



Uji Daya Hambat Filtrat *Lactobacillus gasseri* Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Genitalia Wanita

Annisa Tamara Husna¹, Netti Suharti², Gardenia Akhyar³, Andani Eka Putra², Syamel Muhammad⁴, Ilmiawati⁵

¹ S1 Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang, 25163, Indonesia

² Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang 25163, Indonesia

³ Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang 25163, Indonesia

⁴ Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang 25163, Indonesia

⁵ Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang 25163, Indonesia

ABSTRACT

Abstrak

Latar Belakang: *Lactobacillus gasseri* merupakan salah satu jenis bakteri terbanyak ditemukan pada vagina wanita yang dapat menghasilkan bakteriosin sebagai senyawa antibakteri. Bakteriosin dijadikan alternatif melawan bakteri yang resisten terhadap antibiotik, salah satunya *Staphylococcus aureus*. Selain itu, *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab vaginitis aerobik yang diteliti dapat membahayakan kehamilan hingga persalinan.

Objektif: Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) sebagai indikator untuk melihat kemampuan filtrat bakteriosin *Lactobacillus gasseri* dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Metode: Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-November 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dan Laboratorium Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi Fakultas Kedokteran Unand. Sampel penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari swab vagina yang dikultur di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Penelitian dilakukan dengan teknik dilusi dan Real Time PCR dengan desain penelitian rancangan acak lengkap.

Hasil: Nilai KHM dari filtrat bakteriosin *Lactobacillus gasseri* terhadap *Staphylococcus aureus* diperoleh pada konsentrasi >20% dan <40%, sedangkan nilai kadar bunuh minimal (KBM) diperoleh pada konsentrasi 40%.

Kesimpulan: Filtrat bakteriosin *Lactobacillus gasseri* memiliki efek bakteriostatik dan bakterisidal terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dipengaruhi oleh konsentrasi dari filtrat bakteriosin *Lactobacillus gasseri*.

Kata kunci: bakteriosin, *Lactobacillus gasseri*, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Background: *Lactobacillus gasseri* is one of the most prevalent types of bacteria found in the vaginal flora of women, capable of producing bacteriocins as antibacterial compounds. Bacteriocins serve as an alternative to combat bacteria that are resistant to antibiotics, such as *Staphylococcus aureus*. Additionally, *Staphylococcus aureus* is identified as one of the causes of aerobic vaginitis, which research has shown can pose risks to pregnancy and childbirth.

Objective: The aim of this study was to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) as indicators to assess the inhibitory capability of *Lactobacillus gasseri* bacteriocin filtrate against the growth of *Staphylococcus aureus*.

Methods: This research was conducted between May and November 2023 at the Microbiology Laboratory of the Faculty of Medicine, Andalas University, and the Diagnostic and Research Center for Infectious Diseases at the Faculty of Medicine, Andalas University. The study utilized *Staphylococcus aureus* samples obtained from vaginal swabs cultured in the Microbiology Laboratory of the Faculty of Medicine, Universitas Andalas. The research employed dilution techniques and Real-Time PCR with a randomized complete block design.

Results: The MIC values of *Lactobacillus gasseri* bacteriocin filtrate against *Staphylococcus aureus* was obtained at concentrations >20% and <40%, while the MBC values was obtained at a concentration of 40%.

Conclusion: The bacteriocin filtrate of *Lactobacillus gasseri* exhibits bacteriostatic and bactericidal effects on the growth of *Staphylococcus aureus*, which are influenced by the concentration of the *Lactobacillus gasseri* bacteriocin filtrate.

Keyword: bacteriocin, *Lactobacillus gasseri*, *Staphylococcus aureus*

Apa yang sudah diketahui tentang topik ini?

Filtrat bakteriosin *L.gasseri* memiliki efek bakteriostatik dan bakterisidal terhadap *S. aureus*

Apa yang ditambahkan pada studi ini?

Mengetahui kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari filtrat bakteriosin *L.gasseri* terhadap pertumbuhan *S. aureus*

CORRESPONDING AUTHOR

Phone: +6281275859334

E-mail: tamarahusna.annisa@yahoo.co.id

ARTICLE INFORMATION

Received: August 30th, 2023

Revised: June 24th, 2024

Available online: December 22nd, 2024

Pendahuluan

Lactobacillus merupakan salah satu flora normal yang paling banyak ditemukan pada vagina yang sehat. *Lactobacillus* berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan virus serta mengatur homeostasis vagina. *Lactobacillus* juga merupakan salah satu bakteri asam laktat (BAL) yang bekerja untuk menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida, peptida antimikroba, dan bakteriosin dalam mempertahankan kestabilan lingkungan vagina.¹ Penurunan *Lactobacillus* dapat menyebabkan ketidakseimbangan lingkungan vagina sehingga dapat terjadi infeksi vagina yang meningkatkan kerentanan terhadap penyakit menular seksual.² Salah satu infeksi vagina adalah *bacterial vaginosis* (BV) yang berhubungan dengan beberapa bakteri anaerob fakultatif, yang dapat disebabkan oleh *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium sp*, *Prevotella sp*, *Bacteroides sp*, *Mobiluncus sp*, *Sneathia sp*, *Leptotrichia sp*, *Peptostreptococcus sp* dan *Mycoplasma genital*, seperti *Mycoplasma hominis* dan *Ureaplasma urealyticum*. Infeksi vagina lainnya ada *aerobic vaginitis* (AV) sering disebabkan oleh bakteri aerob, yaitu *Staphylococcus Aureus*, *E.coli*, dan *E.faecalis* serta yang terakhir adalah *vulvovaginal candidiasis* (VC) yang disebabkan oleh *Candida albicans*, *Candida glabrata*, dan *Candida tropicalis*.³

Dalam vagina wanita sehat, terdapat lebih dari 20 jenis bakteri *Lactobacillus* yang menghasilkan asam laktat, termasuk *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus iners*, dan *Lactobacillus jensenii*.⁴ Salah satu spesies yang banyak ditemukan pada vagina wanita sehat adalah spesies *Lactobacillus gasseri*.⁵ Selain menghasilkan asam laktat dan peptida antimikroba, *Lactobacillus gasseri* juga menghasilkan *gassericin E* yang merupakan sebuah bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi vagina yang salah satunya adalah *Staphylococcus aureus*.⁶

Bakteriosin merupakan peptida yang dapat meningkatkan permeabilitas membran dengan

cara membentuk pori-pori bakteri patogen, menghambat proses transkripsi DNA, dan menginduksi produksi spesies oksigen reaktif di dalam sel.⁷ Bakteriosin dihasilkan dengan cara disintesis oleh ribosom yang dimiliki oleh bakteri.⁸ Bakteriosin menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan cara mengikat lipid II yang merupakan prekursor dalam sintesis dinding sel bakteri.⁶ Bakteriosin memiliki sifat yang tahan terhadap suhu tinggi, dapat hidup di lingkungan yang memiliki pH asam atau netral, dan peka terhadap enzim proteolitik.⁹

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram-positif yang sering menyebabkan infeksi dengan tingkat keparahan yang berbeda-beda. *Staphylococcus aureus* dapat berkolonisasi dan menginfeksi kulit, saluran pernapasan, saluran kemih, sistem reproduksi, saluran pencernaan, dan beberapa yang paling parah adalah dapat menyebabkan infeksi aliran darah, endokarditis, osteomielitis, dan *necrotizing fasciitis*.¹⁰ Salah satu penyebab infeksi yang mengenai vagina adalah tumbuhnya *Staphylococcus aureus* yang biasanya disebut dengan vaginitis aerobik. Hal ini ditandai dengan atrofi epitel vagina dan peningkatan respon inflamasi sehingga dapat menimbulkan gejala keputihan, kemerahan pada mukosa vagina, dan dispareunia. Pada beberapa studi telah melaporkan untuk insiden vaginitis aerobik berkisar antara 5 sampai 80% yang ditentukan oleh berbagai macam faktor sosial-demografis, seperti status sosial ekonomi, etnis, dan letak geografis.¹¹ Pada infeksi vagina, terdapat 5 sampai 10 % wanita tidak hamil yang mengalami vaginitis aerobik, sedangkan pada wanita yang hamil prevalensi vaginitis aerobik berkisar dari 8 sampai 11% dan pada wanita yang memiliki keluhan pada sistem reproduksi berkisar dalam rentang 5 sampai 24%.¹² Telah diteliti juga bahwa vaginitis aerobik dapat membahayakan kehamilan hingga persalinan karena menyebabkan ketuban pecah dini, keguguran, persalinan yang prematur, dan anak lahir mati.¹³

Staphylococcus aureus juga dapat menyebabkan *mixed infection* dengan mikroba lain baik secara fenotip maupun mekanisme, seperti *Candida albicans*, *Virus influenza A*, *Acinetobacter baumannii*, dan bahkan sindrom pernafasan akut parah *Coronavirus 2* (SARS-CoV2).¹⁴ Pada penelitian sebelumnya, *mixed infection* oleh *Staphylococcus aureus* dengan *Candida albicans* secara in vivo dan in vitro menunjukkan bahwa terjadi interaksi dan penempelan yang sinergis sehingga meningkatkan afinitas *Staphylococcus aureus* terhadap pembentukan hifa dari *Candida albicans*. Dengan adanya interaksi polimikrobial ini dapat meningkatkan keparahan penyakit dan hasil klinis yang lebih buruk.¹⁵

Masalah utama dari infeksi *Staphylococcus aureus* adalah terjadinya perkembangan yang cepat terhadap resistensi antibiotik. Hal ini menjadi serius karena lebih dari 10 juta kematian tahunan disebabkan oleh penyakit resisten antibiotik. Telah diprediksi pada tahun 2050, jumlah tersebut dapat melampaui jumlah kematian yang disebabkan oleh kanker.¹⁶ Insidensi vaginitis aerobik di seluruh dunia juga sangat berkaitan dengan munculnya fenomena resistensi antimikroba.¹¹ Resistensi antibiotik ini terjadi karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan. Salah satu resistensi antibiotik oleh bakteri *Staphylococcus aureus* adalah *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang menjadi ancaman bagi kesehatan masyarakat. Dengan tingginya angka resistensi bakteri tersebut, diperlukan alternatif lain yang berpotensi sebagai antimikroba, yaitu dengan memanfaatkan bahan alam berupa bakteriosin. Kelebihan senyawa ini dibandingkan dengan senyawa antibakteri lainnya adalah memiliki toksisitas yang rendah, bekerja secara selektif, aman digunakan, dan mampu mencegah terjadinya resistensi.¹⁷

Bakteriosin dapat mengeluarkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri yang resisten antibiotik, seperti *multidrug-resistant* (MDR) *Staphylococcus aureus* hal ini juga dibuktikan dari terbentuknya zona hambat bakteriosin terhadap *Staphylococcus aureus* yang berkisar antara 22,5 mm hingga 24,3 mm.¹⁸ Mekanisme bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah dengan menargetkan dan menempel pada membran sitoplasma dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang disebut dengan interaksi elektrostatis. Interaksi ini terjadi karena

molekul bakteriosin yang memiliki muatan positif dan membran sel *Staphylococcus aureus* yang bermuatan negatif. Bakteriosin akan membentuk pori-pori pada membran sel *Staphylococcus aureus* ketika terjadi penempelan antara keduanya sehingga dapat menyebabkan kerusakan metabolit dan penurunan *Proton Motif Force* (PMF) dari *Staphylococcus aureus*. Penurunan dari PMF akan membuat terhentinya pembentukan energi yang berakhir dengan sel *Staphylococcus aureus* menjadi mati karena fungsi PMF dalam mengatur sintesis *Adenosine Triphosphate* (ATP) terganggu akibat dari aktivitas bakteriosin tersebut.¹⁸ Mekanisme ini juga terjadi karena bakteriosin yang mengeluarkan efek bakteristatik dan bakterisidal terhadap *Staphylococcus aureus*. Bakteriosin dikatakan bersifat bakteristatik apabila hanya dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* tanpa membunuhnya, sedangkan bakteriosin yang bersifat bakterisidal adalah dapat membunuh *Staphylococcus aureus*. Dengan potensi yang dimiliki bakteriosin sebagai bakterisidal dan bakteristatik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, maka bakteriosin dapat dijadikan pilihan yang tepat sebagai antimikroba.¹⁹ Salah satu cara menentukan kemampuan bakteriosin dalam memberikan efek bakteristatik dan bakterisidal dari suatu bakteri adalah dengan menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Menentukan KHM dan KBM dapat menggunakan metode difusi dan dilusi.²⁰ Dalam melakukan metode ini diperlukan media pertumbuhan untuk menguji filtrat bakteriosin dan bakteri uji yang kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C dalam waktu 18-24 jam, pada konsentrasi terendah yang menunjukkan paling keruh pada media adalah KHM sedangkan konsentrasi paling rendah yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri pada media disebut dengan KBM.²¹

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti ingin melakukan penelitian mengenai potensi dari bakteriosin *Lactobacillus gasseri* terhadap pertumbuhan dari *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari vagina wanita.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian payung Dr. dr. Andani Eka Putra, M.Sc, M.Kes. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan desain *true-experimental research* menggunakan

rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan metode dilusi dan Real Time PCR dengan hasil penelitian diperoleh dengan mengukur Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari filtrat *Lactobacillus gasseri* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Filtrat *Lactobacillus gasseri* dibagi menjadi enam konsentrasi, yaitu 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, dan 0% sebagai kontrol.

Variabel Independen penelitian ini adalah filtrat yang dihasilkan *Lactobacillus gasseri*, sedangkan variabel dependennya adalah daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, terdiri dari kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Populasi dan sampel penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari swab vagina yang dikultur di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Setiap sampel diulang empat kali sesuai dengan perhitungan dari rumus Federer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri dari isolat bakteri *Lactobacillus gasseri*, biakan *Staphylococcus aureus*, media *Blood Agar Plate*, *Media De Mann Ragosa Sharpe* (MRS) *Broth*, *Media De Mann Ragosa Sharpe* (MRS), *nutrient broth*, media *nutrient agar*, larutan PBS, NaCl 0,9 %, NaOH 2N, aquades, standar Mc Farland 0,5, KIT PCR, dan primer Real Time PCR.

Uji KHM dan KBM ini menggunakan metode dilusi secara invitro, untuk menentukan uji daya hambat dari kultur filtrat *Lactobacillus gasseri*. Supernatan *Lactobacillus gasseri* akan dibagi menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Supernatan akan dimasukkan ke dalam tabung-tabung reaksi yang telah berisi *nutrient broth* dengan volume yang telah ditentukan dengan suspensi bakteri sebanyak 10 µl. Setiap konsentrasi akan dilakukan empat kali pengulangan dengan tiap kombinasi perlakuan sebanyak 2 ml untuk 100% campurannya.

Masing-masing konsentrasi dibuat dalam empat tabung lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, setelah itu amati derajat kekeruhan dari setiap konsentrasi. Tahap selanjutnya adalah mengkultur ke dalam *nutrient agar* dan perhatikan berapa banyak koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh yang dinilai dengan uji TPC (*Total Plate Count*) pada media PCA (*Plat Count Agar*) dengan teknik cawan sebar (*spread plate*). Caranya adalah dengan mengencerkan masing-masing tabung

dengan konsentrasi 10⁻⁶ CFU/ml kemudian divortex. Selanjutnya masing-masing dari konsentrasi diambil sebanyak 0,1 ml lalu teteskan dan ratakan ke dalam cawan petri yang telah berisi *nutrient agar*. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selain dengan cara TPC, masing-masing konsentrasi juga akan dilakukan pengujian dengan Real Time PCR.

Nilai KHM dan KBM dari filtrat *Lactobacillus gasseri* ditentukan melalui Real Time PCR yang jumlah bakterinya pada setiap konsentrasi nilai Ct yang diperoleh dengan Real time PCR dikonversi menjadi konsentrasi bakteri log CFU/ml. Selain itu, dapat dikonfirmasi lagi dengan menghitung koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh tiap konsentrasi pada *plate*, dengan catatan bahwa pertumbuhan koloni yang sudah dikultur pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% harus lebih sedikit yang tumbuh dibandingkan dengan pertumbuhan koloni dengan konsentrasi 0%. KHM dapat ditetapkan apabila konsentrasi terendah dapat menghambat 90% dari pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diinkubasi 24 jam pada suhu 37 °C. Untuk KBM ditetapkan dengan konsentrasi terendah dapat membunuh 99,9% bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C.

Hasil

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa uji daya hambat kultur filtrat *Lactobacillus gasseri* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan berbagai konsentrasi memiliki pengaruh yang signifikan. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1 yang menunjukkan terjadi penurunan jumlah bakteri *S.aureus* saat diberikan konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% filtrat *L. gasseri*.

Tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah bakteri pada masing-masing konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi dari filtrat *L.gasseri* yang diberikan maka akan terjadi penurunan jumlah *S.aureus*.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi kultur filtrat *Lactobacillus gasseri* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi filtrat <i>L.gasseri</i>	Rata-rata jumlah bakteri <i>S.aureus</i> /ml pada 4 kali pengulangan	Standar deviasi	Rata-rata jumlah bakteri <i>S.aureus</i> (log 10)
0%	47,7 x 10 ⁷	±11,1 x 10 ⁷	8,68
20%	32,4 x 10 ⁷	±20 x 10 ⁷	8,51
40%	20,4 x 10 ⁶	±1,9 x 10 ⁶	7,31
60%	20,5 x 10 ⁶	±2,8 x 10 ⁶	7,31
80%	17,2 x 10 ⁶	±1,5 x 10 ⁶	7,24
100%	6,00 x 10 ⁶	±4 x 10 ⁶	6,84

Kadar Hambat Minimal filtrat bakteriosin *Lactobacillus gasseri* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

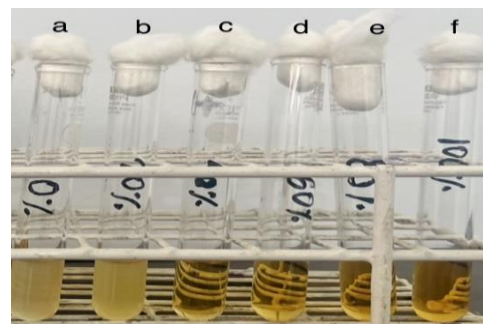
Tabel 2. Identifikasi KHM dari kultur filtrat *Lactobacillus gasseri* yang dilihat dari penurunan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri Indikator	Konsentrasi filtrat <i>L. gasseri</i>	Rerata jumlah bakteri <i>S. aureus</i> /ml	Penurunan jumlah bakteri <i>S.aureus</i> (%)
<i>S.aureus</i>	0%	47,7 x 10 ⁷ ± 11,1 x 10 ⁷	-
	20%	32,4 x 10 ⁷ ± 20 x 10 ⁷	32%
	40%	20,4 x 10 ⁶ ± 1,9 x 10 ⁶	96%
	60%	20,5 x 10 ⁶ ± 2,8 x 10 ⁶	96%
	80%	17,2 x 10 ⁶ ± 1,5 x 10 ⁶	96%
	100%	6 x 10 ⁶ ± 4 x 10 ⁶	99%

Hasil penelitian didapatkan konsentrasi filtrat *Lactobacillus gasseri* yang teridentifikasi menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah berkisar pada konsentrasi >20% dan <40% (kadar hambat minimal).

Berdasarkan Tabel 2 pada kelompok konsentrasi 20% penurunan konsentrasi pertumbuhan bakteri sebanyak 32% sehingga belum dapat dikatakan sebagai KHM karena penurunan persentase pertumbuhan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* belum mencapai 90%. Selain itu, pada hasil penelitian konsentrasi 40% memiliki presentase penurunan jumlah bakteri yang melebihi 90% sehingga bukan merupakan KHM. Konsentrasi 40% dikatakan KBM karena pada *plate* tidak terdapat pertumbuhan koloni dari *S.aureus*. Berdasarkan hasil penelitian

ini didapatkan nilai KHM filtrat *L. gasseri* terhadap *S.aureus* adalah konsentrasi besar dari 20% dan kecil dari 40%.

**Gambar 1.** Keekeruhan uji *L.gasseri* terhadap *S.aureus* inkubasi 24 jam (a. konsentrasi 0%, b. konsentrasi 20%, c. konsentrasi 40%, d. konsentrasi 60%, e. konsentrasi 80%, f. konsentrasi 100%)

Gambar 1 menunjukkan tingkat keekeruhan pada uji filtrat *L. gasseri* terhadap *S. aureus* sebanyak empat kali pengulangan yang diinkubasi selama 24 jam. Konsentrasi 0% dan 20% menunjukkan terjadi keekeruhan pada campuran dari filtrat *L.gasseri* dan bakteri uji, sedangkan pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% tidak menunjukkan keekeruhan yang signifikan. Hasil yang keruh menunjukkan belum terjadi efek penghambatan filtrat *L. gasseri* terhadap *S. aureus*, sedangkan hasil yang jernih atau bening dari kontrol dapat dikatakan ada proses penghambatan dari filtrat *L. gasseri* terhadap *S. aureus*.

Kadar Bunuh Minimal filtrat bakteriosin *Lactobacillus gasseri* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Hasil penelitian didapatkan kadar bunuh minimal filtrat *L. gasseri* terhadap *S. aureus* adalah 40% karena pada *plate* tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%. Dalam menentukan kadar bunuh minimal selain mengkonfirmasi melalui media padat yang terlihat tidak adanya pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada *plate*, pada penelitian ini juga dapat dikonfirmasi melalui Real Time PCR. Hasilnya menunjukkan pada konsentrasi 40%, 60%, dan 80% terdapat penurunan jumlah bakteri sebanyak 96% dan pada konsentrasi 100% terjadi penurunan jumlah bakteri sebesar 99%. Nilai 40% ini sebenarnya sudah dapat dikatakan sebagai KBM karena pada pengujian Real Time PCR materi genetik bakteri yang sudah mati tetap dapat terbaca oleh mesin, hal ini juga dikonfirmasi dengan *plate* yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *S.aureus*.

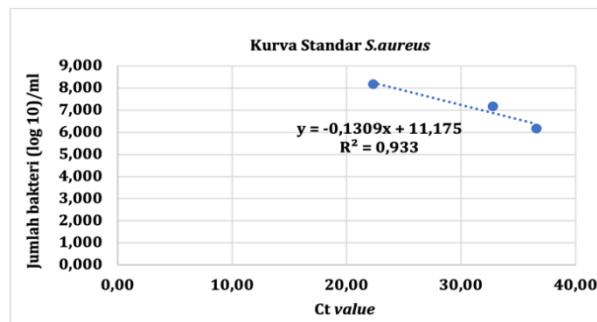
Pengujian dengan Real Time PCR memberikan hasil kuantitatif dan memiliki Ct *value* yang mewakili jumlah siklus yang dibutuhkan bakteri untuk menghasilkan fluoresensi yang dapat dideteksi oleh mesin. Ct *value* sebagai acuan untuk melihat seberapa banyak bakteri yang ada pada sampel. Tahapan pertama adalah membuat kurva standar dari *S.aureus* yang diperoleh dari konsentrasi *S.aureus* disesuaikan dengan standar McFarland (CFU/ml) yang diencerkan serial dengan nilai Ct *S.aureus* standar McFarland yang diperoleh setelah proses ekstraksi DNA dan Real Time PCR.

Tabel 3. Nilai Ct *S.aureus* di Real Time PCR pada setiap konsentrasi *L.gasseri*

Konsentrasi filtrat <i>L.gasseri</i>	Nilai Ct <i>S. aureus</i> (4x pengulangan)				Rerata nilai Ct <i>S. aureus</i>
	Ct P1	Ct P2	Ct P3	Ct P4	
0%	20,14	19,64	18,26	19,37	19,35
20%	20,25	20,21	18,22	20,60	19,82
40%	31,59	29,20	29,52	29,82	30,03
60%	30,05	29,18	33,47	29,28	30,49
80%	30,41	30,02	29,84	32,62	30,72
100%	33,72	29,48	34,38	31,13	32,18

Kurva standar bakteri *S.aureus* yang dapat dilihat pada gambar 2 menunjukkan korelasi yang baik antara nilai Ct dengan konsentrasi bakteri yang dinyatakan dalam log CFU/ml (nilai $R^2=0,933$). Jumlah konsentrasi bakteri *S.aureus* pada setiap sampel diperoleh dengan memasukkan nilai Ct masing-masing sampel pada persamaan linear yang terdapat pada kurva standar yang dapat dilihat pada Gambar 2 sehingga didapatkan rata-rata jumlah bakteri yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Kurva standar bakteri *S.aureus* yang dapat dilihat pada Gambar 2 menunjukkan korelasi yang baik antara nilai Ct dengan konsentrasi bakteri yang dinyatakan dalam log CFU/ml (nilai $R^2=0,933$). Jumlah konsentrasi bakteri *S.aureus* pada setiap sampel diperoleh dengan memasukkan nilai Ct masing-masing sampel pada persamaan linear yang terdapat pada kurva standar yang dapat dilihat pada Gambar 2 sehingga didapatkan rata-rata jumlah bakteri yang dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Kurva standar bakteri *S.aureus* Real Time PCR

Tabel 3. Nilai signifikansi (p) uji Bonferroni antara masing-masing konsentrasi filtrat *Lactobacillus gasseri* terhadap *Staphylococcus aureus*

K	0%	20%	40%	60%	80%	100%
0%		1,000	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
20%	1,000		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
40%	<0,001	<0,001		1,000	1,000	1,000
60%	<0,001	<0,001	1,000		1,000	1,000
80%	<0,001	<0,001	1,000	1,000		1,000
100%	<0,001	<0,001	1,000	1,000	1,000	

Pembahasan

Produksi Bakteriosin

Zat antibakteri yang dimiliki oleh *L. gasseri* terdiri dari bakteriosin, hidrogen peroksida, dan asam laktat yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Hasil kultur diperoleh melalui sentrifugasi untuk memisahkan sel dengan filtrat dari *L. gasseri*. Filtrat diperoleh dalam keadaan asam karena mengandung asam organik (asam laktat dan asam asetat). Dilakukan penambahan NaOH untuk menghilangkan efek antibakteri dari asam organik. Selain itu, *L. gasseri* ditumbuhkan menggunakan media MRS yang ternyata dapat mengurangi efek hidrogen peroksida akibat kandungan ekstrak daging pada MRS. Diketahui kandungan heme Fe^{2+} pada daging dapat mengganggu proses enzimatik dari hidrogen peroksida. Oleh sebab itu, peran terbesar dari kultur filtrat dari *L.gasseri* sebagai antimikroba didominasi oleh kandungan bakteriosin.²²

Bakteriosin merupakan senyawa protein dengan molekul kecil yang memiliki efek antibakteri spektrum luas untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Produksi bakteriosin yang dijadikan probiotik merupakan salah satu alternatif melawan bakteri yang resisten terhadap antibiotik baik yang bersifat MDR maupun infeksi bakteri kronis yang salah satunya adalah *S. aureus*. Bakteriosin tersebut diperoleh dengan mengkultur

isolat *L. gasseri* ke dalam media MRS Broth dalam waktu 24-48 jam. Produksi bakteriosin ini dapat dipengaruhi oleh suhu, pH, dan nutrisi.²³

Potensi Kultur Filtrat *Lactobacillus gasseri* Terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil penelitian diperoleh kultur filtrat *L. gasseri* memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan *S.aureus*, hal ini dilihat dari jumlah bakteri *S.aureus* yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi mengalami penurunan dibandingkan dengan konsentrasi kontrol, yaitu 0%. Potensi Filtrat *L. gasseri* itu ada karena bakteriosin adalah senyawa protein yang memiliki efek bakteriostatik.²³

Hal ini juga didukung oleh penelitian Allysa Shavira, dkk yang menggunakan *Lactobacillus Spp.* sebagai antibakteri dari bakteri patogen dan resisten antibiotik. Salah satu bakteri patogen tersebut adalah *S. aureus*, walaupun pada penelitian tersebut tidak menggunakan *L. gasseri*, namun secara umum mekanisme kerja bakteriosin sama-sama berpotensi menghambat dari *S. aureus*.²³

Kadar Hambat Minimal dan Kadar Bunuh Minimal

Hasil penelitian ini diperoleh kadar bunuh minimal filtrat *L. gasseri* terhadap *S.aureus* adalah pada konsentrasi 40% hal ini dapat dilihat pada *plate* yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan *S.aureus* pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100. Dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 40% filtrat *L. gasseri* berpotensi dalam membunuh *S. aureus*. Selain itu, didapatkan Kadar hambat minimal dari filtrat *L. gasseri* terhadap *S. aureus* adalah >20% dan <40%, hal ini ditentukan dari hasil penelitian yang menunjukkan kelompok dengan konsentrasi 20% didapatkan penurunan konsentrasi pertumbuhan bakteri sebanyak 32% sehingga belum dapat dikatakan sebagai KHM karena penurunan persentase pertumbuhan jumlah bakteri *S. aureus* belum mencapai 90%, sedangkan hasil penelitian pada konsentrasi 40% juga bukan merupakan KHM karena pada konsentrasi tersebut sudah merupakan KBM. Selain itu, pada Real Time PCR juga didapatkan penurunan jumlah bakteri yang signifikan pada konsentrasi 0%, 20% terhadap konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%. Dapat disimpulkan bahwa filtrat *L.gasseri* memiliki KHM dan KBM terhadap pertumbuhan *S.aureus*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bushra dan Amel (2020) yang

menunjukkan bahwa *L.gasseri* menunjukkan efek yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti *Staphylococcus aureus*, *Gardenella vaginalis*, dan *Escherichia coli*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa supernatan yang dihasilkan oleh *Lactobacillus gasseri* terhadap *Staphylococcus aureus* memiliki KHM pada konsentrasi 60% dan KBM pada konsentrasi 70%.²⁴ Hal ini juga dipertegas lagi oleh penelitian yang dilakukan oleh Barzavar dan Rahimifard menunjukkan bahwa bakteriosin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus gasseri* memiliki efek bakteriostatik terhadap pertumbuhan bakteri patogen.²⁵

Akan tetapi, terdapat sedikit perbedaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Firdaus (2020). Firdaus menguji efek bakteriosin *L.gasseri* terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*, hasil penelitian tersebut adalah tidak menemukan KHM dan KBM dari *L.gasseri* terhadap pertumbuhan *S.typhi*.²⁶ Perbedaan ini dapat terjadi karena penelitian yang dilakukan Jin, et al., (1996) menyebutkan bahwa bakteriosin *Lactobacillus* cenderung memiliki efek yang lebih kuat terhadap bakteri Gram-positif, seperti *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogens* dibandingkan dengan bakteri Gram-negatif, seperti *E.coli* dan *S.typhi*. Hal ini disebabkan karena dinding sel bakteri Gram-negatif memiliki susunan yang lebih kompleks dibandingkan bakteri Gram-positif. Bakteri Gram-negatif tidak memiliki asam teikoat yang merupakan reseptor dari bakteriosin sehingga lebih resisten terhadap bakteriosin.²⁷

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan Yi et al (2016) yang mengamati pengaruh bakteriosin terhadap *S.aureus* dengan menggunakan *transmission electron microscopy* (TEM). Penelitian tersebut menunjukkan dengan memberikan bakteriosin terhadap *S.aureus* terjadi perubahan material padat electron (EDM) seluler sehingga terlihat penipisan dinding sel, pada sekitar dinding luar muncul lapisan seperti duri, membran mesosom menjadi meregang ke dalam sitoplasma, dan kandungan sel *S.aureus* menjadi hilang. Pemberian bakteriosin tersebut menyebabkan terbentuknya pori pada sel *S.aureus* yang menyebabkan hanya sedikit material yang tersisa dalam sitoplasma akibat lapisan pembungkus sel yang rusak sehingga akan berakhir dengan kematian sel *S.aureus*.¹⁸

Hasil penelitian ini diuji secara statistik dan diperoleh bahwa konsentrasi 100%, 80%, 60%, dan 40% mempunyai hasil yang bermakna terhadap kontrol 0% dengan nilai signifikansi $<0,001$ pada uji Bonferroni.

Mekanisme Penghambatan oleh Filtrat Bakteriosin *Lactobacillus gasseri* Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Bakteriosin yang dihasilkan oleh *L. gasseri* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen Gram-positif dan Gram-negatif. Mekanisme penghambatan oleh bakteriosin secara umum dapat dibedakan menjadi dua, yaitu melibatkan amplop sel dan melibatkan perubahan regulasi intraseluler. Mekanisme dengan amplop sel melibatkan proses penghambatan pembentukan dari peptidoglikan atau lipopolisakarida dan juga membentuk pori-pori pada dinding sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas pada membran sel. Mekanisme lainnya, yaitu perubahan regulasi intraseluler yang terjadi akibat gangguan metabolisme protein, ribosom, RNA, dan DNA pada sel target. *S. aureus* adalah salah satu bakteri patogen yang mensintesis energi menggunakan *proton motive force* (PMF). Proton motive force (PMF) terletak pada membran sitoplasma yang berperan sebagai gradient elektrokimia yang mengandung pH dan potensial membran yang berfungsi untuk memperoleh energi.²³

S. aureus adalah bakteri patogen Gram-positif yang menghasilkan toksin hemolisin. Bakteri patogen Gram-negatif terdiri atas 90% peptidoglikan pada dinding selnya dan yang lainnya adalah asam teikoat dan lipid anionik pada membrannya. Lipid anionik yang dimiliki Gram-positif ini akan diikat cepat oleh bakteriosin dan memicu pembentukan lubang lalu terjadi degradasi DNA seluler, pemotongan pada 16S rDNA, dan sintesis peptidoglikan jadi terganggu. Hal tersebut menyebabkan bakteri Gram-positif, *S. aureus* mudah diserang dan dihambat oleh bakteriosin.²³

Bakteriosin akan menghambat efek dari PMF pada sel target dengan interaksi elektrostatis akibat dari sifat kationik dan ampifilik bakteriosin yang akan berikatan dengan membran sel bakteri target. Oleh karena itu, bakteriosin akan mengubah konsentrasi gradien proton sehingga kerja PMF terganggu dan menyebabkan hilangnya ion penting dalam membran sel. Terhambatnya sintesis bakteri akan berakhir dengan kematian sel pada bakteri target. Hal ini didukung pada

penelitian Jiang et al. (2017) menyebutkan bakteriosin Pentocin JL-1 memiliki efek dalam mengganggu permeabilitas membran sel *S. aureus* yang resisten terhadap methicillin.²⁸

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan, bahwa Kadar hambat minimal (KHM) filtrat *Lactobacillus gasseri* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah berkisar pada konsentrasi $>20\%$ dan $<40\%$, sedangkan Kadar bunuh minimal (KBM) filtrat *Lactobacillus gasseri* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 40%. Hal ini menunjukkan bahwa kultur filtrat bakteriosin *Lactobacillus gasseri* memiliki efek bakteriostatik dan bakterisidal terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang turut membantu menyelesaikan penelitian ini terutama dari tim Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dan tim Laboratorium Pusat Diagnostik dan Riset Penyakit Infeksi Fakultas Universitas Andalas.

Daftar Pustaka

1. Cascardi E, Cazzato G, Daniele A, Silvestris E, Cormio G, di Vagno G, et al. Association between cervical microbiota and HPV: could this be the key to complete cervical cancer eradication? *Biology* (Basel). 2022;11:14.
2. Palma E, Recine N, Domenici L, Giorgini M, Pierangeli A, Panici PB. Long-term *Lactobacillus rhamnosus* BMX 54 application to restore a balanced vaginal ecosystem: a promising solution against HPV-infection. *BMC Infection Disease*. 2018 Jan 5;18(1):13.
3. Salinas AM, Osorio VG, Pacha-Herrera D, Vivanco JS, Trueba AF, Machado A. Vaginal microbiota evaluation and prevalence of key pathogens in Ecuadorian women: an epidemiologic analysis. *Scientific Reports*. 2020 Dec 1;10(1).
4. Kroon SJ, Ravel J, Huston WM. Cervicovaginal microbiota, women's health, and reproductive outcomes. Vol. 110, *Fertility and Sterility*. 2018. p. 327–36.
5. Serrano MG, Parikh HI, Brooks JP, Edwards DJ, Arodz TJ, Edupuganti L, et al. Racioethnic diversity in the dynamics of the vaginal microbiome during pregnancy. *Nature Medicine*. 2019 Jun 1;25(6):1001–11.
6. Huang F, Teng K, Liu Y, Cao Y, Wang T, Ma C, et al. Bacteriocins: potential for human health. Vol. 2021, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021.
7. Hols P, Ledesma-García L, Gabant P, Mignolet J. Mobilization of microbiota commensals and their bacteriocins for therapeutics. Vol. 27, *Trends in Microbiology*. 2019. p. 690–702.

8. Kasuga G, Tanaka M, Harada Y, Nagashima H, Yamato T, Wakimoto A, et al. Homologous expression and characterization of *gassericin T* and *gassericin S*, a novel class IIb bacteriocin produced by *Lactobacillus gasseri* LA327. *Applied Environmental Microbiology*. 2019 Mar 1;85(6).
9. Widodo. Bakteri asam laktat strain lokal. Vol. 1. Yogyakarta: UGM Press; 2018. 1–160 p.
10. Jenul C, Horswill AR. Regulation of *Staphylococcus aureus* virulence. *Microbiology Spectrum*. 2019 Apr 12;7(2).
11. Serrettiello E, Santella B, Folliero V, Iervolino D, Santoro E, Manente R, et al. Prevalence and antibiotic resistance profile of bacterial pathogens in aerobic vaginitis: a retrospective study in Italy. *Antibiotics*. 2021 Sep 1;10(9).
12. Gajdács M, Urbán E. Epidemiology and resistance trends of *Staphylococcus aureus* isolated from vaginal samples: a 10-year retrospective study in Hungary. *Acta Dermatovenereologica Alpina Pannonica et Adriatica*. 2019;28(4):143–7.
13. Ma X, Wu M, Wang C, Li H, Fan A, Wang Y, et al. The pathogenesis of prevalent aerobic bacteria in aerobic vaginitis and adverse pregnancy outcomes: a narrative review. Vol. 19, *Reproductive Health*. 2022.
14. Li G, Shen W, Gong Y, Li M, Rao X, Liu Q, et al. Essential fitness repertoire of *Staphylococcus aureus* during co-infection with *Acinetobacter baumannii* in vivo . *American Society for Microbiology*. 2022 Oct 26;7(5).
15. Vila T, Kong EF, Montelongo-Jauregui D, van Dijck P, Shetty AC, McCracken C, et al. Therapeutic implications of *C. albicans*-*S. aureus* mixed biofilm in a murine subcutaneous catheter model of polymicrobial infection. *Virulence*. 2021;12(1):835–51.
16. Ahmad-Mansour N, Loubet P, Pouget C, Dunyach-Remy C, Sotto A, Lavigne JP, et al. *Staphylococcus aureus* toxins: an update on their pathogenic properties and potential treatments. Vol. 13, *Toxins*. 2021.
17. Lestari SD, Sadiq ALO, Safitri WA, Dewi SS, Prastiyanto ME. The antibacterial activities of bacteriocin *Pediococcus acidilactici* of breast milk isolate to against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In: *Journal of Physics: Conference Series*. Institute of Physics Publishing; 2019.
18. Fatimah MP, Megantara I, Anggaeni TTK. Pemanfaatan bakteriosin dari produk fermentasi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2020 Sep 30;9(5):835–48.
19. Liu Y. New Perspective of *Lactobacillus Plantarum* as a probiotic: the gut-heart-brain-axis. *Journal of Microbiology*. 2018 Aug 23;56:601–13.
20. Yetti P, Sri E, Tania P. Effectiveness of extract against *Streptococcus mutans* in children's dental caries. *Makassar Dental Journal*. 2021;163–70.
21. Nirmalasari F, Nastiti K, Audina M. Uji aktivitas antibakteri fraksi N-Heksan kayu bajakah (*Uncaria tomentosa*) terhadap bakteri *Eschericia coli*. Vol. 3, *Journal of Pharmaceutical Care and Science*. Banjarmasin; 2023.
22. Hertzberger R, Arents J, Dekker H, David R, Gysler C, Kleerebezem M, et al. H2O2 production in species of the *Lactobacillus acidophilus* group: a central role for a novel NADPH-Dependent Flavin Reductase. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014;80:2229–39.
23. Shavira A, Cahyadi AI, Windria S. Aktivitas antibakteri dari bakteriosin *Lactobacillus spp.* terhadap bakteri resisten. *Jurnal Sains Veteriner*. 2022 Apr 19;40(1):60.
24. Jasim B, Abdul A. In vitro determining the effect of vaginal *Lactobacillus* on some pathogenic of urogenital infections in women. *Plant Archive*. 2020;20:2980–4.
25. Barzavar M, Nahid R. Evaluation of the antimicrobial activity of *Lactobacillus gasseri* as probiotic bacteria against *Salmonella enterica* sero type enteritidis. *Gestion et Management Public Review Journal*. 2015 Jan;56–64.
26. Rayhan Firdaus M. Potensi aktivitas bakteriosin *Lactobacillus gasseri* terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* [skripsi]: Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 2020. Available from: <http://scholar.unand.ac.id/id/eprint/57068>
27. Hariani L, Biologi J, Sains F, Teknologi produksi bakteriosin oleh *Lactobacillus plantarum* DJ3 dan aplikasinya sebagai pengawet daging. Vol. 4, *El-Hayah*. 2013.
28. Jiang H, Zou J, Cheng H, Fang J, Huang G. purification, characterization, and mode of action of *Pentocin JL-1*, a novel bacteriocin isolated from *Lactobacillus pentosus*, against drug-resistant *Staphylococcus aureus*. *BioMed Research International*. 2017.