



Uji Potensi Bacteriocin-Containing Cell-Free Supernatant Dari *Lactobacillus Crispatus* Terhadap Pertumbuhan Pathogenic *Escherichia Coli* Yang Diisolasi Dari Genitalia Wanita

Umar Al Farras¹, Andani Eka Putra², Eryati Darwin³

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

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

³ Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang 25163, Indonesia

ABSTRACT

Abstrak

Latar Belakang: Infeksi *Escherichia coli* (*E. coli*) yang resisten terhadap antibiotik yang umum digunakan dapat mempersulit, mengganggu, dan memberikan hasil terapi yang buruk.

Objektif: Untuk menguji kemampuan bacteriocin-containing Cell-Free Supernatant (CFS) dari *Lactobacillus crispatus* (*L. crispatus*) sebagai senyawa antimikroba yang dapat meminimalisir pengembangan resistensi antibiotik pada bakteri *E. coli* dengan menilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

Metode: Penelitian ini menggunakan teknik dilusi dan quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Konsentrasi bacteriocin-containing CFS dari *L. crispatus* dibagi dalam berbagai konsentrasi yaitu 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, dan 0% (kontrol) dengan empat kali pengulangan. Nilai KHM dan KBM diperoleh dari jumlah bakteri yang tumbuh dan terdeteksi melalui Real Time PCR pada masing-masing konsentrasi. Hasil penelitian diolah secara statistik dengan uji One Way ANOVA dan Post Hoc LSD.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa bacteriocin-containing CFS dari *L. crispatus* tidak dapat menghambat pertumbuhan pathogenic *E. coli* dan tidak ditemukan nilai KHM dan KBM. Pada perhitungan statistik tidak ditemukan perbedaan yang bermakna pada konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20% terhadap kontrol.

Kesimpulan: Bacteriocin-containing CFS dari *L. crispatus* tidak memiliki efek bakteristatik dan bakterisidal terhadap pertumbuhan pathogenic *E. coli*.

Kata kunci: Antibakteri, bakteriosin, *escherichia coli*, *lactobacillus crispatus*

Abstract

Background: *Escherichia coli* (*E. coli*) infections resistant to commonly used antibiotics can complicate, disrupt, and result in poor therapeutic outcomes.

Objective: To assess the antimicrobial ability of bacteriocin-containing Cell-Free Supernatant from *Lactobacillus crispatus* (*L. crispatus*) as a compound that can minimize the development of antibiotic resistance in *E. coli* bacteria by evaluating the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC).

Methods: This research utilized dilution techniques and quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) with a Completely Randomized Design. The concentration of Bacteriocin-Containing Cell-Free Supernatant from *Lactobacillus crispatus* was divided into various concentrations: 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, and 0% (control) with four replications. The MIC and MBC values were obtained from the amount of bacteria grown and detected through Real-Time PCR at each concentration. The research results were statistically analyzed using One-Way ANOVA and Post Hoc LSD tests.

Results: The research results indicate that the Bacteriocin-Containing Cell-Free Supernatant from *L. crispatus* did not inhibit the growth of pathogenic *E. coli*, and no MIC and MBC values were found. In the statistical analysis, no significant differences were found between concentrations of 100%, 80%, 60%, 40%, and 20% compared to the control.

Conclusion: The Bacteriocin-Containing Cell-Free Supernatant from *L. crispatus* showed no bacteriostatic and bactericidal effects on the growth of pathogenic *E. coli*.

Keywords: Antibacterial, bacteriocin, *escherichia coli*, *lactobacillus crispatus*

Apa yang sudah diketahui tentang topik ini?

L. crispatus memproduksi senyawa antimikroba yang dapat menghambat berbagai mikroba patogen.

Apa yang ditambahkan pada studi ini?

Menilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) *bacteriocin-containing Cell-Free Supernatant* dari *L. crispatus* terhadap *pathogenic E. coli*.

CORRESPONDING AUTHOR

Phone: +6282170710093

E-mail: umaralfarras@gmail.com

ARTICLE INFORMATION

Received: February 20th, 2023

Revised: December 4th, 2024

Available online: December 22nd, 2024

Pendahuluan

Escherichia coli (*E. coli*) adalah bakteri Gram negatif berbentuk batang yang termasuk ke dalam flora normal saluran pencernaan manusia. Bakteri *E. Coli* dapat menyebabkan infeksi di dalam dan di luar saluran pencernaan dan menjadi penyebab terbanyak penyakit infeksi yang terjadi di luar saluran pencernaan.¹ Infeksi *E. coli* di luar saluran pencernaan merupakan akibat dari translokasi bakteri yang terdapat di usus ke organ lain. Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan infeksi nosokomial atau komunitas di berbagai bagian tubuh manusia seperti gastrointestinal, traktus respiratorius, traktus urinarius, peritoneum, darah, dan genitalia wanita. Pada genitalia wanita, *E. coli* menjadi salah satu dan penyebab tersering vaginitis aerobik.²⁻⁴

Vaginitis aerobik merupakan salah satu jenis penyakit infeksi pada genitalia wanita yang didefinisikan sebagai kondisi berkurangnya mikrobiota *Lactobacillus* dan peningkatan jumlah bakteri enterik aerobik baik komensal maupun patogen. Vaginitis aerobik ditandai dengan inflamasi dan defisiensi maturasi epitel vagina.^{5,6} Dalam beberapa studi, insidensi dari vaginitis aerobik mencapai 5-80%. Vaginitis aerobik dapat terjadi pada berbagai kelompok usia mulai dari usia 10 hingga 95 tahun dengan kejadian tersering pada usia seperti 26-30 tahun dan 55-64 tahun. Pasien vaginitis aerobik dapat menunjukkan gejala berupa kemerahan pada introitus dan vagina, sekret kekuningan berbau busuk, rasa gatal, sensasi terbakar, dan dispareunia.⁷

Kejadian vaginitis aerobik pada wanita hamil dapat meningkatkan resiko aborsi, prematuritas, ketuban pecah dini, dan hasil kehamilan yang merugikan lainnya.³ Walaupun demikian, kejadian vaginitis aerobik lebih sering ditemukan pada wanita tidak hamil dengan prevalensi antara 2-25.8% dan dipengaruhi oleh faktor geografis dan etnis.⁴ Selain itu, vaginitis aerobik diketahui memiliki peran penting pada proses karsinogenesis di serviks yang menjadikannya sebagai faktor resiko Neoplasia Intraepitelial Serviks.⁵

Resistensi antibiotik pada bakteri *E. coli* merupakan salah satu tantangan besar dalam skala dunia dan perlu dianggap sebagai masalah kesehatan masyarakat yang nyata karena dapat mempersulit, menggagalkan, dan memberikan hasil akhir yang buruk pada terapi antibiotik.⁸ Hal tersebut disebabkan karena bakteri *E. coli* diketahui dapat bertindak sebagai donor dan resipien gen resistensi terhadap antibiotik yang berarti dapat memperoleh gen resistensi dari suatu bakteri dan dapat meneruskan gen tersebut ke bakteri lain melalui mekanisme konjugasi, transduksi, atau transformasi materi genetik.⁹ Bakteri *E. coli* yang telah resisten terhadap antibiotik dapat menular melalui berbagai jalur, seperti kontak langsung, kontak dengan kotoran hewan, atau melalui makanan yang tidak higienis. Hal ini membuat bakteri *E. coli* dianggap mewakili sumber utama gen resistensi dan bertanggung jawab atas kegagalan terapi antibiotik pada manusia.¹⁰

Beberapa penelitian pada dekade terakhir telah mengidentifikasi peningkatan jumlah gen resistensi pada bakteri *E. coli* yang menunjukkan resistensi terhadap beberapa antibiotik yang umum digunakan seperti Amoksisilin, Beta-laktam, Streptomisin, Trimetoprim Sulfametoksazol, dan Siprofloksasin.^{2,11,12} Oleh sebab itu, penemuan obat antimikroba baru sangat diperlukan.¹³

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri *Gram* positif yang bersifat anaerobik, berbentuk basil atau kokus.¹⁴ Spesies *Lactobacillus* adalah salah satu kelompok BAL yang tersebar di berbagai bagian tubuh manusia seperti saluran pencernaan dan genitalia wanita dan berperan dalam proses pencernaan zat makanan tertentu, serta sebagai pelindung tubuh manusia dari mikroorganisme patogen. Kemampuan memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat dengan cepat menjadikan *Lactobacillus* sebagai genus terbesar dalam kelompok BAL dan membuatnya mampu menghambat pertumbuhan mikroba lain.^{15,16}

Spesies *L. crispatus* mendominasi mikrobiota pada genitalia wanita. Spesies ini mampu

memproduksi zat antimikroba seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), asam organik berupa asam laktat, dan bakteriosin yang mampu mempertahankan homeostatis mikrobiota, menjaga kadar pH tetap rendah, serta menjaga fungsi imun untuk mencegah infeksi bakteri, jamur, dan virus. Kemampuan ini membuat *L. crispatus* banyak digunakan sebagai probiotik yang baik untuk mencegah dan memulihkan infeksi genitalia wanita seperti bakterial vaginosis, candidiasis, dan infeksi human papillomavirus.^{17,18}

Cell-Free Supernatant (CFS) mengacu pada media cair tidak berwarna yang diperoleh setelah penumbuhan bakteri tertentu didalam media cair kemudian disentrifugasi dan difiltrasi melalui membran dengan ukuran pori yang cukup untuk menahan semua sel bakteri. *Cell-Free Supernatant* dari BAL mengandung asam organik, H_2O_2 , dan bakteriosin yang dapat diaplikasikan sebagai antimikroba.¹⁹ Bakteriosin yang diproduksi oleh BAL mampu bekerja pada konsentrasi rendah dan umumnya mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang memiliki kaitan erat (spektrum sempit).^{20,21} Bakteriosin yang diproduksi oleh spesies *Lactobacillus* diketahui dapat menghambat pertumbuhan *pathogenic E. coli*.^{22,23}

Bakteriosin memiliki spektrum yang relatif lebih sempit dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan lebih kecil kemungkinannya untuk mengembangkan resistensi dibandingkan antibiotik.²⁴ Kelebihan bakteriosin adalah secara spesifik berikatan pada sel bakteri target dan menghambat pertumbuhannya dengan mengganggu kestabilan potensial membran. Ketidakstabilan membran menyebabkan pembentukan pori pada membran sel bakteri target sehingga mengganggu proses konversi energi menjadi ATP oleh proton yang disebut *Proton Motive Force* (PMF). Terganggunya PMF akan menghambat pembentukan energi sehingga pertumbuhan sel bakteri terganggu dan berakhir dengan kematian sel bakteri.²⁵ Penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi *bacteriocin-containing Cell-Free Supernatant* (CFS) dari *Lactobacillus crispatus* (*L. crispatus*) sebagai senyawa antimikroba untuk meminimalisir pengembangan resistensi antibiotik pada bakteri *E. coli*.

Metode

Jenis penelitian ini adalah true-experimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel independen pada penelitian ini adalah *bacteriocin-containing CFS* yang dihasilkan oleh bakteri *L. crispatus* dan variabel dependen pada penelitian ini adalah kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) terhadap *pathogenic E. coli* yang diisolasi dari genitalia wanita.²⁷

Sampel penelitian ini adalah *pathogenic E. coli* koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang diisolasi dari genitalia wanita. Setiap sampel diulangi sebanyak empat kali sesuai dengan rumus perhitungan pengulangan pada RAL. Suspensi Bakteri *pathogenic E. coli* dicampur dengan nutrient broth serta *bacteriocin-containing CFS* dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40% 20%, dan 0% sebagai kontrol.²⁷

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: Isolat bakteri *L. crispatus* dari feses manusia koleksi milik Dr. dr. Andani Eka Putra, M.Sc, M.Kes, *Media De Mann Ragosa Shape* (MRS) *Broth*, Media MRS Agar, Biakan *pathogenic E. coli*, Media *nutrient broth*, Mueller Hilton Agar (MHA), Standard McFarland 0,5, NaOH 4N, Aquades, dan NaCl 0,9%.²⁷

Daya hambat CFS *Lactobacillus crispatus* ditentukan dengan menggunakan metode dilusi secara in vitro. *Cell-Free Supernatant* yang telah dihasilkan dibagi menjadi enam konsentrasi, yaitu 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% dengan 0% sebagai kontrol. Supernatan dimasukkan ke dalam setiap tabung reaksi yang telah diisi *nutrient broth* dengan volume yang telah ditentukan dan 10 µl suspensi bakteri sehingga setiap kombinasi perlakuan berisi 2 ml untuk 100% campurannya.²⁷

Setiap konsentrasi dibuat dalam empat tabung dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian dinilai derajat kekeruhannya. Sebelum dilakukan isolasi DNA, setiap CFS diencerkan dengan faktor pengencer 10⁻⁶ dan divortex. Selanjutnya, pengenceran terakhir di setiap konsentrasi diambil sebanyak 0,1 ml untuk dikultur ke dalam Mueller-Hinton *Agar Plate* dan diratakan menggunakan teknik cawan sebar (*spread plate*). Setelah dikultur, Plate diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Proses ini dilakukan untuk memastikan nilai KBM. Setelah dipastikan tidak ada kontaminasi, dilakukan

ekstraksi DNA menggunakan metode *boiling* dan dilanjutkan dengan qPCR yang menggunakan primer spesifik untuk mendeteksi gen target dari *pathogenic E. coli*.²⁷

Ekstraksi DNA dilakukan dengan memasukkan setiap sampel sebanyak 1ml ke dalam mikrotube dan disentrifugasi selama lima menit dengan kecepatan 20.000G. Supernatan yang dihasilkan dari proses sentrifugasi dibuang sehingga menyisakan palat di dasar mikrotube. Selanjutnya, ditambahkan TE buffer sebanyak 500 µl lalu divortex. Langkah selanjutnya, sampel diinkubasi pada suhu 95°C selama 10 menit. Sampel disentrifus kembali dan supernatan yang dihasilkan merupakan hasil akhir ekstraksi DNA. Terakhir, hasil ekstraksi DNA dimasukkan ke dalam mesin qPCR BIORAD CFX96. Penilaian hasil qPCR secara kuantitatif dilakukan dengan menghitung nilai *Cycle Threshold* (CT) yang dikonversikan menjadi nilai konsentrasi bakteri untuk menentukan ada atau tidaknya hambatan pertumbuhan *pathogenic E. coli*.²⁷

Pengujian dengan metode dilusi dan qPCR memberikan hasil kuantitatif berupa nilai CT yang mewakili jumlah siklus yang dibutuhkan bakteri untuk menghasilkan fluoresensi agar dapat dideteksi oleh mesin. Hal ini digunakan sebagai acuan untuk menghitung banyak bakteri yang ada pada sampel. Kurva standar bakteri *E. coli* diperoleh dari konsentrasi sel bakteri *E. coli* standar McFarland (CFU/ml) yang diencerkan secara serial dengan nilai CT *E. coli* yang peroleh setelah ekstraksi DNA dan qPCR.²⁷

Konsentrasi bakteri *E. coli* setiap sampel didapatkan dengan memasukkan nilai CT setiap sampel ke dalam persamaan pada kurva standar *E. coli* sehingga dapat diperoleh rata-rata jumlah bakteri pada setiap konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Nilai KHM dapat ditentukan setelah dilakukan perhitungan terhadap konsentrasi bakteri dengan syarat lebih kecil dari kontrol. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat 90% pertumbuhan *pathogenic E. coli* merupakan nilai dari KHM. Sementara itu, KBM ditentukan dengan menilai konsentrasi CFS terendah yang menunjukkan tidak terdeteksinya bakteri *pathogenic E. coli* pada qPCR.²⁷

Data yang dihasilkan dicatat, diolah dalam bentuk tabel, dan dianalisis secara statistik dengan tingkat signifikansi sebesar 0,05 ($p=0,05$). Proses analisis data melibatkan uji normalitas menggunakan metode Shapiro-Wilk, uji

homogenitas varian, dan uji One-Way ANOVA. Setelah itu, dilakukan uji Post-Hoc *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengevaluasi perbedaan antara kelompok.²⁷

Hasil

Hasil pengujian menggunakan qPCR pada setiap sampel menunjukkan nilai CT *pathogenic E. coli* seperti yang dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Nilai CT qPCR Setiap Sampel

Konsentrasi CFS	P 1	P 2	P 3	P 4
0%	17,34	15,64	16,99	15,53
20%	15,85	16,25	16,38	15,43
40%	18,42	15,57	16,34	15,72
60%	16,58	15,92	17,38	15,79
80%	15,98	18,45	17,37	16,37
100%	17,28	17,02	17,96	17,08

Keterangan: P=pengulangan

Dari tabel di atas, setiap sampel menunjukkan nilai CT yang bervariasi pada angka 15,43-18,42. Semakin tinggi nilai CT menggambarkan semakin sedikitnya jumlah bakteri *pathogenic E. coli*. Nilai CT pada setiap peningkatan konsentrasi CFS tidak menunjukkan peningkatan nilai CT yang konstan di setiap pengulangan. Hal ini menggambarkan tidak adanya penurunan jumlah bakteri *pathogenic E. coli* yang bermakna. Nilai CT setiap dimasukkan ke dalam persamaan linear pada kurva standar *E. coli* menjadi jumlah bakteri/ml dan dihitung rata-rata jumlah bakteri *pathogenic E. coli* pada setiap konsentrasi.

Hasil pengujian pada penelitian ini menunjukkan bahwa *bacteriocin-containing* CFS tidak memberikan dampak penurunan jumlah rata-rata bakteri *pathogenic E. coli* seperti yang dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 2. Pengaruh Konsentrasi Bacteriocin-Containing Cell-Free Supernatant dari *Lactobacillus crispatus* Terhadap Pertumbuhan *Pathogenic Escherichia coli*

Konsentrasi CFS	Rata-Rata Jumlah Bakteri/ml Pada Empat Kali Pengulangan	Rata-Rata Jumlah Bakteri (Log10)
0%	31,8 x 10 ⁷	8,50
20%	39,6 x 10 ⁷	8,60
40%	29,5 x 10 ⁷	8,47
60%	31,1 x 10 ⁷	8,49
80%	22,1 x 10 ⁷	8,35
100%	18,9 x 10 ⁷	8,28

Tabel 2 menunjukkan jumlah rata-rata bakteri *pathogenic E. coli* pada setiap konsentrasi tidak mengalami penurunan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan jumlah CFS tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *pathogenic E. coli*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat peningkatan dan penurunan jumlah bakteri *pathogenic E. coli* berbanding kontrol (konsentrasi 0%).

Hasil penelitian ini tidak dapat mengidentifikasi konsentrasi KHM dan KBM *bacteriocin-containing* CFS dari *L. crispatus* yang dapat menghambat pertumbuhan *pathogenic E. coli* karena penurunan jumlah bakteri tidak mencapai 90% dari kontrol dengan rata-rata jumlah bakteri awal $31,8 \times 10^7$ /ml selama 24 jam inkubasi. Semua hasil pengujian menunjukkan pertumbuhan bakteri *E. coli* yang ditandai dengan seluruh konsentrasi CFS secara visual mengalami kekeruhan dan terlihat pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* pada *Agar Plate*. Selain itu, rata-rata jumlah bakteri yang didapatkan pada setiap konsentrasi tidak menunjukkan penurunan hingga 99,9% dari kontrol seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Identifikasi KHM dan KBM *Bacteriocin-Containing Cell-Free Supernatant* Berdasarkan Penurunan Jumlah Bakteri *Pathogenic Escherichia coli*

Bakteri Indika- tor	Konsen- trasi CFS	Rata-rata jumlah bakteri/ml pada 4 kali pengulangan	Persentase penurunan jumlah bakteri indikator	KHM/KBM
<i>E. coli</i>	0%	$31,8 \times 10^7$		Bukan KHM/KBM
	20%	$39,6 \times 10^7$	-27%	Bukan KHM/KBM
	40%	$29,5 \times 10^7$	7%	Bukan KHM/KBM
	60%	$31,1 \times 10^7$	2%	Bukan KHM/KBM
	80%	$22,1 \times 10^7$	30%	Bukan KHM/KBM
	100%	$18,9 \times 10^7$	41%	Bukan KHM/KBM

Hasil uji statistik normalitas data dengan menggunakan metode Shapiro-Wilk menunjukkan nilai signifikansi $p > 0,05$, menandakan bahwa distribusi data bersifat normal. Uji homogenitas menghasilkan nilai signifikansi 0,158 ($p > 0,05$), sehingga menunjukkan bahwa variasi dalam kelompok homogen. Uji lanjutan Post Hoc LSD menunjukkan nilai $p > 0,05$, mengindikasikan bahwa tidak ada perbedaan signifikan pada setiap konsentrasi, kecuali pada konsentrasi 20% berbanding 100% ($p = 0,047$).

Tabel 4. Nilai Signifikasi (p) Uji Post Hoc LSD Pada Setiap Konsentrasi

Konsentrasi CFS	0%	20%	40%	60%	80%	100%
0%		0,556	0,829	0,947	0,302	0,144
20%	0,556		0,424	0,513	0,144	0,047
40%	0,829	0,424		0,881	0,410	0,207
60%	0,947	0,513	0,881		0,333	0,161
80%	0,302	0,114	0,410	0,333		0,647
100%	0,144	0,047	0,207	0,161	0,647	

Pembahasan

Produksi *Bacteriocin-Containing Cell-Free Supernatant*

Cell-Free Supernatant merupakan hasil penumbuhan BAL dalam media cair yang disentrifugasi dan difiltrasi melalui filter milipore sehingga mengandung metabolit bakteri seperti, asam organik berupa asam asetat dan asam laktat, H_2O_2 , bakteriosin, dan sisa-sisa media kultur yang dapat digunakan sebagai antimikroba. Penelitian yang dilakukan oleh Khoiriyah dkk.²⁶ menunjukkan waktu inkubasi yang optimal terhadap produksi bakteriosin *Lactobacillus* sp. adalah pada jam ke-20. Sintesis bakteriosin oleh *L. crispatus* dimulai ketika fase eksponensial mendekati akhir dan mencapai puncaknya selama fase stasioner. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa bakteriosin merupakan produk metabolit utama dari bakteri ini. Beberapa faktor yang dapat menghambat produksi bakteriosin oleh *Lactobacillus* mencakup ketidaksesuaian kondisi proses seperti pH, suhu, nutrisi, kehilangan sel secara spontan selama produksi bakteriosin, infeksi sel, dan kehadiran mikroorganisme bersaing dalam medium.¹⁹

Pada penelitian ini kadar dan konsentrasi bakteriosin yang diperoleh dalam bentuk CFS tidak dapat diketahui dengan tepat. Penelitian ini mengasumsikan bahwa seluruh metabolit yang dihasilkan oleh *L. crispatus* terdapat di dalam CFS dan dilakukan penambahan NaOH 4N untuk menghilangkan efek senyawa antimikroba dari asam organik dan H_2O_2 sehingga menyisakan bakteriosin sebagai satu-satunya senyawa antimikroba yang bertanggung jawab dalam menghambat pertumbuhan *pathogenic E. coli*.¹⁹ Keterlibatan dan kemampuan bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *pathogenic E. coli* pada penelitian ini tidak dapat dinilai akurasi dan hal tersebut berdampak kepada

penurunan jumlah bakteri *pathogenic E. coli* yang tidak bermakna.

Potensi *Bacteriocin-Containing Cell-Free Supernatant* Terhadap Pertumbuhan *Pathogenic Escherichia coli*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *bacteriocin-containing* CFS dari *L. crispatus* tidak dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh *pathogenic E. coli*. Pada hasil penelitian ini didapatkan bahwa pada konsentrasi *bacteriocin-containing* CFS *L. crispatus* 100%, 80%, 60%, 40%, 20%, dan 0% memiliki jumlah rerata bakteri *pathogenic E. coli* yang tidak jauh berbeda. Hal ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi *bacteriocin-containing* CFS dari *L. crispatus* tidak membuat jumlah rerata bakteri *pathogenic E. coli* menurun secara bermakna. Ketidakmampuan penghambatan *bacteriocin-containing* CFS dari *L. crispatus* terhadap bakteri patogen juga ditemukan oleh Warizka dkk.²⁷ yang menyatakan bahwa *bacteriocin-containing* CFS dari *L. crispatus* tidak dapat menghambat dan membunuh *S. aureus*.

Bakteri *pathogenic E. coli* yang digunakan pada penelitian ini tidak diketahui strainnya sehingga tidak dapat diketahui kemampuannya dalam perlindungan diri terhadap senyawa antimikroba termasuk bakteriosin. Tipe, jenis, dan karakteristik dari bakteriosin dalam CFS yang digunakan pada penelitian ini tidak diketahui dengan pasti sehingga menjadi faktor yang memungkinkan tidak terjadinya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *pathogenic E. coli*.²¹

Pada hasil analisis data didapatkan bahwa rata-rata bakteri *pathogenic E. coli* pada seluruh konsentrasi CFS tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil uji statistik normalitas data menggunakan metode Shapiro-Wilk, didapatkan nilai signifikansi $p > 0,05$, menunjukkan bahwa distribusi data bersifat normal. Uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,158, menandakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam variasi antar kelompok konsentrasi ($p > 0,05$). Uji lanjutan dengan menggunakan uji One-Way ANOVA menghasilkan nilai $p > 0,05$, menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan pada setiap konsentrasi CFS.²⁷

Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Pada penelitian ini KHM dan KBM dari CFS *L. crispatus* terhadap pertumbuhan bakteri

pathogenic E. coli tidak dapat diidentifikasi karena penurunan jumlah bakteri tidak mencapai 90% dari kontrol dengan rata-rata jumlah bakteri awal $31,8 \times 10^7/\text{ml}$ selama 24 jam inkubasi. Secara visual, tidak terdapat perbedaan kekeruhan pada setiap konsentrasi CFS. Semua konsentrasi *bacteriocin-containing* CFS menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *pathogenic E. coli* baik pada media cair, media padat, dan nilai CT yang diperoleh dari qPCR.

Simpulan

Penelitian ini tidak dapat mengidentifikasi KHM dan KBM *bacteriocin-containing* CFS dari *L. crispatus* terhadap pertumbuhan *pathogenic E. coli*. *Bacteriocin-containing* CFS dari *L. crispatus* tidak dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri *pathogenic E. coli*.

Ucapan Terima Kasih

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

Daftar Pustaka

1. Manges AR, Geum HM, Guo A, Edens TJ, Fibke CD, Pitout JDD. Global Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) Lineages. *Clin Microbiol Rev.* 2019;32(3):e00135-18.
2. Serretiello 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;10(9):1137.
3. 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. *Reprod Health.* 2022;19(1):1-12.
4. T S, Golia S, L V. A study of aerobic bacterial pathogens associated with vaginitis in reproductive age group women (15-45 years) and their sensitivity pattern. *Int J Res Med Sci.* 2015;3(9):2268-2273.
5. Plisko O, Zodzika J, Jermakova I, Pcolkina K, Prusakevica A, Liepniece-Karele I, et al. Aerobic vaginitis—underestimated risk factor for cervical intraepithelial neoplasia. *Diagnostics.* 2021;11(1):55.
6. Nguyen ATC, Le Nguyen NT, Hoang TTA, Nguyen TT, Tran TTQ, Tran DNT, et al. Aerobic vaginitis in the third trimester and its impact on pregnancy outcomes. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2022;22(1):935.
7. Vidyasagar V. Estimation of incidence of aerobic vaginitis in women presenting with symptoms of vaginitis. *Indian J Obstet Gynecol Res.* 2021;8(1):82-85.
8. Kaambo E, Africa C, Chambuso R, Passmore JAS. Vaginal microbiomes associated with aerobic vaginitis

- and bacterial vaginosis. *Front Public Health*. 2018;6:294.
9. Bello-López JM, Cabrero-Martínez OA, Ibáñez-Cervantes G, Hernández-Cortez C, Pelcastre-Rodríguez LI, Gonzalez-Avila LU, et al. Horizontal gene transfer and its association with antibiotic resistance in the genus *aeromonas* spp. *Microorganisms*. 2019;7(9):308.
 10. Poirel L, Madec JY, Lupo A, Schink AK, Kieffer N, Nordmann P, et al. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr*. 2018;6(4):10.1128/microbiolspec.MTBP-0040-2017.
 11. Normaliska R, Bachrum Sudarwanto M, Latif H. Pola resistensi antibiotik pada *Escherichia coli* penghasil ESBL dari sampel lingkungan di RPH-R Kota Bogor. *Acta Vet Indones*. 2019;7(2):42-48.
 12. Syafriana V, Hamida F, Sukanto AR, Aliya LS. Resistensi *Escherichia coli* dari air danau ISTN Jakarta terhadap antibiotik amoksisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, dan siprofloksasin. *Saintech Farma J*. 2020;13(2):71-76.
 13. Lee Ventola C. The antibiotic resistance crisis part 1: causes and threats. *P T*. 2015;40(4):277-283.
 14. Morales B, Spadetto L, Calvo MÀ, Yeste M, Arosemena L, Rigau T, et al. Evaluation of the probiotic in vitro potential of lactic acid-producing bacteria from canine vagina: possible role in vaginal health. *Animals*. 2022;12(6):734.
 15. Dempsey E, Corr SC. *Lactobacillus* spp. for gastrointestinal health: current and future perspectives. *Front Immunol*. 2022;13:896411.
 16. Putri YW, Putra AE, Utama BI. Identifikasi dan karakteristik bakteri asam laktat yang diisolasi dari vagina wanita usia subur. *J Kesehatan Andalas*. 2018;7(2):246-251.
 17. Mancabelli L, Mancino W, Lugli GA, Milani C, Viappiani A, Anzalone R, et al. Comparative genome analyses of *Lactobacillus crispatus* isolates from different ecological niches reveal an adaptation of this species to the human vaginal. *Environ Microbiol*. 2021;23(11):6537-6551.
 18. Argentini C, Fontana F, Alessandri G, Lugli GA, Mancabelli L, Ossiprandi MC, et al. Evaluation of modulatory activities of *Lactobacillus crispatus* strains in the context of the vaginal microbiota. *Microbiol Spectr*. 2022;10(2):e00285-21.
 19. Mani-Lopez E, Arrija-Breton D, Lopez-Malo A. The impacts of antimicrobial and antifungal activity of cell-free supernatants from lactic acid bacteria in vitro and foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2022;21(4):604-641.
 20. Anjana, Tiwari SK. Bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria in controlling dysbiosis of the gut microbiota. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:914646.
 21. Darbandi A, Asadi A, Mahdizade Ari M, Ohadi E, Talebi M, Halaj Zadeh M, et al. Bacteriocins: properties and potential use as antimicrobials. *J Clin Lab Anal*. 2022;36(5):e24516.
 22. Soltani S, Hammami R, Cotter PD, Rebuffat S, Ben Said L, Gaudreau H, et al. Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations. *FEMS Microbiol Rev*. 2021;45(5):fub038.
 23. Hassan MU, Nayab H, Rehman TU, Williamson MP, Haq KU, Shafi N, et al. Characterisation of bacteriocins produced by *Lactobacillus* spp. isolated from the traditional pakistani yoghurt and their antimicrobial activity against common foodborne pathogens. *Biomed Res Int*. 2020;2020:8848634.
 24. Kers JA, Sharp RE, Defusco AW, Park JH, Xu J, Pulse ME, et al. Mutacin 1140 lantibiotic variants are efficacious against *Clostridium difficile* infection. *Front Microbiol*. 2018;9:569.
 25. 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*. *J Phys Conf Ser*. 2019;1374(1):012048.
 26. Khoiriyah H, Ardiningsih P. Penentuan waktu inkubasi optimum terhadap aktivitas bakteriosin *Lactobacillus* sp. RED4. *J Kimia Khatulistiwa*. 2014;3(4):52-56.
 27. Warizka M. Uji Daya Hambat *Lactobacillus crispatus* Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. 2020.