

Uji Potensi Probiotik Isolat *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4 Asal Fermentasi Tigarun (*Crateva nurvala* Buch.-Ham.) Secara *In Vitro*

Gusti Nur Aida Fasha^{1*}, Hasrul Satria Nur², Nazarni Rahmi³

^{1,2}Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Indonesia

³Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri, Banjarbaru, Indonesia
gusti_aida@ulm.ac.id

ABSTRACT

Lactobacillus plantarum JBSxH.6.4 isolate was isolated from fermented food of Tigarun (*Crateva nurvala* Buch.-Ham.), a traditional fermented food from Kalimantan. This study aimed to evaluate its probiotic potential through a series of *in vitro* tests, including hemolysis analysis, tolerance to acidic pH and bile salt, inhibitory activity against pathogenic bacteria, and interactions with nonpathogenic bacteria. The results showed that *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 exhibited γ -hemolysis, confirming its non-pathogenicity. The isolate survived at pH levels of 2.0, 3.0, and 4.0, demonstrating its acid tolerance. It also exhibited resistance to 0.3% (w/v) bile salt, indicating its ability to survive in the digestive tract. Furthermore, *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 inhibited the growth of *Escherichia coli* ATCC25922 at $8,08 \pm 0,34$ mm and *Staphylococcus aureus* ATCC25923 at $8,95 \pm 0,15$ mm, suggesting its antimicrobial properties. Additionally, interaction tests indicated that it did not inhibit *Lactobacillus acidophilus* FNCC0051, supporting its compatibility with beneficial gut microbiota. These findings suggest that *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 meets key probiotic criteria and has potential applications in functional foods and health industries. Further studies, including *in vivo* evaluations, are recommended to confirm its efficacy and safety for human.

Keywords: Antibacteria, *Lactobacillus plantarum*, Probiotic, Tigarun fermentation

ABSTRAK

Isolat *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4 diisolasi dari fermentasi Tigarun (*Crateva nurvala* Buch.-Ham.), pangan fermentasi tradisional Kalimantan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi probiotik isolat tersebut melalui uji *in vitro*, yaitu analisis hemolisis, toleransi terhadap pH asam dan garam empedu, aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen, serta interaksi dengan bakteri nonpatogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 memiliki sifat γ -hemolisis, menandakan bahwa isolat ini tidak bersifat patogen. Isolat ini mampu bertahan pada pH 2,0; 3,0; dan 4,0 serta toleran terhadap garam empedu 0,3% (w/v). Selain itu, *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 menunjukkan daya hambat terhadap *Escherichia coli* ATCC25922 sebesar $8,08 \pm 0,34$ mm dan *Staphylococcus aureus* ATCC25923 sebesar $8,95 \pm 0,15$ mm. Uji interaksi juga mengindikasikan bahwa isolat ini tidak menghambat pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* FNCC0051. Berdasarkan hasil tersebut, isolat ini dianggap sebagai kandidat probiotik potensial. Studi lanjutan secara *in vivo* diperlukan untuk memastikan keamanan dan efektivitasnya bagi manusia.

Kata kunci: Antibakteri, *Lactobacillus plantarum*, probiotik, fermentasi Tigarun

PENDAHULUAN

Kesehatan manusia tidak terlepas dari bahan makanan yang dikonsumsi, sehingga hal yang berkaitan dengan bahan makanan yang masuk ke dalam tubuh manusia dan zat yang

terkandung di dalamnya merupakan aspek yang perlu dikaji lebih dalam. Salah satu kajian tentang zat yang terkandung dalam bahan makanan dan kaitannya dengan kesehatan adalah kajian mengenai probiotik. Parichat & Pongsak (2023) mendefinisikan probiotik

sebagai suplemen mikroba hidup yang terkandung dalam suatu bahan dan memiliki kemampuan dalam memperbaiki keseimbangan mikrobiota usus, sehingga dapat berdampak baik bagi kesehatan. Keberadaan probiotik pada sistem pencernaan dapat mencegah terjadinya infeksi oleh bakteri enterik, menurunkan kejadian dan durasi diare, mengatasi gangguan pencernaan pada anak-anak (*necrotizing enterocolitis*), peradangan pada saluran pencernaan (*inflammatory bowel disease*), malnutrisi, dan perbaikan sistem imun tubuh (Latif *et al.*, 2023). Penelitian mengenai probiotik juga telah banyak dikembangkan dalam beberapa tahun terakhir, antara lain: pengujian potensi probiotik suatu strain mikroba baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, aplikasi probiotik pada suatu produk pangan, dan pemanfaatan kemampuan probiotik suatu mikroba untuk mengobati suatu penyakit (Veerapagu M & Kr, 2017).

Uji potensi probiotik baik secara *in vitro* maupun *in vivo* merupakan salah satu penelitian terkait probiotik yang paling banyak dilakukan (Shahverdi *et al.*, 2023). Pengujian secara *in vitro* adalah pengujian yang dilakukan pada skala laboratorium, sedangkan pengujian secara *in vivo* adalah pengujian dengan perlakuan terhadap objek pengujian secara langsung. Pengujian secara *in vitro* pada suatu objek penelitian dilakukan terlebih dahulu sebelum pengujian secara *in vivo* agar didapatkan hasil yang berkesinambungan. Uji potensi probiotik secara *in vitro* meliputi: pengujian hemolisis; toleransi terhadap pH asam; toleransi terhadap garam empedu; serta interaksi terhadap mikroba patogen dan nonpatogen. Pengujian-pengujian tersebut didasarkan pada kriteria yang harus dipenuhi oleh suatu mikroba agar dapat dikatakan memiliki kemampuan probiotik (Wendel, 2022).

Genus *Lactobacillus* merupakan salah satu genus yang termasuk ke dalam kelompok bakteri asam laktat (BAL) yang telah dikarakterisasi sebagai probiotik. Salah satu spesies dari genus ini adalah *Lactobacillus plantarum* yang telah diketahui memiliki

potensi probiotik (Bu *et al.*, 2022). *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4 merupakan salah satu strain bakteri yang telah diisolasi dari pangan fermentasi fermentasi tigarun dan telah dikarakterisasi (Rahmi *et al.*, 2016). Fermentasi tigarun merupakan salah satu pangan fermentasi tradisional Kalimantan yang terbuat dari bunga tumbuhan tigarun (*Crateva nurvala* Buch.-Ham.). Tumbuhan *Crateva nurvala* yang belum difermentasi sendiri diketahui mengandung senyawa-senyawa fitokimia yang seringkali dimanfaatkan sebagai agen fitofarmakologis (Kumar *et al.*, 2020). Pada penelitian sebelumnya Fasha *et al.*, (2025) membuktikan bahwa salah satu strain bakteri yang diisolasi dari fermentasi tigarun ini yaitu *Lactobacillus plantarum* JBS4 berpotensi probiotik. Meskipun demikian, penelitian terkait potensi probiotik strain lainnya yaitu *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4, yang juga telah diisolasi dari fermentasi tigarun, belum dilakukan.

Demikian, diharapkan isolat *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4 juga memiliki potensi probiotik sebagaimana isolat *Lactobacillus plantarum* JBS4. Oleh karena itu, uji potensi probiotik isolat bakteri *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 asal fermentasi tigarun secara *in vitro* perlu dilakukan untuk membuktikan potensi probiotiknya. Beberapa kriteria harus dipenuhi oleh suatu isolat bakteri untuk dapat dikatakan sebagai probiotik. Batasan penelitian berdasarkan kriteria probiotik meliputi: uji hemolisis, toleransi terhadap pH asam, toleransi dan kemampuan bertahan hidup (*survivality*) terhadap garam empedu, serta interaksi terhadap mikroba patogen dan nonpatogen.

METODOLOGI

Penyiapan isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4

Isolat *Lac. plantarum* diremajakan dari biakan murni yang telah dikarakterisasi pada penelitian sebelumnya (Rahmi *et al.*, 2016). Isolat *Lac. plantarum* diambil sebanyak 1-2 ose dari biakan stok. Berikutnya diinokulasikan pada media *MRS Agar* di agar miring dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1×24 jam. Isolat yang telah diremajakan

Uji Potensi Probiotik Isolat *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4 Asal Fermentasi Tigarun (*Crateva nuroala* Buch.-Ham.) Secara *In Vitro*

disimpan di dalam refrigerator untuk digunakan pada pengujian lanjutan.

Pembuatan kurva pertumbuhan isolat bakteri *Lac. plantarum* JBSxH.6.4, *Lac. acidophilus* ENCC0051, *E. coli* ATCC25922, dan *S. aureus* ATCC25923

Isolat bakteri uji diambil 1-2 ose dari biakan di agar miring dan dipindahkan ke media agar cawan, kemudian diinkubasi pada $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Selanjutnya, sebanyak satu ose koloni tunggal diambil dari isolat yang telah diinkubasi tersebut, kemudian diinokulasi ke media *batch* masing-masing isolat dengan volume 1 mL. Isolat yang telah diinokulasikan pada media *batch* dimasukkan ke dalam *microplate* sebanyak 150 μL per sumur (*wells*) dengan pengulangan sebanyak 4 kali. Blanko disiapkan sebanyak 150 μL media *batch*, pada blanko juga dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Nilai densitas optik/*optical density* (OD) isolat bakteri diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Inkubasi dilakukan selama 1 x 24 jam. Data hasil pengukuran pertumbuhan isolat bakteri uji merupakan data awal yang digunakan untuk uji potensi probiotik (Hatiboruah *et al.*, 2020)

Uji hemolisis *Lac. plantarum* JBSxH.6.4

Medium *Blood Agar* yang telah memadat digores dengan 1 ose koloni dari masing-masing isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Zona hemolisis yang terbentuk diamati, jika tidak terbentuk zona hemolisis di sekitar koloni, kedua isolat tersebut dinyatakan tidak memiliki kemampuan hemolisis. Isolat *S. aureus* ATCC25923 digunakan sebagai kontrol positif terbentuknya zona hemolisis pada pengujian ini (Sudewi *et al.*, 2020).

Uji toleransi *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap pH asam

Isolat *Lac. plantarum* diambil 1-2 ose dari biakan di agar miring dan dipindahkan ke media *MRS Agar*, kemudian inkubasi dilakukan pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ dalam inkubator

selama 1 x 24 jam. Satu ose koloni tunggal diambil dari isolat yang telah diinkubasi tersebut, kemudian diinokulasikan ke dalam 10 mL *MRS Broth* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Satu mililiter kultur diambil dan dimasukkan ke dalam 9 mL *MRS Broth* kontrol dengan pH 5,5 dan ke dalam *MRS Broth* dengan variasi pH berbeda, yaitu: 2,0; 3,0; dan 4,0, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam. Inokulasi kemudian dilakukan dengan metode *pour plate* pada *MRS Agar* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung menggunakan *colony counter*. Berikutnya, total koloni dihitung menggunakan *Total Plate Count*.

Uji toleransi *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap garam empedu 0,3 % (b/v)

Isolat *Lac. plantarum* diambil sebanyak 1-2 ose dari biakan di agar miring dan dipindahkan ke media *MRS Agar*, kemudian diinkubasi pada $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Satu ose koloni tunggal diambil dari isolat yang telah diinkubasi tersebut, kemudian diinokulasikan ke dalam 10 mL *MRS Broth* dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 1 x 24 jam. Satu mililiter kultur diambil dan dimasukkan ke dalam 9 mL *MRS Broth* yang mengandung garam empedu 0,3% (b/v) dan sebagai kontrol digunakan *MRS Broth*, inkubasi dilakukan selama 2 jam pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$. Inokulasi dilakukan dengan metode *pour plate* pada *MRS Agar*. Selanjutnya, inkubasi dilakukan dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung menggunakan *colony counter*. Total koloni dihitung menggunakan *Total Plate Count*.

Uji daya hambat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap bakteri patogen

Satu ose dari satu koloni tunggal isolat bakteri uji (*E. coli* dan *S. aureus*) masing-masing diinokulasikan kedalam media NB 10 mL dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Isolat *Lac. plantarum* diambil 1-2 ose dari biakan di agar miring dan dipindahkan ke media *MRS Agar*, kemudian diinkubasi

dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1×24 jam. Satu ose koloni tunggal diambil dari isolat yang telah diinkubasi tersebut, kemudian diinokulasikan ke dalam 10 mL *MRS Broth* dan diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1×24 jam. Masing-masing bakteri uji (*E. coli* dan *S. aureus*) diinokulasikan sebanyak 25 μL ke dalam NA dan diratakan menggunakan *cotton swab*. Sumuran dibuat pada media NA cawan dengan menggunakan *cork borer* steril. Sumuran yang telah dibuat di media NA diinokulasikan sebanyak 50 μL suspensi *Lac. plantarum*, kemudian diinkubasi pada $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1×24 jam. Diameter zona jernih yang terbentuk di sekitar sumuran diukur menggunakan *calliper*. Ukuran diameter zona penghambatan pada masing-masing pengulangan direrata.

Uji interaksi *Lac. Plantarum* JBSxH.6.4 dengan bakteri nonpatogen

Isolat *Lac. plantarum* diambil sebanyak 1-2 ose dari biakan di agar miring dan dipindahkan ke media *MRS Agar* dan selanjutnya diinkubasi pada $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1×24 jam. Satu ose koloni tunggal diambil dari isolat yang telah diinkubasi tersebut, kemudian diinokulasikan ke dalam 10 mL *MRS Broth* dan diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1×24 jam. Bakteri *Lac. acidophilus* diinokulasikan sebanyak 50 μL secara *spread plate*. Sumuran dibuat pada media *MRS Agar* cawan dengan menggunakan *cork borer* steril dan dinokulasikan suspensi isolat *Lac. plantarum* sebanyak 50 μL , kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1×24 jam. Interaksi antara koloni isolat bakteri *Lac. plantarum* dan *Lac. acidophilus* diamati, jika terbentuk zona jernih diukur sebagai zona penghambatan.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis dengan menggunakan statistika deskriptif. Uji ANOVA dilakukan untuk masing-masing pengujian agar didapatkan data perbandingan secara kuantitatif. Data tersebut selanjutnya disajikan dalam tabel dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan kurva pertumbuhan isolat bakteri *Lac. plantarum* JBSxH.6.4, *Lac. acidophilus* ENCC0051, *E. coli* ATCC25922, dan *S. aureus* ATCC25923

Kurva pertumbuhan isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 menunjukkan bahwa pada awal pengukuran, isolat ini telah masuk pada fase eksponensial (*log phase*). Kemungkinan besar fase lag telah terjadi pada beberapa menit awal inkubasi, sehingga tidak teridentifikasi pada jam pertama pengukuran OD. Isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 pada 1 jam awal telah memasuki fase eksponensial dan memasuki fase stasioner pada jam ke-6. Penurunan nilai OD secara signifikan belum terlihat pada jam ke-24. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan isolat belum mencapai fase kematian pada 1×24 jam. Kurva pertumbuhan isolat *Lac. acidophilus* ENCC0051 pada juga menunjukkan bahwa pertumbuhan isolat tersebut memasuki fase stasioner pada kisaran jam ke-6 dan setelah 24 jam belum memasuki fase kematian sel. Fase lag juga tidak teridentifikasi pada pengukuran OD pada isolat *E. coli* ATCC25922 dan *S. aureus* ATCC25923. Isolat *E. coli* ATCC25922 memasuki fase stasioner pada jam ke-7, sedangkan isolat *S. aureus* ATCC25923 pada jam ke-4. Kedua isolat ini belum mengalami penurunan nilai OD yang signifikan pada jam ke-24, artinya belum terjadi fase kematian sel pada 1×24 jam inkubasi.

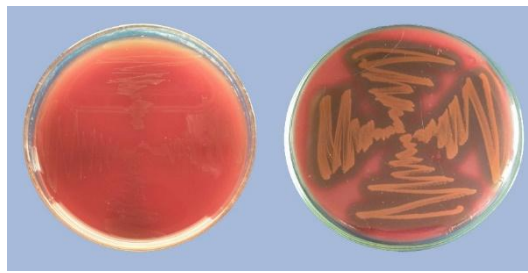
Uji hemolisis *Lac. plantarum* JBSxH.6.4

Hasil pengujian terhadap kedua isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 menunjukkan bahwa keduanya merupakan mikroba γ -hemolisis (Gambar 1a). Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona jernih maupun zona jernih kehijauan pada sekitar koloni yang tumbuh pada medium *Blood Agar*. Tipe hemolisis lainnya ditunjukkan pada (Gambar 1b), yaitu β -hemolisis pada koloni *S. aureus* ATCC25923. Hasil pengujian terhadap isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 membuktikan bahwa kedua isolat ini memenuhi aspek keamanan secara pangan *in vitro* dengan terbukti tidak bersifat patogen. Adapun, γ -hemolisis pada isolat ini

Uji Potensi Probiotik Isolat *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4 Asal Fermentasi Tigarun (*Crateva nuroala* Buch.-Ham.) Secara *In Vitro*

menunjukkan bahwa isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terbukti tidak memiliki efek toksik

terhadap sel darah yang mewakili sel-sel pada tubuh makhluk hidup (Savardi *et al.*, 2018)

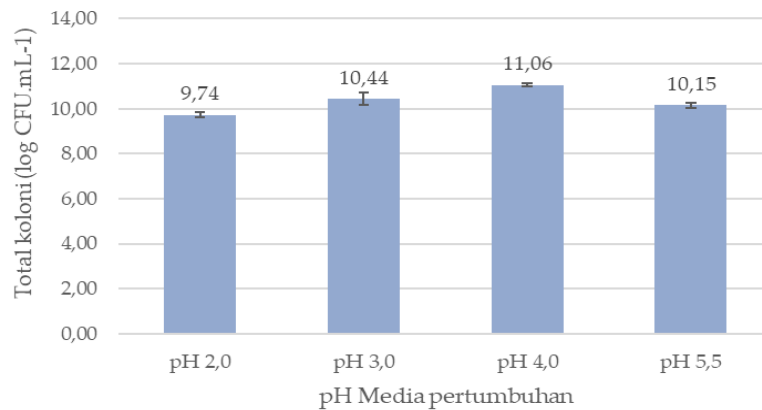


Gambar 1. γ -hemolisis *Lac. Plantarum* JBSxH.6.4 (a); β -hemolisis pada *S. aureus* ATCC25923 (b)

Uji toleransi *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap pH asam

Toleransi isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap pH asam dapat dibuktikan dengan membandingkan total koloni pada

media MRS dengan variasi pH 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,5. Hasil rerata perhitungan total koloni dari masing-masing disajikan pada (Gambar 2).



Gambar 2. Perbandingan rerata total koloni *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 pada media *MRS Broth* variasi pH 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,5 selama inkubasi 24 jam

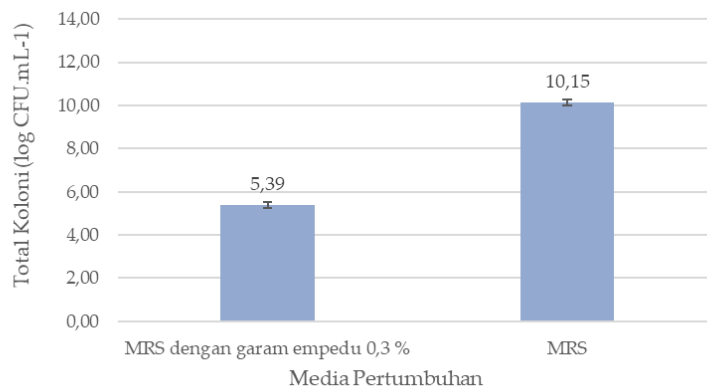
Data total koloni pada setiap perlakuan pH untuk isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 dianalisis deskriptif dan diketahui bahwa terdapat pengaruh pH terhadap total koloni isolat. Rerata total koloni paling tinggi pada isolat ini terdapat pada perlakuan pH 4,0. Hasil rerata total isolat pada media *MRS Broth* variasi pH 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,5 pada (Gambar 2) menunjukkan bahwa terjadi penurunan total koloni sebanyak 1 log dan terlihat pada setiap penurunan pH berturut-turut dari pH 4,0; 3,0; dan 2,0. Rerata total koloni terbesar adalah pada pH 4,0 yaitu dengan $^{11}\log 10$. Log total koloni ini semakin mengalami penurunan pada pH 3,0 dengan log sebesar $^{10}\log 10$ dan pH 2,0 dengan log sebesar $^9\log 10$. Apabila

dibandingkan dengan total koloni pada media *MRS Broth* dengan pH 5,5 (pH media), total koloni pada pH 4,0 lebih tinggi 1 log. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tumbuh dengan optimal pada kisaran pH 4,0. Hasil yang didapatkan berkorelasi positif dengan penelitian sebelumnya pada spesies *Lac. plantarum* dari strain yang berbeda dengan hasil yang menunjukkan bahwa spesies ini memiliki toleransi terhadap keasaman. Penelitian sebelumnya juga membuktikan bahwa bakteri dari genus *Lactobacillus* dapat bertahan pada pH 2,0-4,0 (Divyashree *et al.*, 2021).

Uji toleransi *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap garam empedu 0,3 % (b/v)

Toleransi isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap garam empedu dapat dibuktikan dengan membandingkan total

koloni pada media *MRS Broth* dengan dan tanpa penambahan garam empedu 0,3% (b/v). Hasil rerata dari masing-masing perhitungan total koloni disajikan pada (Gambar 3).



Gambar 3. Perbandingan rerata total koloni *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 pada media *MRS Broth* dengan dan tanpa penambahan garam empedu 0,3% (b/v) selama inkubasi 24 jam

Uji toleransi terhadap garam empedu yang telah dilakukan pada isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 menunjukkan bahwa ada penurunan siklus log pertumbuhan sebesar 5 log pada isolat tersebut. Total koloni kedua isolat dengan dan tanpa penambahan garam empedu 0,3% (b/v) pada analisis deskriptif uji t dinyatakan berbeda nyata, artinya pertumbuhan total koloni isolat pada kondisi lingkungan dengan penambahan garam empedu 0,3% (b/v) tidak sama dengan pada kondisi lingkungan basal. Meskipun demikian, isolat yang dapat tumbuh pada garam empedu konsentrasi 0,3% (b/v) telah dikatakan memiliki toleransi terhadap garam empedu, karena mengacu pada penerapannya secara *in vivo*

pada lambung manusia yang mana kandungan garam empedu normal berkisar antara 0,05%-2% (Prete *et al.*, 2020).

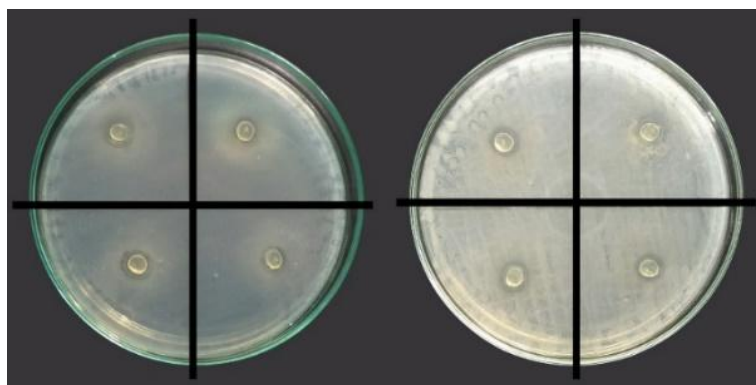
Uji daya hambat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap bakteri patogen

Uji daya hambat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap bakteri patogen dilakukan untuk mengetahui kemampuan kedua isolat tersebut menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Ukuran diameter zona penghambatan isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap masing-masing bakteri patogen disajikan pada (Tabel 1, Gambar 4).

Tabel 1. Rerata diameter zona penghambatan isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap bakteri patogen

Isolat BAL	Isolat bakteri patogen	Rerata zona hambat ± STDEV (mm)
<i>Lac. plantarum</i> JBSxH.6.4	<i>E. coli</i> ATCC25922	8,08 ± 0,34 ^{b,a}
	<i>S. aureus</i> ATCC25923	8,95 ± 0,15 ^{b,b}

Uji Potensi Probiotik Isolat *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4 Asal Fermentasi Tigarun (*Crateva nurvala* Buch.-Ham.) Secara *In Vitro*



Gambar 4. Zona penghambatan *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap bakteri *E. coli* ATCC25922 (a) dan *S. aureus* ATCC25923 (b)

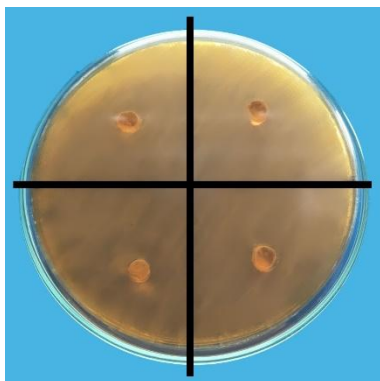
Hasil analisis uji t perbandingan rerata zona penghambatan yang terbentuk pada bakteri patogen *E. coli* ATCC25922 dan *S. aureus* ATCC25923 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada zona penghambatan *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 yang terbentuk pada kedua bakteri patogen tersebut dan ditunjukkan dari perbandingan rerata bahwa kedua isolat membentuk zona penghambatan lebih besar terhadap *S. aureus* ATCC25923 daripada *E. coli* ATCC25922.

Adanya perbedaan besar terhadap zona penghambatan terhadap *E. coli* ATCC25922 dan *S. aureus* ATCC25923 tidak menutup kemungkinan dikarenakan perbedaan struktur membran dan dinding sel dari kedua mikroba tersebut. Bakteri Gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks. (Rohde, 2019). Salah satu struktur penyusun dinding sel dari Gram negatif yang memungkinkan bakteri tersebut memiliki proteksi lebih baik terhadap faktor-faktor penghambat pertumbuhan adalah membran terluar dari dinding selnya, yang mana membran terluar ini merupakan lipid bilayer yang memiliki permeabilitas sangat terbatas terhadap senyawa hidrofilik, tidak terkecuali senyawa antimikrob (Henderson *et al.*, 2016). Membran terluar ini juga berperan dalam sistem pompa ion bakteri Gram negatif, kontrol terhadap keluar dan masuk nutrisi maupun toksin dari lingkungan, dan berperan dalam osmoregulasi (pencegahan lisis sel) (Horne et

al., 2020). Terlepas dari struktur dinding selnya, telah diketahui secara umum bahwa beberapa spesies bakteri Gram negatif memiliki resistensi lebih tinggi terhadap senyawa penghambat pertumbuhan (Arzanlou *et al.*, 2017).

Uji interaksi *Lac. Plantarum* JBSxH.6.4 dengan bakteri nonpatogen

Uji interaksi antara *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap *Lac. acidophilus* FNCC0051 dilakukan untuk membuktikan bahwa isolat tersebut tidak menghambat pertumbuhan mikrobiota usus yang bersifat nonpatogen. Hasil (Gambar 5) menunjukkan bahwa tidak terdapat zona penghambatan pada media *MRS Agar* yang ditumbuhkan *Lac. acidophilus* FNCC0051 setelah ke dalam sumuran diinokulasikan isolat *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 dan diinkubasi pada $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 1 x 24 jam. Hal ini membuktikan bahwa secara *in vitro* kedua isolat tidak menghambat pertumbuhan mikroba nonpatogen. Sejalan dengan penelitian ini, penelitian lainnya yang dilakukan berkaitan dengan interaksi antara spesies *Lac. plantarum* dan mikrobiota usus juga menunjukkan bahwa terjadi peningkatan pada beberapa spesies bakteri mikrobiota usus setelah konsumsi *Lac. plantarum* (Azad *et al.*, 2018).



Gambar 5. Interaksi *Lac. plantarum* JBSxH.6.4 terhadap *Lac. acidophilus* FNCC0051 (b)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, isolat *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4 menunjukkan potensi sebagai probiotik. Isolat ini memiliki karakteristik γ -hemolisis yang menunjukkan keamanan pangan, toleran terhadap pH asam hingga 2,0 dan garam empedu 0,3%, serta mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* ATCC25922 dan *S. aureus* ATCC25923. Selain itu, uji interaksi membuktikan bahwa isolat ini tidak menghambat pertumbuhan bakteri nonpatogen *L. acidophilus* FNCC0051. Oleh karena itu, *L. plantarum* JBSxH.6.4 dapat dikategorikan sebagai kandidat probiotik yang potensial untuk aplikasi dalam industri pangan fungsional dan kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

Arzanlou, M., Chai, W. C., & Venter, H. (2017). Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. In *Essays in Biochemistry*. Vol. 61, Issue 1, pp. 49–59). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/EBC20160063>

Azad, M. A. K., Sarker, M., Li, T., & Yin, J. (2018). Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview. In *BioMed Research International* (Vol. 2018). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2018/9478630>

Bu, Y., Liu, Y., Liu, Y., Wang, S., Liu, Q., Hao, H., & Yi, H. (2022). Screening and Probiotic Potential Evaluation of Bacteriocin-Producing Lactiplantibacillus

plantarum In Vitro. *Foods*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/foods11111575>

Divyashree, S., Anjali, P. G., Somashekaraiah, R., & Sreenivasa, M. Y. (2021). Probiotic properties of *Lactobacillus casei* – MYSRD 108 and *Lactobacillus plantarum*-MYSRD 71 with potential antimicrobial activity against *Salmonella paratyphi*. *Biotechnology Reports*, 32. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00672>

Fasha, G. N. A., Rahmi, N., & Nur, H. S. (2025). Uji Potensi Probiotik Bakteri Asal Pangan Fermentasi Lokal Kalimantan Selatan Berbahan Dasar Tumbuhan Tigarun (*Crataeva nurvala* Buch-Ham). *Journal of Food Security and Agroindustry (JFSA)*, 3(1), 1–6.

Hatiboruah, D., Devi, D. Y., Namsa, N. D., & Nath, P. (2020). Turbidimetric analysis of growth kinetics of bacteria in the laboratory environment using smartphone. *Journal of Biophotonics*, 13(4). <https://doi.org/10.1002/jbio.201960159>

Henderson, J. C., Zimmerman, S. M., Crofts, A. A., Boll, J. M., Kuhns, L. G., Herrera, C. M., & Trent, M. S. (2016). The Power of Asymmetry: Architecture and Assembly of the Gram-Negative Outer Membrane Lipid Bilayer. In *Annual Review of Microbiology* (Vol. 70, pp. 255–278). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095308>

Horne, J. E., Brockwell, D. J., & Radford, S. E. (2020). Role of the lipid bilayer in outer membrane protein folding in Gram-negative bacteria. In *Journal of Biological Chemistry* (Vol. 295, Issue 30, pp. 10340–10367). American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.011473>

Kumar, D., Sharma, S., & Kumar, S. (2020). Botanical description, phytochemistry, traditional uses, and pharmacology of *Crataeva nurvala* Buch. Ham.: an updated review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1).

Uji Potensi Probiotik Isolat *Lactobacillus plantarum* JBSxH.6.4 Asal Fermentasi Tigarun (*Crateva nurvala* Buch.-Ham.) Secara *In Vitro*

- <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00106-1>
- Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., Rehman, A., Riaz, T., Aadil, R. M., Khan, I. M., Özogul, F., Rocha, J. M., Esatbeyoglu, T., & Korma, S. A. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 14). Frontiers Media SA.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1216674>
- Parichat, P., & Pongsak, R. (2023). Probiotics: Sources, selection and health benefits. *Research Journal of Biotechnology*, 18(5), 102–113.
<https://doi.org/10.25303/1805rjbt1020113>
- Prete, R., Long, S. L., Gallardo, A. L., Gahan, C. G., Corsetti, A., & Joyce, S. A. (2020). Beneficial bile acid metabolism from *Lactobacillus plantarum* of food origin. *Scientific Reports*, 10(1).
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-58069-5>
- Rahmi, N., Harmayani, E., Santosa, U., & Darmadji, P. (2016). Identifikasi Bakteri Asam Laktat dan Aktivitas Penghambatan Radikal pada Jaruk Tigarun (*Crataeva nurvala*, Buch Ham) (Identification of Lactic Acid Bacteria and Radical Scavenging Activity in Jaruk Tigarun (*Crataeva nurvala*, Buch HAM)). *Jurnal Agritech*, 36(03), 317.
<https://doi.org/10.22146/agritech.16604>
- Rohde, M. (2019). The Gram-Positive Bacterial Cell Wall. *Microbiology Spectrum*, 7(3).
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0044-2018>
- Savardi, M., Ferrari, A., & Signoroni, A. (2018). Automatic hemolysis identification on aligned dual-lighting images of cultured blood agar plates. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 156, 13–24.
<https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2017.12.017>
- Shahverdi, S., Barzegari, A. A., Vaseghi Bakhshayesh, R., & Nami, Y. (2023). In-vitro and in-vivo antibacterial activity of potential probiotic *Lactobacillus paracasei* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Heliyon*, 9(4).
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14641>
- Sudewi, S., Ala, A., Baharuddin, & Farid, M. (2020). The isolation, characterization endophytic bacteria from roots of local rice plant kamba in, central sulawesi, indonesia. *Biodiversitas*, 21(4), 1614–1624.
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d210442>
- Veerapagu M, & Kr, J. (2017). Evaluation of probiotic characteristics of bacteria isolated from fermented food. *The Pharma Innovation Journal*, 322(7), 322–325.
www.thepharmajournal.com
- Wendel, U. (2022). Assessing Viability and Stress Tolerance of Probiotics—A Review. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.818468>