

EFEKTIVITAS PROBIOTIK SINGLE DAN MULTI STRAIN TERHADAP *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

M. Widianingsih¹, E. F. Yunita²

¹ Fakultas Sains, Teknologi dan Analisis

²Program Studi D4 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan
Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri, Jawa Timur

e-mail: widianingsihmastuti910224@gmail.com, erafitria9@gmail.com

ABSTRAK

Probiotik dapat dijadikan sebagai pengobatan alternatif pengganti antibiotik. Penggunaan probiotik mampu meningkatkan kesehatan *host* dengan cara menyeimbangkan jumlah mikroflora normal sehingga dapat meningkatkan fungsi *barrier* mukosa dan mencegah timbulnya infeksi. Penelitian ini bertujuan mengetahui efektivitas probiotik *single strain* dan *multi strain* terhadap *E. coli* sebagai salah satu bakteri yang sering menyebabkan diare. Metode yang digunakan adalah difusi sumuran (60 µl) dengan lama inkubasi 3x24 jam dan pengukuran zona jernih dilakukan setiap 1x24 jam. Hasil penelitian menunjukkan probiotik *multi strain* lebih efektif menghambat *E. coli*. Bakteri asam laktat dalam probiotik menghasilkan asam laktat dan bakteriosin yang mengubah suasana asam sehingga menimbulkan perforasi. Kebocoran nutrisi dan masuknya senyawa antibakteri akibat lisisnya dinding sel mengakibatkan rusaknya permeabilitas membran dan hilangnya *proton motive force* (PMF). Kondisi tersebut akan mengganggu proses metabolisme dan kematian sel. Kesimpulan dari penelitian ini adalah penggunaan probiotik *single strain* dan *multi strain* efektif dalam menghambat *E. coli*.

Kata kunci : Efektivitas, *in vitro*, probiotik

ABSTRACT

Probiotics can be used as an alternative treatment for antibiotics. The use of probiotics can increased host health by balancing the total of normal microflora so as to improve the function of mucosal barrier and prevent the occurrence of infection. The objective of this research to determine the effectivity of single strain and multi strains probiotics to *E. coli* as one of the bacteria that often causes diarrhea. The method used was the diffusion of wells (60 µl) with the incubation time of 3x24 hours and the measurement of clear zone was done every 1x24 hours. The results showed that multi strain probiotics are more effective in inhibiting *E. coli*. Lactic acid bacteria in probiotics produced lactic acid and bacteriocin which alters the acidic atmosphere resulting in perforation. Leakage of nutrients and the entry of antibacterial compounds due to cell wall lysis result in destruction of membrane permeability and loss of proton motive force (PMF). These conditions will interfere with metabolic processes and cell death. It would be concluded the used single strain and multi strain effective in inhibiting *E. coli*.

Keyword: Effectivity, *in vitro*, probiotic

PENDAHULUAN

Di Indonesia, angka kematian yang disebabkan karena bakteri masih cukup tinggi dan sangat mengkhawatirkan (Hasibuan, 2016). Muslimin (2016)

menyatakan bahwa sekitar 2-10% kasus infeksi akibat *E. coli* menyebabkan kematian, khususnya pada anak-anak. Kasus diare yang disebabkan infeksi *E. coli*

berkisar 34,85% (Jurnal *et al.*, 2009). Selain itu, sekitar 50% infeksi nosokomial, infeksi saluran kemih (\pm 90%) (Geo. F. Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse, 2013), serta sepsis dan meningitis (Huda, 2013) juga disebabkan oleh *E. coli*.

E. coli merupakan salah satu jenis bakteri batang Gram negatif berukuran 0,4-0,7x1,4 μ m, motil, namun tidak memiliki spora. Bakteri tersebut sebenarnya merupakan salah satu flora normal saluran pencernaan yang berperan dalam fungsi metabolisme di dalam usus, seperti sintesis vitamin K. *E. coli* dikatakan sebagai bakteri oportunistik dan bersifat patogen jika berada pada jaringan di luar usus atau di luar habitatnya (Geo. F. Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse, 2013).

Selama ini pengobatan infeksi yang umum dilakukan dengan mengonsumsi antibiotik. Pemilihan antibiotik yang kurang tepat dapat menimbulkan dampak negatif yaitu timbulnya resistensi bakteri dan efektivitas antibiotik yang rendah terhadap bakteri tertentu (Jurnal *et al.*, 2009). Sharma *et al.* (2009) dalam Muhajir *et al.* (2016) menyatakan bahwa sekitar 29% pengobatan infeksi akibat *E. coli* menunjukkan efek resisten terhadap antibiotik.

Kurangnya efek samping penggunaan probiotik menunjukkan bahwa probiotik lebih aman digunakan dibandingkan dengan antibiotik. *International Life Science Institute* (ILSI) mendefinisikan probiotik sebagai makanan yang apabila dikonsumsi dapat bermanfaat bagi kesehatan dengan meningkatkan sistem imun tubuh (Kusumaningsih, 2014). Selain itu, penggunaan probiotik memiliki keuntungan yaitu dapat meningkatkan kesehatan *host* (I. I. Arief, B. Sri Laksmi Jenie, M. Astawan, 2010) dengan cara menyeimbangkan jumlah mikroflora normal. Selain itu, probiotik memiliki aktivitas anti karsinogenik, meningkatkan pencernaan dan absorpsi makanan, serta memodulasi *innate immunity* (Kusumaningsih, 2014).

Probiotik berdasarkan kandungannya, terbagi menjadi dua yaitu probiotik *single* dan *multi strain*. Probiotik *single strain* terdiri dari 1 *strain* bakteri asam laktat yang memiliki efektivitas terhadap bakteri patogen tertentu, sedangkan probiotik *multi strain* terdiri dari 2 atau lebih *strain* bakteri asam laktat yang dikombinasi dan dapat bekerja secara bersinergi dalam menghambat bakteri patogen dalam tubuh (Saxelin *et al.*, 2010).

Jenis bakteri asam laktat yang umum digunakan dalam probiotik adalah genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Rahmi and Gayatri, 2015). *Bifidobacterium* merupakan flora normal pada usus besar, sedangkan *Lactobacillus* lebih dominan berada di usus kecil (Saxelin *et al.*, 2010). Genus *Lactobacillus* yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Bakteri tersebut mensekresikan enzim katalase yang dapat menormalkan jumlah flora normal di saluran pencernaan (Prima Nanda Fauziah, Jetty Nurhajati, 2015). Selain itu, bakteri asam laktat mampu memproduksi *antimicrobial peptide* yaitu senyawa protein yang memiliki berat molekul rendah yang memiliki aktivitas penghambatan ataupun membunuh bakteri, serta bertindak sebagai kofaktor *immune system* (Özdemir, 2010).

Prima Nanda Fauziah dan Jetty Nurhajati (2015) menyatakan bahwa *Lactobacillus bulgaricus* memproduksi asam laktat dan bakteriosin yang memiliki aktivitas antibakteri. Jenis *Lactobacillus* yang lain, seperti *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, dan *Lactobacillus gasseri* memiliki sifat probiotik yang baik dan menunjukkan zona hambat yang luas terhadap *E. coli* dengan inkubasi 1x24 jam (Pratima Pradhan, Rama Charan Mohanty, 2011).

Lama waktu paparan probiotik memiliki korelasi positif terhadap aktivitas probiotik. Aqil *et al.* (2015) menyatakan paparan probiotik selama 24-72 jam ternyata mampu meningkatkan jumlah bakteri asam laktat dalam tubuh. Hal tersebut dapat menghambat pembentukan koloni bakteri

patogen dengan adanya peningkatan jumlah bakteri asam laktat sebagai kompetitor pada reseptor adhesi.

Berdasarkan uraian tersebut di atas, tujuan penelitian ini adalah guna mengetahui efektivitas probiotik *single* dan *multi strain* dalam menghambat *E. coli*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini melibatkan tahap pembuatan media dan kultur bakteri, serta pengujian aktivitas probiotik *single* dan *multi strain* yang dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri pada bulan Mei-Juni 2017. Desain penelitian yang digunakan yaitu eksperimen laboratorium dengan metode *posttest random design*. Variabel bebas (*independent*) yang digunakan adalah probiotik *single* dan *multi strain*, sedangkan

variabel terikatnya (*dependent*) adalah zona hambat *E. coli*. Variabel bebas yang digunakan akan diamati efektivitasnya setiap 1x24 jam dengan 3 kali pengamatan (1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam). Kontrol yang digunakan adalah kontrol negatif yaitu *aquadest* steril.

Sampel yang digunakan adalah probiotik *single* dan *multi strain*. Total perlakuan yaitu 28 (**Tabel 1**) dengan rincian 7 perlakuan 4 ulangan yang ditentukan dengan rumus Federer (Prameswari, 2014) yaitu :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan
n = jumlah ulangan

Tabel 1 Rincian Perlakuan Probiotik *Single* dan *Multi Stain* terhadap *E. coli*

Perlakuan	
P1	Probiotik <i>single strain</i> inkubasi 1x24 jam
P2	Probiotik <i>single strain</i> inkubasi 2x24 jam
P3	Probiotik <i>single strain</i> inkubasi 3x24 jam
P4	Probiotik <i>multi strain</i> inkubasi 1x24 jam
P5	Probiotik <i>multi strain</i> inkubasi 2x24 jam
P6	Probiotik <i>multi strain</i> inkubasi 3x24 jam
P7	Kontrol (<i>Aquadest</i> steril)

Uji efektivitas probiotik dilakukan dengan metode *well diffusion* dengan ukuran *well* 60 μ l (Khusnul Khotimah, 2014). Efektivitas probiotik diketahui dengan terbentuknya zona jernih di sekitar sumuran yang diukur sebagai mili meter (mm) diameter zona jernih dikurangi dengan diameter *well* yaitu 8 mm (Buadiana, S. M. A., Kojong, N. S., Wewekang, 2015).

Data yang didapatkan kemudian diuji normalitas dan homogenitas. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* guna mengetahui ada tidaknya perbedaan tiap perlakuan probiotik *single* dan *multi strain* terhadap *E. coli* dengan taraf kesalahan 5%. Uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT)

dilakukan jika terdapat perbedaan antar perlakuan.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan meliputi tabung reaksi, rak tabung, erlenmeyer, neraca analitik, spatel, tabung reaksi, *plate*, ose bulat, pecadang baja, *aluminium foil*, *cotton swab*, pinset, *inkase*, jangka sorong, *micropipette*, *yellow tip*, *blue tip*, pengaduk, bunsen, korek api, kertas label, alat tulis, tisu, pinset, inkubator, dan kamera sebagai alat dokumentasi.

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi kultur *E. coli*, probiotik *single* dan *multi strain*,

Nutrient Agar (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Mac Conkey Agar* (MCA), *Eosin Methylene Blue* (EMB), alkohol 70%, spirtus, H₂SO₄ 1%, BaCl₂ 1%, NaCl 0,9%, *swab* steril, *aluminium foil*, dan *aquadest* steril.

Prosedur Penelitian

a. Pembuatan larutan McFarland (McFarland, 1907)

Larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,5 ml dicampurkan dengan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,5 ml dalam tabung reaksi. Larutan kemudian dihomogenkan sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji.

b. Peremajaan bakteri (Castro-rosas *et al.*, 2012)

Proses peremajaan bakteri dimulai dengan pembuatan media pemupuk, media diferensial, dan media selektif untuk *E. coli*. Pembuatan media dilakukan dengan cara steril yaitu sterilisasi alat dilakukan dengan menggunakan oven (suhu 170°C) dan sterilisasi media menggunakan autoclave (121°C; 1,5 atm). Koloni *E. coli* ditanam pada media pemupuk *Nutrient Broth* kemudian inkubasi 1x24 jam. Tujuannya adalah untuk memperbanyak jumlah bakteri tersebut. Hari kedua dilakukan inokulasi pada media *Mac Conkey Agar* (MCA) kemudian inkubasi 1x24 jam. Hari ketiga, koloni yang tumbuh pada media MCA selanjutnya diinokulasi pada media EMB. Koloni berwarna hijau *methalic sheen* yang tumbuh setelah masa inkubasi 1x24 jam pada media tersebut merupakan koloni *E. coli*.

c. Pembuatan suspensi *E. coli* (Nua, A. R., Fatimawali, Widdhi, 2016)

E. coli hasil peremajaan diambil dengan jarum ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 5 ml larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan McFarland. Apabila kekeruhan suspensi *E. coli* sama dengan kekeruhan standart maka diartikan bahwa jumlah bakteri 1,5x10⁹/ml.

d. Pembuatan larutan probiotik (Andhika Agus Setyawan, Sukanto, 2014)

Probiotik dilarutkan dengan rumus b/v dengan b adalah massa (gram) dan v sebagai volume (ml) dengan konsentrasi 100% untuk masing-masing probiotik. Pembuatan konsentrasi dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 1 g probiotik *single* dan *multi strain* kemudian masing-masing probiotik dilarutkan dalam 1 ml *aquadest* steril.

e. Pembuatan media pengujian probiotik (Buadiana, S. M. A., Kojong, N. S., Wewekang, 2015)

Nutrient Agar (NA) merupakan media yang digunakan pada pengujian probiotik. Sebanyak 5 pecandang baja diletakkan pada *plate* diatur sedemikian rupa jaraknya agar daerah pengamatan tidak saling bertumpuh. Setelah itu, media NA dituang secara hati-hati ke dalam *plate* kurang lebih sebanyak 10 ml. Jika media sudah memadam, maka pecandang baja dapat dilepaskan dari media NA dan media siap digunakan untuk pemeriksaan aktivitas probiotik.

f. Pemeriksaan aktivitas probiotik (Buadiana, S. M. A., Kojong, N. S., Wewekang, 2015)

Ketentuan pemeriksaan adalah dalam 1 *plate* diisi dengan 1 jenis probiotik saja (misalnya hanya probiotik *single strain* saja). Suspensi *E. coli* digoreskan pada media NA secara merata dengan menggunakan *swab* steril. Sebanyak 60 µl larutan probiotik *single* dan *multi strain* dimasukkan pada masing-masing *well* pada tiap *plate* (4 *well* untuk probiotik), kemudian 1 *well* dimasukkan 60 µl *aquadest* steril sebagai kontrol negatif (Khikmah, 2015). Inkubasi selama 3x24 jam dengan kombinasi waktu pengamatan zona hambat yaitu 1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Probiotik *single strain* merupakan probiotik yang terdiri dari satu bakteri asam laktat, sedangkan probiotik *multi strain* mengandung lebih dari satu bakteri asam laktat yang bekerja secara bersinergi dalam menghambat bakteri patogen (Saxelin *et al.*, 2010). Pengujian efektivitas kedua probiotik tersebut dilakukan dengan metode *well diffusion* terhadap *E. coli*.

Pengamatan dilakukan dengan 4 kali pengulangan untuk masing-masing probiotik. Inkubasi pada suhu inkubator 37°C selama 3x24 jam dan diamati setiap 1x24 jam. Kemampuan penghambatan probiotik terhadap *E. coli* ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekitar *well*.

Uji normalitas dan uji homogenitas harus dilakukan sebelum data dianalisa

dengan *One Way Anova*. Uji normalitas dilakukan menggunakan *Shapiro-wilk* karena jumlah data yang diperoleh kurang dari 50. Berdasarkan **Tabel 2** menunjukkan bahwa data yang didapat pada penelitian ini normal (sig.>0,05) dan terdistribusi secara homogen (sig.>0,05) (**Tabel 3**), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Uji tersebut bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan.

Berdasarkan hasil *One Way Anova* menunjukkan bahwa probiotik *single* dan *multi strain* mempunyai aktivitas antibakteri yang berbeda terhadap *E. coli*. Hasil uji tersebut menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan probiotik *single* dan *multi strain* yang ditunjukkan dengan nilai F hitung lebih besar dari F tabel pada tingkat signifikansi kurang dari 0,05 (**Tabel 4**).

Tabel 2. Uji Normalitas

	Probiotik dan Waktu Inkubasi	Shapiro-Wilk ^a		
		Statistic	Df	Sig.
Diameter zona hambat	P1 (Single strain 1x24 jam)	,763	4	,051
	P2 (Single strain 2x24 jam)	,927	4	,577
	P3 (Single strain 3x24 jam)	,927	4	,577
	P4 (Multi strain 1x24 jam)	,927	4	,855
	P5 (Multi strain 2x24 jam)	,963	4	,798
	P6 (Multi strain 3x24 jam)	,801	4	,103

Keterangan :

Kontrol (P7) memiliki diameter zona hambat yang konstan yaitu 8 mm

Tabel 3. Uji Homogenitas

Diameter zona hambat	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	1,865	6	21	,135

Tabel 4. Uji One Way Anova

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Diameter zona hambat	Between Group	325,357	6	54,226	11,002	,000
	Within Group	103,500	21	4,929		
	Total	428,857	72			

Keterangan :

Taraf signifikansi <0,05

Huruf yang tertera pada diameter zona hambat **Tabel 5** menunjukkan letak perbedaan antar tiap perlakuan yang diberikan pada *E. coli*. Tidak hanya jenis probiotik yang berpengaruh terhadap penghambatan *E. coli* namun juga lama waktu inkubasi (**Gambar 1**). Di penelitian ini, digunakan 3 variasi waktu inkubasi yaitu 1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam. Hal tersebut dikarena golongan bakteri asam laktat mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam kurun waktu tertentu. Selain itu, jenis bakteri asam laktat membutuhkan lama waktu yang berbeda-beda dalam meningkatkan jumlah senyawa

antibakteri berupa asam-asam organik (Yuliana, Afrianto and Pratama, 2015).

Senyawa bakteriosin mampu merusak permeabilitas membran dan juga menghilangkan *proton motive force* (PMF) sehingga dapat menghambat produksi energi dan juga biosintesis protein. *Proton motive force* berfungsi menjaga keseimbangan pH asam intraseluler. Mekanisme aktivitas bakterisidal bakteriosin terjadi melalui kontak langsung bakteriosit dengan membran sel. Proses ini mampu mengganggu destabilitas membran sehingga mengakibatkan perforasi melalui gangguan PMF (Sunaryanto, 2015).

Tabel 5. Rata-rata zona hambat probiotik *single* dan *multi strain* terhadap *E. coli* secara *in vitro*

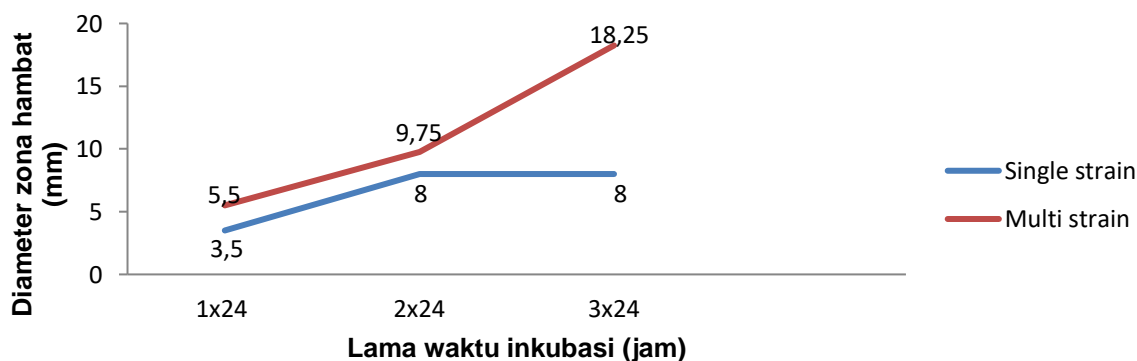
Perlakuan	Probiotik	Diameter zona hambat (mm)
P1	<i>Single strain</i> 1x24 jam	3,50 ^b
P2	<i>Single strain</i> 2x24 jam	8,00 ^{cd}
P3	<i>Single strain</i> 3x24 jam	8,00 ^{cd}
P4	<i>Multi strain</i> 1x24jam	5,50 ^{bc}
P5	<i>Multi strain</i> 2x24jam	9,75 ^d
P6	<i>Multi strain</i> 3x24jam	10,25 ^d
P7	Kontrol	0,00 ^a

Keterangan:

Huruf yang berbeda menunjukkan letak perbedaan antar perlakuan

Gangguan PMF salah satunya adalah reduksi PMF. Apabila PMF berkurang, proton yang berasal dari substansi ekstraseluler dapat masuk secara berlebihan ke dalam sel. Hal tersebut dapat mengganggu fungsi metabolik, sehingga

menyebabkan ketidakmampuan sel dalam mengangkut nutrisi dan mempertahankan konsentrasi molekul kofaktor yang berakibat pada terjadinya kematian sel bakteri patogen (Khusnul Khotimah, 2014).



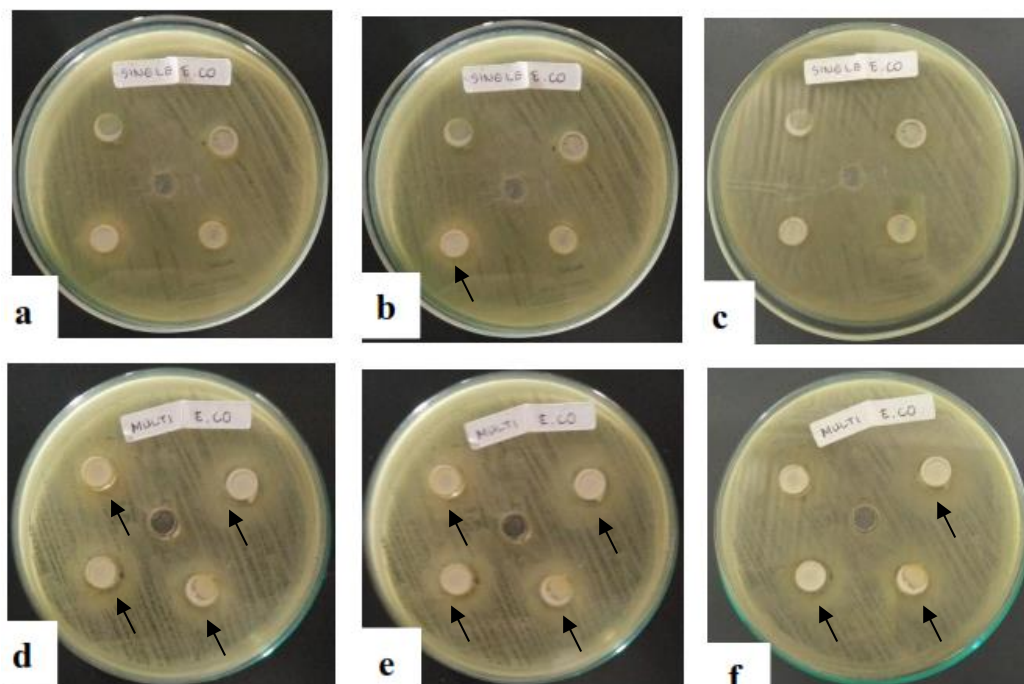
Gambar 1. Efektifitas rata-rata probiotik *single strain* dan *multi strain* terhadap *E. coli*

Zona hambat yang terbentuk berbanding lurus dengan lamanya waktu inkubasi (**Gambar 1**). Pembentukan zona hambat pada perlakuan probiotik *multi strain* lebih besar jika dibandingkan dengan probiotik *single strain* dalam menghambat *E. coli*. Hal ini didukung oleh Pratima Pradhan dan Rama Charan Mohanty (2011) yang menyatakan bahwa probiotik *multi strain* memiliki efektivitas lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. *Lactobacillus acidophilus* W55, *Lactobacillus casei* W56, *Lactobacillus salivarius* W57, *Bifidobacterium lactis* W55, *Bifidobacterium lactis* W56, dan *Lactococcus lactis* W58 merupakan komposisi penyusun probiotik *multi strain* yang digunakan pada penelitian ini.

Semakin banyak jumlah bakteri asam laktat (BAL) yang ada di dalam probiotik akan berkorelasi positif terhadap jumlah senyawa antibakteri dan zona hambat yang terbentuk. Asam laktat dan asam asetat yang dibentuk oleh bakteri asam laktat

penting dalam pembentukan senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri yang dihasilkan seluruh bakteri dalam probiotik *multi strain* saling berasosiasi sehingga dalam menghambat bakteri patogen (Saxelin *et al.*, 2010) sehingga dihasilkan spektrum penghambatan yang luas (Mirdalisa and Zakaria, 2016).

Kerusakan dinding sel akibat adanya asam laktat mampu merusak permeabilitas *E. coli*. Peningkatan suasana asam mampu menyebabkan lisisnya dinding sel bakteri, sehingga pertumbuhan akan terhambat bahkan *E. coli* tidak dapat tumbuh dalam kondisi tersebut (Anik Maunatin, 2012; Dwi Isyana Achmad, Risa Nofiani, 2012). Kerusakan dinding sel mengakibatkan senyawa antibakteri lainnya seperti diasetil, hidrogen peroksida, dan bakteriosin akan masuk ke sitoplasma kemudian merusak aktivitas intraseluler yang berakhir pada kematian bakteri patogen (Dwi Isyana Achmad, Risa Nofiani, 2012; Khikmah, 2015; Prima Nanda Fauziah, Jetty Nurhajati, 2015).



Gambar 2. Zona hambat probiotik *single* dan *multi strain* terhadap *E. coli*. Keterangan : (a-c) Probiotik *single strain* (a) inkubasi 1x24 jam; (b) inkubasi 2x24 jam; (c) inkubasi 3x24 jam. (d-f) Probiotik *multi strain* (d) inkubasi 1x24 jam; (e) inkubasi 2x24 jam; (f) inkubasi 3x24 jam. Tanda panah menunjukkan zona hambat.

Selain itu, *E. coli* tidak memiliki asam teikoat dan komposisi peptidoglikan yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan bakteri Gram positif, sehingga dinding sel *E. coli* lebih rentan terhadap kerusakan mekanik (Cotter and Hill, 2003 dalam Khikmah, 2015). Selain itu, rusaknya permeabilitas sel dapat menyebabkan kebocoran nutrisi dan terganggunya metabolisme sel yang berakibat pada kematian bakteri (Dwi Isyana Achmad, Risa Nofiani, 2012).

Pada penelitian ini, zona hambat yang terbentuk tidak jernih (agak berkabut) (**Gambar 2**). Hal ini diduga terjadi kontaminasi mikroba lain berupa jamur saat penelitian karena ketidakmampuan bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan jamur. Menggelea, F. P., Posangi, J., Wowor, M. W. (2015) menyatakan bahwa zona hambat berupa zona jernih dapat terbentuk pada waktu inkubasi kurang dari 24 jam, sehingga zona tersebut dapat ditumbuhi oleh mikroorganisme yang lainnya.

SIMPULAN DAN SARAN

SIMPULAN

Simpulan penelitian ini adalah probiotik *multi strain* lebih efektif dibandingkan probiotik *single strain* terhadap *E. coli*. Hal tersebut ditunjukkan dengan pembentukan zona hambat pada kombinasi lama inkubasi 1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam.

SARAN

Dilakukan penelitian uji efektivitas probiotik menggunakan probiotik *single* dan *multi strain* dengan komposisi bakteri asam laktat yang berbeda. Selain itu, uji yang dilakukan sebaiknya dibandingkan dengan antibiotik, sehingga dapat diketahui tingkat keefektifan antara probiotik dengan antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- ANDHIKA AGUS SETYAWAN, SUKANTO, E. W. (2014) 'POPULASI BAKTERI ASAM LAKTAT PADA BUDIDAYA IKAN NILA', *Scripta Biologica*, 1(1), pp. 91–95.
- Anik Maunatin, K. (2012) 'UJI POTENSI PROBIOTIK *Lactobacillus plantarium* SECARA IN-VITRO', *Alchemy*, 2(1), pp. 26–34.
- Aqil, H., Risdianto, D., Studi, P., Kimia, T. and Hasyim, U. W. (2015) 'ISOLASI DAN PENGAYAAN BAKTERI LACTOBACILLUS DARI RUMEN SAPI', *Momentum*, 11(2), pp. 93–98.
- Buadiana, S. M. A., Kojong, N. S., Wewekang, D. S. (2015) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* secara In Vitro.', *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(4), pp. 214–223.
- Castro-rosas, J., Cerna-cortés, J. F., Méndez-reyes, E., Lopez-hernandez, D., Gómez-aldapa, C. A. and Estrada-garcia, T. (2012) 'International Journal of Food Microbiology Presence of faecal coliforms, *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water', *International Journal of Food Microbiology*. Elsevier B.V., 156(2), pp. 176–180. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.025.
- Dwi Isyana Achmad, Risa Nofiani, P. A. (2012) 'KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus* sp. RED 1 DARI CINCALOK FORMULASI 1', *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(2), pp. 12–18.
- Geo. F. Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse, T. A. M.

- (2013) *Medical Microbiology*. Twenty-Six. Mc Grow Hill USA.
- Innate Immune Cells), *Oral Biology Journal*, 6(2), pp. 45–50.
- Hasibuan, S. A. (2016) 'COMPARISON THE INHIBITION OF LEAVE EXTRACT *Jatropha curcas* Linn AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli* BACTERIA VIA IN VITRO', pp. 19–20.
- Menggelea, F. P., Posangi, J., Wowor, M. W., B. R. (2015) 'Uji Efek Antibakteri Jamur Endosimbion *Spongia Laut Callyspongia* sp. Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*', *Jurnal e- Biomedik*, 3(1), pp. 376–380.
- Huda, M. (2013) 'Pengaruh Madu Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus Aureus*) Dan Bakteri Gram Negatif (*Escherichia Coli*) Effect On The Growth Of Honey gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*)', *Jurnal Analis Kesehatan*, 2(1), pp. 250–259.
- Mirdalisa, C. A. and Zakaria, Y. (2016) 'Efek Suhu dan Masa Simpan Terhadap Aktivitas Antimikroba Susu Fermentasi dengan *Lactobacillus casei*', *Agripet*, 16(1), pp. 49–55.
- I. I. Arief, B. Sri Laksmi Jenie, M. Astawan, dan A. B. W. (2010) 'Efektivitas Probiotik *Lactobacillus plantarum* 2C12 dan *Lactobacillus acidophilus* 2B4 Sebagai Pencegah Diare pada Tikus Percobaan', *Media Peternakan*, (2000), pp. 137–143. doi: 10.5398/medpet.2010.33.3.137.
- Muhajir, A. S., Purwono, P. B., Handayani, S., Ilmu, D., Masyarakat, K., Kedokteran, F., Airlangga, U., Muhajir, A. S., Purwono, P. B. and Handayani, S. (2016) 'Gambaran Terapi dan Luaran Infeksi Saluran Kemih oleh Bakteri Penghasil', *Sari Pediatri*, 18(2), pp. 111–116.
- Jurnal, Y. D., Sayoeti, Y., Ilmu, B. and Anak, K. (2009) 'POLA RESISTENSI KUMAN PENYEBAB DIARE TERHADAP ANTIBIOTIKA', *Majalah Kedokteran Andalas*, 33(1), pp. 42–47.
- Muslimin, L. (2016) 'Zoonotik Bakteri Patogen *Escherichia coli* O157:H7 Penyebab Food Borne Disease', *Seminar Nasional Ke-4*, 21(2), pp. 31–38.
- Khikmah, N. (2015) 'Uji ANTibakteri Susu Fermentasi Komersial Pada Bakteri Patogen', *Jurnal Penelitian Saintek*, 10(1), pp. 45–52.
- Nua, A. R., Fatimawali, Widdhi, B. (2016) 'Uji Kepekaan Bakteri Yang Diisolasi Dan Diidentifikasi Dari Urin Penderita Infeksi Saluran Kemih (ISK) Di RSUP Prof. Dr. D. Kandaou Manado Terhadap Antibiotik Cefixime, Ciprofloxacin Dan Contrimoksazole', *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(4), pp. 174–181.
- Khusnul Khotimah, J. K. (2014) 'dactilyfera L .) MENGGUNAKAN *Lactobacillus plantarum* DAN *Lactobacillus casei* Antibacterial Activity of Probiotic Date Fruit (*Phoenix dactilyfera* L .) Beverages Using *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*', *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(3), pp. 110–120.
- Özdemir, Ö. (2010) 'Various effects of different probiotic strains in allergic disorders: an update from laboratory and clinical data', *The Journal of Translational Immunology*, 160, pp. 295–304. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04109.x.
- Kusumaningsih, T. (2014) 'Peran bakteri probiotik terhadap Innate Immune Cell (The role of probiotic bacteria on SEBAGAI ANTI BAKTERI TERHADAP BAKTERI *Escherichia*

coli'. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

Natrium Asetat Terhadap Masa Simpan Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) Pada Suhu Rendah', *Jurnal Perikanan Kelautan*, VI(2), pp. 85–90.

Pratima Pradhan, Rama Charan Mohanty, and A. M. (2011) 'SELECTION OF PROBIOTIC LACTOBACILLUS SPECIES TO ERADICATE RESISTANT UROGENITAL PATHOGENS IN PREGNANT WOMEN', *International Journal of Probiotik and Prebiotics*, 6(1), pp. 13–20.

Prima Nanda Fauziah, Jetty Nurhajati, C. (2015) 'Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* KS1 dalam Menghambat Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* Antibacterial Effect of Lactic Acid Filtrate and Bacteriocins of *Lactobacillus bulgaricus* KS1 on Inhibiting the Growth of', *Majalah Kedokteran Bandung*, 47(1), pp. 35–41.

Rahmi, D. and Gayatri, P. (2015) 'Laporan kasus berbasis bukti Manfaat Pemberian Probiotik pada Diare Akut', *Sari Pediatri*, 17(71), pp. 76–80.

Saxelin, M., Tynkkynen, S., Salusjärvi, T., Kajander, K., Mattila-sandholm, T., Korpela, R. and Myllyluoma, E. (2010) 'Developing a multispecies probiotic combination 1,2', *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 5(4), pp. 169–182.

Sunaryanto, R. (2015) 'ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERIOSIN YANG DIHASILKAN OLEH *Lactobacillus lactis* DARI SEDIMEN LAUT Isolation and Characterization of Bacteriosin from *Lactobacillus lactis* Isolated from Marine Sediment', *JPB Kelautan dan Perikanan*, 10(1), pp. 11–18.

Yuliana, G., Afrianto, E. and Pratama, I. (2015) 'Aplikasi Kombinasi Bakteri Asam Laktat , Natrium Klorida Dan