriae* yaitu perubahan pH lingkungan, kerusakan membran sel, kegagalan pompa proton, dan penghambatan biosintesis protein. Zat anti mikroba yang dihasilkan berupa asam laktat, H_2O_2 , dan bakteriosin.

Asam laktat mudah berpenetrasi ke dalam sel bakteri sehingga dapat merusak membran luar *S. dysenteriae* yang menyebabkan bakteriosin, H_2O_2 masuk ke dalam membran sitoplasma dan menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* (Rahmiati dan Mumpuni, 2017). Selain itu, pH asam dapat menyebabkan proses depurinisasi materi genetik yang menyebabkan hilangnya materi genetik. Adanya ion H^+ yang terbentuk menyebabkan rendahnya pH lingkungan sehingga kurang sesuai dengan tempat tumbuhnya *S. dysenteriae*. pH optimum *S. dysenteriae* yaitu pH 7,4 (An *et al.*, 2017; Sharma *et al.*, 2017). H_2O_2 merupakan oksidator yang kuat mengakibatkan oksidasi membran sel bakteri, yaitu gugus sulfhidril dari protein yang mengakibatkan terjadinya denaturasi sejumlah enzim dan terjadi peningkatan permeabilitas membran patogen melalui mekanisme peroksidase lemak membran sel (Tian *et al.*, 2018). Bakteriosin *termophilin* dan *bulgarican*, penempelan bakteriosin pada membran sel akan mempengaruhi permeabilitas sehingga sel kehilangan

proton seiring dengan perubahan gradien pH pada membran sel. Hal ini menyebabkan rusaknya molekul yang berperan sebagai penyusun sintesis protein dalam sel dan memiliki kemampuan memodifikasi ribosom sehingga dapat menghambat bakteri gram negatif (Bali *et al.*, 2016).

BAL yoghurt *single strain L. bulgaricus* memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* dibandingkan dengan *S. thermophilus*. Hal ini dikarenakan faktor pH yang lebih rendah. *L. bulgaricus* mengubah laktosa menjadi asam laktat. Asam laktat merupakan metabolit primer yang dihasilkan pada fase logaritmik, *L. bulgaricus* tumbuh dalam pH optimal yaitu 5,2-5,5 dan pertumbuhannya akan terhenti pada pH 3,8-4. Pada pH 5 selama fase logaritmik viabilitas (aktivitas enzimatis) serta aktivitas pengasaman lebih tinggi dan lebih stabil selama pertumbuhan. Selama fase logaritmik, pertumbuhan *L. bulgaricus* mencapai puncak sehingga asam laktat yang dihasilkan maksimal (Bostan *et al.*, 2017; Stephens dan Turner, 2015). Kelangsungan hidup dan aktivitas proteolitik *L. bulgaricus* berkontribusi pada pengasaman yoghurt sehingga pH yang dihasilkan lebih rendah jika dibandingkan dengan *S. thermophilus* (Tian *et al.*, 2018).

Bakteriosin merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan pada fase stationer. Bakteriosin *bulgarican* (bakteriosin kelas III) merupakan modifikasi ribosomal bakteri yang memiliki spektrum aktivitas antibakteri. *Bulgarican* memiliki aktivitas hidrolitik menghambat sintesis dinding sel, sehingga mampu melisis bakteri gram positif dengan peptidoglikan yang tebal. *Active peptides* melintasi membran sitoplasma dengan *adenosine tri-phosphate-binding cassette transporters (ABC transporters)* menginduksi pembentukan pori-pori sehingga dapat menghambat sel patogen. Target utama yaitu integritas membran bakteri dan membran sitoplasma patogen yang sensitif (Bali *et al.*, 2016; Sieuwerts, 2016).

S. thermophilus dan *L. bulgaricus* tumbuh secara sinergis. Diawali oleh pertumbuhan *S. thermophilus* dengan pertumbuhan optimal pada pH 6,5 mendekati pH susu yaitu 6,6 - 6,8 dan pertumbuhannya terhenti ketika keasaman mencapai pH 4,2-4,4. Asam laktat terbentuk lebih awal pada yoghurt *S. thermophilus* dibandingkan yoghurt *L. Bulgaricus* (Anondita dan Soyi, 2017; Stephens dan Turner, 2015). Namun, yoghurt yang dihasilkan *single strain S. thermophilus* memiliki pH yang lebih tinggi dibandingkan *single strain L. bulgaricus* dikarenakan *S. thermophilus* memiliki aktivitas proteolitik yang lemah dan hanya memanfaatkan penggunaan asam amino serta *small peptide* yang terdapat dalam susu untuk mendukung pertumbuhan optimalnya (Bostan *et al.*, 2017). Sehingga pH yang dihasilkan tidak lebih asam daripada yang dihasilkan oleh *L. bulgaricus*, oleh karena itu kemampuan menghambatnya lebih rendah. *S. thermophilus* menghasilkan bakteriosin *thermophilin* (bakteriosin kelas II b), peptida bakteriosin *thermophilin* mempengaruhi permeabilitas membran sel target depolarisasi dengan bocornya ion serta penurunan konsentrasi ATP intraseluler (Bali *et al.*, 2016).

Faktor lain yang mempengaruhi selain dari zat antimikroba yang dihasilkan yaitu faktor lingkungan. *S. dysenteriae* dapat tumbuh pada kisaran pH 7,4, suhu 37°C. Intervensi yang

perbandingan bakteri asam laktat yoghurt single dan double strain dalam menghambat pertumbuhan shigella dysenteriae (bella khoirunisa prihandini)

diberikan pada penelitian ini berupa yoghurt pada setiap kelompok perlakuan dengan konsentrasi yoghurt yang berbeda-beda dan memberikan nilai pH di bawah optimum pertumbuhan *S. dysenteriae* (Sari *et al.*, 2018; Sharma *et al.*, 2017).

K5 dan K6 memiliki median yang sama yaitu 10, K7 dan K10 memiliki median yang sama yaitu 12, serta K5 dan K8 memiliki median yang sama yaitu 10. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi ketebalan media, inokulum, dan laju difusi yoghurt dalam media (Haryati *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

BAL yoghurt *double strain* (*S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*) merupakan BAL yogurt yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* dibandingkan BAL *single strain* *S. thermophilus* atau *single strain* *L. bulgaricus* sedangkan, BAL yoghurt *single strain* *L. bulgaricus* lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *S. dysenteriae* dibandingkan BAL yoghurt *single strain* *S. thermophilus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Anriani Puspita Karunia Ning Widhi, S.Si., M.Si dan Dr. dr. Nendyah Roestijawati, M.K.K, yang telah membimbing, memberi masukan, dan saran selama penelitian sehingga penelitian ini berjalan lancar dan selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- An, R., Dong, P., Komiyama, M., Pan, X., & Liang, X. 2017. Inhibition of Nonenzymatic Depurination of Nucleic Acids by Polycations. *Federation of European Biochemical Societies*. 7 (1): 1707–1714.
- Anindita, N. S., & Soyi, D. S. 2017. Studi kasus: Pengawasan Kualitas Pangan Hewani melalui Pengujian Kualitas Susu Sapi yang Beredar di Kota Yogyakarta. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*. 19 (2): 93.
- Bali, V., Panesar, P. S., Bera, M. B., Kennedy, J. F., Bali, V., Panesar, P. S., Bera, M. B., dan Kennedy, J. F. 2016. Bacteriocins : Recent Trends and Potential Applications Bacteriocins : Recent Trends and Potential Applications. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 56 (1): 817-834.
- Bostan, K., Unver Alcay, A., Yalçın, S., Eren Vapur, U., & Nizamlioglu, M. 2017. Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Cone Yoghurt. *Food Science and Biotechnology*. 26 (6). 1625–1632.
- Chang, Z., Zhang, J., Ran, L., Sun, J., Liu, F., Luo, L., Zeng, L., Wang, L., Li, Z., Yu, H., & Liao, Q. 2016. The Changing Epidemiology of Bacillary Dysentery and Characteristics of Antimicrobial Resistance of *Shigella* Isolated in China from 2004-2014. *BMC Infectious Diseases*. 16(1). 1–10.
- Darna, Turnip, M., dan Rahmawati. 2018. Identifikasi Bakteri Anggota Enterobacteriaceae pada Makanan Tradisional Sotong Pangkong. *Jurnal Labora Medika*. 2(2). 6–12.
- Fitrianarni, D., Ibrahim, M., dan Trimulyono, G. 2014. Aktivitas Antibakteri Yoghurt Susu Sapi dan Yoghurt Susu Kedelai terhadap *Shigella dysenteriae* secara In Vitro. *LenteraBio*. 3(1). 97–102.
- Haryati, S. D., Darmawati, S., dan Wilson, W. 2017. Perbandingan Efek Ekstrak Buah

- Alpukat (*Persea Americana Mill*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang*. 1(1). 348–352.
- Kemenkes RI. 2019. Profil Kesehatan Indonesia 2018. Kementrian Republik Indonesia.
- Linares, D. M., Callaghan, T. F. O., Connor, P. M. O., Ross, R. P., & Stanton, C. 2016. *Streptococcus thermophilus APC151* Strain is Suitable for the Manufacture of Naturally GABA-Enriched Bioactive Yogurt. *Frontier In Microbiology*. 7(1): 1–9.
- Mahmood, T., Masud, T., Ali, S., Abbasi, K. S., & Liaquat, M. 2015. Optimization and Partial Characterization of Bacteriocin Produced by *Lactobacillus bulgaricus* - *TLBFT06* Isolated from Dahi. 1(1): 1-6.
- Mcfarland, L. V. 2020. Efficacy of Single - Strain Probiotics Versus Multi - Strain Mixtures : Systematic Review of Strain and Disease Specificity. *Digestive Diseases and Sciences*, 1 (1):1-11.
- Putri, A. A. Erina, dan Fakhurrazi. 2018. Isolasi Bakteri Asam Laktat Genus *Lactobacillus* Dari Feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*). *Jurnal Ilmiah Veteriner* . 2(1): 170–176.
- Rahman, I. R., Nurkhasanah, dan Kumalasari, I. 2019. Optimasi Komposisi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada Yogurt Terfortifikasi Buah Lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin) sebagai Antibakteri terhadap *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(2). 99–106.
- Rahmiati, R., dan Mumpuni, M. 2017. Eksplorasi Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik Dan Potensinya Dalam Menghambat Bakteri Patogen. *Journal of Islamic Science and Technology*. 3(2), 141–150.
- Sari, N., Erina, Abrar, M., Wardani, E., Fakhurrazi, & Daud, R. 2018. Isolasi dan Identifikasi *Salmonella Sp* dan *Shigella Sp* pada Feses Kuda Bendi. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2(3). 401–410.
- Sharma, C., Singh, B. P., Thakur, N., Gulati, S., Gupta, S., Mishra, S. K., & Panwar, H. 2017. Antibacterial Effects of *Lactobacillus* Isolates of Curd and Human Milk Origin Against Food-Borne and Human Pathogens. *Biotech Springer Berlin Heidelberg*. 7(1): 1–9.
- Sieuwerts, S. 2016. Microbial Interactions in the Yoghurt Consortium: Current Status and Product Implications. *Symbiosis Online Journal Microbiology and Infectious Diseases*. 4(2): 1–5.
- Stephens, J., dan Turner, D. 2015. *Streptococcus thermophilus* Bacteraemia in a Patient with Transient Bowel Ischaemia Secondary to Polycythaemia. *Journal Imact Prediction System Case Reports*. 2(3). 1–3.
- Surono, I. S. 2016. Probiotik, Mikroorganisme dan Pangan Fungsional. Yogyakarta: CV. Budi Utama.
- Tian, H., Li, B., Evivie, S. E., dan Sarker, S. K. 2018. Technological and Genomic Analysis of Roles of the Cell-Envelope Protease PrtS in Yoghurt Starter Development. *International Journal of Molecular Science*. 1(1) 1–17.