

Pengujian Aktivitas Antibakteri Minuman Kefir terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Testing for Antibacterial Activity in Kefir Drink Againsts *Escherichia coli* and
Staphylococcus aureus

¹Niknik Mauli Putri, ²Hilda Aprilia, dan ³Anggi Arumsari

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: ¹niknikmauliputri@yahoo.co.id, ²hilda.apriliah@gmail.com, ³anggiarumsari@yahoo.com

Abstract. The testing for antibacterial activity in kefir drink used three samples of kefir milk with 10%, 50%, 70%, 90% concentration, and undiluted kefir. The samples were tested for the pH and antibacterial activity againsts *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in each kefir. The antibacterial activity consists of several stages; testing the purity and identification, determining the diameter of the obstruction, the bactericidal degree, testing the potential of kefir as antibacterium compared to the antibiotic chloramphenicol on *Staphylococcus aureus* as well as processing the data in accordance with 95% ANOVA level confidence. The result of data showed that there are no significant differences between the three samples of kefir drink, but the test result of antibacterial activity in kefir B sample has an activity which on the bacteria *Escherichia coli* 1 mL of kefir B sample with 100% concentration is equivalent to 2,093 g (0,002039 mg) chloramphenicol while for *Staphylococcus aureus* 1 mL of kefir B sample with 100% concentration is equivalent to 0,209 g (0,000209 mg) of tetrasiklin.

Keywords: kefir, antibacterial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Abstrak. Pengujian aktivitas antibakteri minuman kefir menggunakan tiga sampel kefir susu sapi dengan konsentrasi 10%, 30%, 50%, 70%, 90% dan kefir tanpa pengenceran. Sampel minuman kefir dilakukan pengujian pH tiap kefir dan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri terdiri dari beberapa tahap yaitu uji kemurnian dan identifikasi, penentuan diameter hambat, penentuan konsentrasi hambat minimum, penentuan kadar bakterisid, pengujian potensi minuman kefir sebagai antibakteri yang dibandingkan terhadap antibiotik kloramfenikol untuk *Escherichia coli* dan antibiotik tetrasiklin untuk *Staphylococcus aureus* serta pengolahan data secara ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil yang diperoleh tidak ada perbedaan bermakna antara ketiga sampel minuman kefir, tetapi dari hasil pengujian aktivitas antibakteri sampel minuman kefir B memiliki aktivitas antibakteri dimana untuk bakteri *Escherichia coli* 1 mL sampel kefir B konsentrasi 100% ekuivalen dengan 2,039 µg (0,002039 mg) kloramfenikol sedangkan untuk *Staphylococcus aureus* 1 mL sampel kefir B konsentrasi 100% ekuivalen dengan 0,209 µg (0,000209 mg) tetrasiklin.

Kata Kunci : kefir, antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

A. Pendahuluan

Kefir adalah susu fermentasi yang memiliki rasa, warna dan konsistensi yang menyerupai yogurt dan memiliki aroma khas *yeasty* (seperti tape). Kefir diperoleh melalui proses fermentasi susu pasteurisasi menggunakan starter berupa butir atau biji kefir (*kefir grain/kefir granule*), yaitu butiran-butiran putih atau krem dari kumpulan bakteri, antara lain *Streptococcus sp.*, *Lactobacili* dan beberapa jenis ragi/ khamir nonpatogen (Gaware, et. al. 2011).

Kefir adalah minuman fermentasi yang memiliki kemampuan probiotik. Manfaat kefir bagi kesehatan diantaranya merangsang sistem imunitas tubuh, menghambat pertumbuhan sel tumor, mampu menurunkan kadar kolesterol, menjaga keseimbangan bakteri di dalam usus, dan mengandung berbagai senyawa antibakteri. Asam laktat sebagai penghambat bakteri patogen yang dihasilkan oleh kefir pada saat proses fermentasi adalah berasal dari laktosa yang terkandung dalam susu sebagai medium fermentasi. Selain itu, kefir juga mengandung CO₂, diasetil, asetaldehida dan hidrogen peroksida, serta *bakteriosin* suatu senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri sejenis (Surono, 2004).

Minuman kefir dianggap mempunyai efek antimikroba atau efek yang lebih baik dari pada minuman susu biasa. Bakteri yang digunakan pada penelitian mewakili bakteri yang dapat menyebabkan infeksi serta dilakukan perbandingan efektivitas potensi antimikroba minuman kefir terhadap antibiotik standar.

B. Landasan Teori

Kefir adalah produk susu fermentasi yang mempunyai rasa yang spesifik sebagai hasil fermentasi bakteri asam laktat dan khamir yang hidup bersama-sama dan saling menguntungkan. Rasa susu fermentasi (kefir) didominasi oleh asam laktat yang timbul pada proses fermentasi laktosa oleh *starter*. Sesuai standar yang ditetapkan oleh *Codex Alimentarius Comitte* (2003), jumlah bakteri *starter* kefir adalah minimal 10⁴ CFU/mL. Manfaat kefir bagi kesehatan :

1. Perawatan Kulit

Kefir merupakan antioksidan alami, kefir juga dapat mencegah adanya jerawat, psoriasis dan keriput sehingga dapat menjaga kulit.

2. Peningkat fungsi otak

Kefir dianggap sebagai makanan otak dan dapat membantu mengurangi stress. Kefir juga dapat meningkatkan memori, refleks dan meningkatkan fokus.

3. Pencernaan

Kefir dapat meningkatkan pencernaan, mencegah sembelit, membersihkan usus, probiotik dan meregulasi buang air besar (Gaware *et al*, 2011).

Kemampuan minuman kefir sebagai antibakteri untuk menghambat aktivitas pertumbuhan mikroba dalam sistem pangan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya temperatur, pH (keasaman), ketersediaan oksigen, dan interaksi/sinergi antara beberapa faktor tersebut serta komposisi kefir yang mengandung metabolit primer yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat seperti asam laktat, CO₂, diasetil, asetaldehida dan hidrogen peroksida dan bakteriosin suatu senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri sejenis (Surono, 2004; 32).

Karbondioksida dapat menghambat bakteri perusak dan patogen pada makanan (Kimura *et al.*, 1999; 367). Karbondioksida memiliki sifat antimikrobia dengan menyebabkan lingkungan lebih anaerob, akumulasi karbondioksida pada lipida bilayer akan merusak permeabilitas membran sel (Nilsson *et al.*, 2000; 769). Hidrogen peroksida yang dihasilkan bakteri asam laktat dapat menghambat bakteri patogen

(Jaroni dan Brashears, 2000; 1033-1035). Hidrogen peroksida memiliki efek bakterisidal karena produksi superoksida oksigen dan radikal hidroksil yang menyebabkan oksidasi sel bakteri dan merusak struktur dasar molekul dari protein sel (Zalan *et al.*, 2005).

Diasetil diproduksi oleh bakteri asam laktat *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc* yang dihasilkan dari metabolisme sitrat. Diasetil menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif seperti *Salmonella typhimurium* dan *Escherichia coli* (Kang dan Fung, 1999; 975-979). Diasetil bereaksi dengan *arginine-binding protein* pada bakteri gram negatif dan mempengaruhi penggunaan arginine (Ouweland, 1998).

Bakteriosin merupakan substansi protein yang disekresikan bakteri-bakteri tertentu, yang bersifat bakterisidal terhadap bakteri gram positif (Kimura *et al.*, 1997; 370). Bakteriosin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat potensial digunakan sebagai pengawet makanan karena melawan patogen yang berasal dari bahan makanan (Tahara dan Kanatani, 1997; 884).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pengujian pH dari ketiga sampel minuman kefir diperoleh hasil semua sampel minuman kefir memiliki pH asam. Menurut Adesokan *et al* (2011) nilai pH sangat berkaitan dengan kadar asam laktat yang dihasilkan. Kualitas susu fermentasi yang baik menurut Adriani (2005) memiliki pH 3,8-4,6. Dari hasil penelitian sampel kefir A memiliki pH 3,865, sampel kefir B memiliki pH 3,847 sedangkan sampel kefir C memiliki pH 3,496.

Identifikasi bakteri dilakukan dengan teknik pewarnaan Gram. Pengujian pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri. Pengujian pewarnaan Gram yang dilakukan diperoleh hasil bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat dengan warna ungu, sedangkan *Escherichia coli* berbentuk batang dengan warna merah. Hasil yang diperoleh sesuai dengan literatur bahwa bakteri Gram positif akan berwarna ungu sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah.

Pembuatan suspensi bakteri menggunakan metode Mc Farland. Standar Mc Farland adalah suspensi barium sulfat yang memungkinkan untuk memperkirakan jumlah suspensi bakteri yang digunakan dengan menghitung indeks kekeruhan bakteri yang dibandingkan secara visual.

Penetapan diameter hambatan bertujuan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antibakteri dari sampel minuman kefir. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan melihat diameter zona bening yang terbentuk disekitar lubang. Diameter zona bening yang terbentuk dapat dilihat dalam **Tabel 1**.

Tabel 1. Aktivitas antibakteri minuman kefir terhadap bakteri uji

Bakteri	Diameter Hambat Sampel Minuman Kefir (mm)																	
	Sampel A						Sampel B						Sampel C					
	10%	30%	50%	70%	90%	TP	10%	30%	50%	70%	90%	TP	10%	30%	50%	70%	90%	TP
<i>S.aureus</i>	-	-	17	17,5	18	20	-	15,5	17,5	19,5	20	20	-	-	15	15,5	16,5	17
<i>E.coli</i>	-	-	13,5	14,0	14,5	32,5	-	13	14,5	15,5	17,5	17,5	-	-	16	17	17,5	17,5

Keterangan

(-) = tidak ada zona hambat

TP = tanpa pengenceran

Penetapan diameter hambat menggunakan metode difusi agar. Prinsip dari metode difusi agar yaitu zat antibakteri akan berdifusi ke dalam lempeng agar yang telah ditumbuhi bakteri membentuk zona bening.

Pengujian konsentrasi hambat minimum bertujuan untuk mengetahui konsentrasi sampel uji yang dibutuhkan agar dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Metode yang digunakan dalam penentuan konsentrasi hambat minimum adalah metode dilusi cair menggunakan media NB. Hasil yang diperoleh dapat dilihat dari tabung yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi hambat minimum yang terbentuk dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil konsentrasi hambat minimum terhadap bakteri uji

Bakteri	Konsentrasi Hambat Minimum terhadap Bakteri Uji (%b/v)		
	Sampel A	Sampel B	Sampel C
<i>S. aureus</i>	50	30	70
<i>E. coli</i>	70	30	50

Hasil yang diperoleh dari KHM yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan, dipipet untuk ditumbuhkan dalam media agar padat untuk dilakukan pengujian penetapan kadar bakterisid. Pengujian penetapan kadar bakterisid minimum bertujuan untuk mengetahui seberapa kuat sampel uji dapat membunuh pertumbuhan bakteri pada konsentrasi minimum.

Surono (2004) juga menjelaskan faktor yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dilihat dari komposisi sampel minuman kefir. Minuman kefir terdiri dari bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan metabolit primer seperti asam laktat, CO₂, diasetil, asetaldehida dan hidrogen peroksida.

Karbondioksida memiliki sifat antimikrobia dengan menyebabkan lingkungan lebih anaerob, akumulasi karbondioksida pada lipida bilayer akan merusak permeabilitas membran sel (Nilsson et al., 2000; 769). Hidrogen peroksida memiliki efek bakterisidal karena produksi superoksida oksigen dan radikal hidroksil yang menyebabkan oksidasi sel bakteri dan merusak struktur dasar molekul dari protein sel (Zalan et al., 2005). Diasetil menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* (Kang dan Fung, 1999; 975-979). Diasetil bereaksi dengan *arginine-binding protein* pada bakteri gram negatif dan mempengaruhi penggunaan arginine (Ouweland, 1998). Bakteriosin merupakan substansi protein yang disekresikan bakteri-bakteri tertentu, yang bersifat bakterisidal terhadap bakteri gram positif (Kimura et al., 1997; 370).

Berdasarkan Farmakope Indonesia IV pengujian potensi menggunakan prosedur penetapan 5+1, yang artinya digunakan 5 aras dosis baku dan 1 aras dosis sampel. Sampel minuman kefir yang dipilih adalah sampel kefir B karena berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri sampel kefir B memiliki aktivitas antibakteri paling baik diantara ketiga sampel minuman kefir. Bakteri uji yang digunakan adalah

Escherichia coli dan *Staphylococcus aureus* karena pada pengujian memberikan hasil sampel dapat menghambat kedua bakteri tersebut yang akan dibandingkan terhadap antibiotik. Pemilihan antibiotik yang digunakan berdasarkan Farmakope IV antibiotik tetrasiklin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan antibiotik kloramfenikol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Data perbandingan aktivitas antibakteri sampel minuman kefir B terhadap *Escherichia coli* dapat dilihat pada **Tabel 3** dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 3 . Data perbandingan aktivitas antibakteri sampel minuman kefir B terhadap *Escherichia coli*

No	Garis Tengah Daerah Hambatan Perumbuhan (mm)									
	Petri 1		Petri 2		Petri 3		Petri 4		Petri 5	
	S ₁	S ₃	S ₂	S ₃	S ₄	S ₃	S ₅	S ₃	Uji	S ₃
1	14,0	17,5	15,0	18,0	22,0	18,0	20,0	17,0	16,5	18,0
2	14,5	16,0	14,5	18,5	19,0	17,0	20,0	13,0	16,0	18,0
3	12,5	15,5	15,5	16,5	20,0	18,0	20,0	16,5	17,0	18,5
Rata-rata	13,67	16,33	15,0	17,67	20,33	17,67	20,0	16,17	16,5	18,17

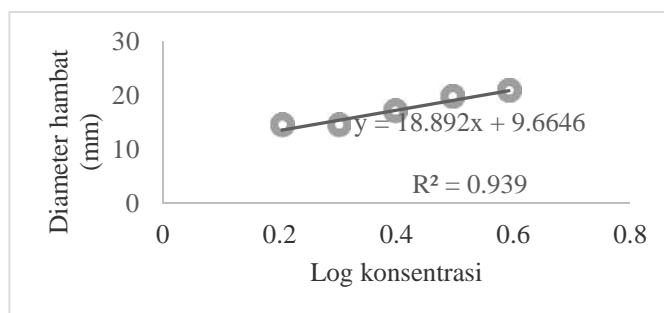
Keterangan:

- S₁ = Larutan baku kloramfenikol 1
- S₂ = Larutan baku kloramfenikol 2
- S₃ = Larutan baku kloramfenikol 3
- S₄ = Larutan baku kloramfenikol 4
- S₅ = Larutan baku kloramfenikol 5

Tabel 4. Perhitungan kurva baku kloramfenikol terhadap bakteri *Escherichia coli*

Larutan Baku (IU/mL)	Log S (X)	Diameter Hambat (Y)
Dosis S1 = 1,6	0,2041	a = 14,29
Dosis S2 = 2	0,3010	b = 14,28
Dosis S3 = 2,5	0,3979	c = 16,95
Dosis S4 = 3,125	0,4948	d = 19,61
Dosis S5 = 3.9062	0,5918	e = 20,78
Jumlah	1,9896	8591

Dari data dibuat kurva baku antara log konsentrasi dengan diameter hambat sehingga terbentuk persamaan $y = 18,892x + 9,664$ dengan koefisien korelasi 0,9396. Gambar kurva baku kloramfenikol terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Kurva baku kloramfenikol terhadap bakteri *Escherichia coli*

Dilakukan perhitungan potensi antibiotik sehingga diperoleh potensi minuman kefir B terhadap kloramfenikol dengan dosis tengah 2,5 IU/mL sebesar 81,56%. Dari nilai tersebut diperoleh nilai ekivalensi minuman kefir B terhadap kloramfenikol untuk 1 mL kefir B dengan konsentrasi 100% ekuivalen dengan 2,039 µg (0,002039 mg) kloramfenikol.

Tabel 5 . Data perbandingan aktivitas antibakteri sampel minuman kefir B terhadap *Staphylococcus aureus*

No	Garis Tengah Daerah Hambatan Pertumbuhan (mm)									
	Petri 1		Petri 2		Petri 3		Petri 4		Petri 5	
	S ₁	S ₂	S ₂	S ₃	S ₄	S ₃	S ₅	S ₃	Uji	S ₂
1	13,0	19,0	15,0	18,0	20,5	16,5	20,5	17,0	16,5	15,0
2	14,5	19,5	15,5	18,5	19,0	17,0	22,5	17,0	16,5	19,5
3	15,5	20,0	14,0	16,5	20,0	17,0	20,5	16,5	15,0	18,0
Rata-rata	14,33	19,5	14,83	17,67	19,83	16,83	21,17	16,83	16,0	17,5

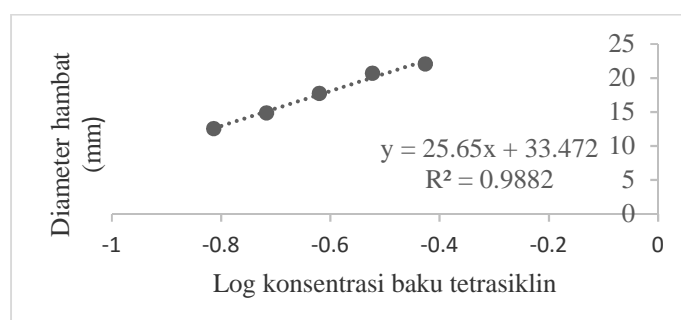
Keterangan:

- S₁ = Larutan baku tetrasiklin 1
- S₂ = Larutan baku tetrasiklin 2
- S₃ = Larutan baku tetrasiklin 3
- S₄ = Larutan baku tetrasiklin 4
- S₅ = Larutan baku tetrasiklin 5

Tabel 6. Perhitungan kurva baku tetrasiklin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Larutan Baku (IU/mL)	Log S (X)	Diameter Hambat (Y)
Dosis S ₁ = 0,1536	-0,8136	a = 12,54
Dosis S ₂ = 0,192	-0,7166	b = 14,87
Dosis S ₃ = 0,24	-0,6197	c = 17,71
Dosis S ₄ = 0,3	-0,5228	d = 20,71
Dosis S ₅ = 0,375	-0,4259	e = 22,05
Jumlah	-30,986	87,88

Dari data dibuat kurva baku antara log konsentrasi dengan diameter hambatan sehingga terbentuk persamaan $y = 25,65x + 33,472$ dengan koefisien korelasi 0,9882. Gambar kurva baku kloramfenikol terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada

Gambar 2.

Gambar 2. Kurva baku tetrasiklin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Dilakukan perhitungan potensi antibiotik sehingga diperoleh potensi minuman kefir B terhadap tetrasiklin dengan dosis tengah 0,24 IU/mL sebesar 87,44%. Dari nilai tersebut diperoleh nilai ekivalensi minuman kefir B terhadap tetrasiklin untuk 1 mL kefir B dengan konsentrasi 100% ekivalen dengan 0,209 μg (0,000209 mg) tetrasiklin.

D. Kesimpulan

Sampel minuman kefir B memiliki aktivitas antibakteri terbaik dengan konsentrasi 30% dapat menghambat aktivitas antibakteri. Hasil pengujian potensi antibiotik kefir B terhadap kloramfenikol dengan dosis tengah 2,5 IU/mL sebesar 81,56%. Dari nilai tersebut diperoleh nilai ekivalensi minuman kefir B terhadap kloramfenikol untuk 1 mL kefir B dengan konsentrasi 100% ekivalen dengan 2,039 μg (0,002039 mg) kloramfenikol. Pengujian potensi antibiotik kefir B terhadap tetrasiklin dengan dosis tengah 0,24 IU/mL sebesar 87,44%. Dari nilai tersebut diperoleh nilai ekivalensi minuman kefir B terhadap tetrasiklin untuk 1 mL kefir B dengan konsentrasi 100% ekivalen dengan 0,209 μg (0,000209 mg) tetrasiklin.

Daftar Pustaka

- Adesokan, I.A., et al. (2011). *Reduction of Nigerian Nono Using Lactic Starter Cultures*. Pakistan
- Adriani, L. 2005. *Bakteri Probiotik sebagai Starter dan Implikasi Efrknya terhadap kualitas Yoghurt, Ekosistem Saluran Pencernaan dan Biokimia Darah Mencit*. Program Pascasarjana Unpad. Bandung.
- Codex Alimentarius Commission. (2003). *Report of the 14th Session of the Codex Committee on Fats and Oils*. London
- Farmakope Indonesia Edisi III. (1979). Jakarta
- Farmakope Indonesia Edisi IV. (1995). Jakarta
- Gaware, et al. (2011). *THE MAGIC OF KEFIR: A REVIEW*. College of Pharmacy Chincholi, Sinnar, Nashik
- Jaroni, D. and M.M. Brashears. (2000). Production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* as influenced by media used for propagation of cells. *Journal of Food Science* 65
- Kang, D.H. and D.Y.C. Fung. (1999). *Effect of diacetyl on controlling Escherichia coli O157:H7 and Salmonella typhimurium in the presence of starter culture in a*

- laboratory medium and during meat fermentation. Journal of Food Protection* 62
- Kimura, B., T. Yoshiyama, and T. Fujii. (1999). *Carbon dioxide inhibition of Escherichia coli and Staphylococcus aureus on a pH-adjusted surface in a model system. Journal of Food Science* 64
- Nilsson, L., Y. Chen, M.L. Chikindas, H.H. Huss, L. Gram, and T.J. Montville. (2000). Carbon dioxide and nisin act synergistically on *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Environmental Microbiology*
- Ouwehand, A.C. (1998), *Antimicrobial component from lactic acid bacteria. In: Salminen, S. and A.V. Wright (eds.). Lactic Acid Bacteria Microbiology And Functional Aspects 2Ed*, Marcell Dekker, New York.
- Surono, I.S. (2004). Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). TRICK. Jakarta.
- Tahara, T. and K. Kanatani. (1997). Isolation and partial amino acid sequence of bacteriocins produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 61
- Zalan, et al. (2005). *Influence of Growth Medium on Hydrogen Peroxide and Bacteriocin Production of Lactobacillus strains*, Food Technol Biotechnol.