

DAYA HAMBAT PROBIOTIK TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans*

(Growth Inhibition of Probiotics on The Growth of *Streptococcus mutans*)

Amandita Parameswari¹, Satiti Kuntari², Herawati²

-
1. Mahasiswa Strata 1 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya
 2. Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya

ABSTRACT

Background: Dental caries is one of the major human diseases caused by the oral microbial flora. *Streptococcus mutans* is the main bacteria causing dental caries. Previous studies have suggested that probiotics in dairy products may affect oral ecology and plays a role in the maintenance of oral health. **Purpose:** The aim of this study was to investigate the effect of probiotics *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium longum* on the growth of *Streptococcus mutans*. **Materials and Method:** Probiotics *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium longum* were tested for their antimicrobial activity of its metabolit products on *Streptococcus mutans* growth using agar diffusion method with paper disc in MRS agar. **Results:** The presence of antimicrobial activity were shown by inhibition zone which formed around paper discs contained with metabolit products of *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium longum* in the agar plates. No inhibition zone were formed in the control plate which paper discs contained with non-probiotic milk. **Conclusion:** Probiotics *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium longum* have inhibition effect on the growth of *Streptococcus mutans* which is the main bacteria causing tooth caries.

Key words: probiotic, *Streptococcus mutans*, growth inhibition

Korespondensi (correspondence): Satiti Kuntari, Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Jl. Prof.Dr.Moestopo 47 Surabaya 60132 Indonesia. Email: satitikuntari@gmail.com

PENDAHULUAN

Probiotik adalah pangan yang mengandung mikroorganisme hidup yang secara aktif dapat meningkatkan kesehatan dengan cara memperbaiki keseimbangan flora usus jika dikonsumsi dalam keadaan hidup dengan jumlah yang memadai.¹ Bakteri probiotik banyak terdapat pada berbagai makanan dan produk susu, baik yang terdapat maupun yang ditambahkan pada produk tersebut. Banyak manfaat dari bakteri probiotik, antara lain membantu respon imun, meningkatkan resistensi terhadap patogen, mengurangi bakteri merugikan dalam tubuh, menjaga keseimbangan mikroba pada usus, meningkatkan kinerja sistem pencernaan dan penyerapan makanan². Beberapa studi menunjukkan bahwa bakteri probiotik juga

memiliki pengaruh dalam ekologi rongga mulut. Asidogenik *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* berkaitan erat dengan proses karies. Terdapat dua penelitian di Finland yang menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kesehatan gigi dan penurunan jumlah *Streptococcus mutans* pada anak-anak sekolah yang mengkonsumsi susu atau keju yang mengandung bakteri probiotik *Lactobacillus rhamnosus* GG.³ Beberapa strain bakteri probiotik memiliki efek positif dalam mengurangi jumlah *Streptococcus mutans* di saliva rongga mulut manusia.^{4,7}

Terdapat produk susu formula untuk anak usia pertumbuhan yang mengandung probiotik. Beberapa produk susu formula tersebut menambahkan bakteri probiotik antara lain *Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus*

rhamnosus. Pada susu formula yang menambahkan bakteri probiotik *Lactobacillus paracasei* dan *Bifidobacterium longum* pada produknya, perlu diketahui apakah terdapat kemampuan menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada kedua jenis bakteri tersebut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antimikroba kombinasi isolat bakteri probiotik *Lactobacillus paracasei* dan *Bifidobacterium longum* terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

BAHAN DAN METODE

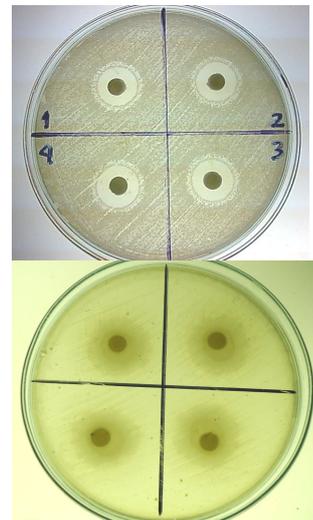
Penelitian ini meneliti daya hambat bakteri probiotik *Lactobacillus paracasei* dan *Bifidobacterium longum* terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Metode difusi agar dengan *paper disc* digunakan dalam penelitian ini, dengan stok bakteri *Streptococcus mutans* sebagai sampel penelitian. Suspensi stok bakteri gabungan *Lactobacillus paracasei* dan *Bifidobacterium longum* dengan kepadatan 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) dikultur pada 60 cc media MRS broth yang telah disuplementasi dengan 6 gr susu lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dipisahkan antara sel bakteri dengan produk metabolit bakteri dengan cara sentrifuse 12000 rpm selama 1 menit. Bagian supernatan difiltrasi dengan Millipore membran filter lalu didapatkan senyawa metabolit *cell free culture*. Sebagai kontrol, digunakan susu formula sebanyak 0,5 gr yang diencerkan pada 5 cc media MRS broth, inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Stok biakan *Streptococcus mutans* standard McFarland 0,5 diinokulasi pada media MRS agar dengan teknik *streaked plate* menggunakan *cotton bud* steril. Metode yang digunakan adalah metode *paper disc* difusi agar pada media MRS agar. Letakkan *paper disc* berukuran 5 mm diatas media MRS agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri *Streptococcus mutans*. Teteskan produk senyawa metabolit yang telah difiltrasi pada *paper disc* sehingga didapatkan volume senyawa metabolit *cell free culture* pada *paper disc* adalah sebanyak 100 µl. Lakukan pada keempat *paper disc* pada plat perlakuan dan plat kontrol. Inkubasi media MRS agar tersebut pada suhu 37°C selama 1-2 x 24 jam. Amati zona jernih yang terbentuk di sekeliling *paper disc* yang merupakan zona hambatan, lalu ukur diameter terbesar dan terkecil zona

hambatan dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL

Didapatkan zona hambatan yaitu area jernih yang terbentuk di sekitar *paper disc* pada media MRS agar yang diukur dalam milimeter dari pinggiran *paper disc* sampai lingkaran terluar zona jernih menggunakan jangka sorong. Nilai rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan pada plat 1 dan 2 adalah sebesar 12,58 mm dan plat kontrol menghasilkan diameter zona hambat sebesar 0 mm.



Gambar 1. Zona hambat pada salah satu plat perlakuan dan plat kontrol

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terbentuk zona hambatan yang memiliki karakteristik terdiri dari beberapa zona, di sekitar *paper disc* terbentuk sebuah zona *complete inhibition*, yang dikelilingi zona lingkaran pertumbuhan mikroba *partially inhibited*, diikuti oleh zona *stimulated growth* yang meliputi seluruh daerah yang pertumbuhan mikrobanya tidak dihambat oleh bahan antimikroba. Daerah *stimulated growth* menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba pada tepi luar zona hambat memiliki akses lebih banyak kepada nutrisi yang berdifusi pada media agar dan jumlah pertumbuhan massa mikroba lebih besar dibandingkan daerah dimana nutrisi telah habis lebih dahulu. Berkas *partial inhibition* terlihat tipis dan menggambarkan adanya sebuah hambatan singkat dan akhirnya terjadi pertumbuhan terlalu cepat karena adanya konsentrasi *sub-inhibitory* bahan antimikroba. Terdapat sebuah

zona lingkaran *delayed growth* yang menggambarkan sel aktif yang awalnya terhambat oleh konsentrasi bahan antimikroba pada daerah tersebut. Efek antagonistik atau antibakteri bakteri asam laktat ada dua kelompok besar, yaitu metabolit primer yang dihasilkan seperti asam laktat, CO₂, diasetil, asetaldehida dan hidrogen peroksida dan bakteriosin suatu senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakterial terhadap bakteri sejenis.⁸

Zona hambat yang terbentuk menunjukkan aktif dan resisten tidaknya suatu bakteri terhadap suatu senyawa atau zat. Diasumsikan bahwa pada konsentrasi yang terbentuk zona hambat bakterinya telah mati, dan pada konsentrasi yang tidak terbentuk zona hambat bakterinya tidak mati. Ada atau terbentuk dan tidaknya zona hambat menunjukkan kultur bakteri *Streptococcus mutans* resisten atau tidak terhadap produk senyawa metabolit bakteri probiotik. Apabila zona hambat terbentuk maka bakteri tidak resisten terhadap produk senyawa metabolit bakteri probiotik dan bakteri *Streptococcus mutans* tidak aktif. Dan apabila tidak terbentuk zona hambat berarti bakteri *Streptococcus mutans* resisten terhadap larutan produk senyawa metabolit bakteri probiotik. Menurut Lorian,⁹ besar kecilnya daya hambat dapat dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa antimikroba, jumlah mikroba, suhu, waktu, jenis mikroba, pH dan zat atau bahan organik terlarut.

Bakteri probiotik yang merupakan bakteri asam laktat menghasilkan senyawa metabolit yang berfungsi sebagai antimikroba. Proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat mempunyai ciri khas yaitu terakumulasinya asam organik yang disertai dengan penurunan nilai pH. Efek antimikroba dari asam organik merupakan akibat dari turunnya nilai pH dan juga bentuk tidak terdisosiasi dari molekul asam organik. Asam asetat dan asam propionat yang dihasilkan oleh strain bakteri asam laktat melalui fermentasi heterofermentatif berinteraksi dengan sel membran dan mengakibatkan asidifikasi intraseluler dan denaturasi protein.⁸

Efek bakterisidal senyawa H₂O₂ adalah karena terjadinya oksidasi pada sel bakteri, yaitu gugus sulfhidril dari protein sel yang mendenaturasi sejumlah enzim dan teroksidasi peroksidasi dan lipid membran meningkatkan permeabilitas membran. CO₂ bersifat

antibakteri karena menghambat dekarboksilasi enzimatis. Aktivitas antimikroba dari asam lemak mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri gram positif, disebabkan oleh molekul yang tidak terdisosiasi, karena pH mempengaruhi aktifitasnya, semakin rendah pH semakin kuat dan cepat efek antibakterinya. Selain itu terdapat bakteriosin, suatu peptida yang bersifat antibakteri, toksin yang berupa protein yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri sejenis. Aktivitas bakterisidal atau efek pembunuhan terhadap bakteri yang sensitif yaitu melalui destabilisasi fungsi permeabilitas membran sel dan pembentukan energi.⁸

Pada plat kontrol tidak terbentuk zona hambat melainkan terdapat resistensi dan pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang lebih besar di sekitar *paper disc* dibandingkan pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada *background* agar plat. Hal ini disebabkan karena kontrol berisi bahan-bahan nutrisi yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan tidak mengandung bahan antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dan sampel bakteri pathogen penyebab karies tidak langsung diisolasi dari rongga mulut manusia dan terfokus kepada pengaruh bakteri probiotik terhadap bakteri pathogen. Adanya daya hambat bakteri *Lactobacillus paracasei* dan *Bifidobacterium longum* terhadap *Streptococcus mutans* menunjukkan manfaat probiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen.

DAFTAR PUSTAKA

1. FAO, WHO. 2001. *Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*. http://www.who.int/entity/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf
2. Purwandhani SN, Rahayu E. 2003. *Isolasi dan Seleksi Lactobacillus yang Berpotensi Sebagai Agensia Probiotik*. Agritech. Vol. 23 No.2 h. 67-74.

3. Bengt K, Göran M, Bengt J, Anders L. 2008. *Use of the probiotic Lactobacillus plantarum 299 to reduce pathogenic bacteria in the oropharynx of intubated patients: a randomised controlled open pilot study*. Critical Care, 12:R136.
4. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T. 2001. *Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium Lactobacillus rhamnosus GG in milk on dental caries and caries risk in children*. Caries Res, 35:412-420.
5. Caglar E, Cildir SK, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S. *Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium Lactobacillus reuteri ATCC 55730 by straws or tablets*. Acta Odontol Scand 2006; 64: 314–8.
6. Chung J, Ha ES, Park HR, Kim S. 2004. *Isolation and characterization of Lactobacillus species inhibiting the formation of Streptococcus mutans biofilm*. Oral Microbiol Immunol. **19**(3): 214-6.
7. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, et al. 2004. *Lactobacillus reuteri in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci*. Int J Food Microbiol.;95(2):219-23.
8. Surono, Ingrid S. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta: Tri Cipta Karya.
9. Lorian, V. 2005. *Antibiotics in Laboratory Medicine 5th ed*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. p. 5, 9-11, 16-17.