

DAYA HAMBAT PROBIOTIK DALAM MINUMAN YOGHURT SQUEEZE PLAIN TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI FUSOBACTERIUM NUCLEATUM

Ika Andriani^{*1}, Salza Sa'datul Putri Fitria²

ABSTRACT

Introduction: Periodontal disease is an inflammatory condition that affects the supporting tissues of teeth due to the accumulation of plaque bacteria. Various efforts have been made to control plaque in periodontal disease, one of which is the use of processed products containing probiotics, namely yoghurt. **Aim:** This study aims to determine the potential probiotic content in one of commercially available plain yoghurt to inhibit the growth of *Fusobacterium nucleatum* bacteria. **Methods:** This was a laboratory experimental study employing a disc diffusion method with a post-test-only control group design, comprising three groups with nine replicates each. A bacterial suspension of *Fusobacterium nucleatum*, standardized to a 0.5 McFarland turbidity, was inoculated onto Mueller-Hinton agar (MHA) plates. Paper discs impregnated with commercially available plain yogurt (treatment group), chlorhexidine (positive control group), and sterile distilled water (negative control group) were then placed on the inoculated MHA. **Result:** The mean inhibition zone diameter against *Fusobacterium nucleatum* in the treatment group was 10.8 mm. The Kruskal-Wallis test revealed a statistically significant difference in inhibition zone diameters among the groups ($p < 0.001$). **Conclusion:** These findings suggest that the commercially available plain yogurt may possess the potential to inhibit the growth of *Fusobacterium nucleatum*.

Received (07/12/2024);
Accepted (17/12/2024);
Available online (06/01/2025)

DOI:
<https://doi.org/10.33854/jbd.v11i2>

© Published by Universitas Baiturrahmah Press.
All rights reserved.

Keywords: *Fusobacterium nucleatum*, inhibitory efficacy, probiotics, yoghurt

¹Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, DIY, Indonesia.
²Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, DIY, Indonesia

*Corresponding author: ika.andriani@umy.ac.id

PENDAHULUAN

Laporan Nasional RISKESDAS 2018 menunjukkan prevalensi penyakit periodontal berada pada urutan kedua (74,1%) sebagai penyakit gigi dan mulut yang paling banyak di derita oleh masyarakat Indonesia. Penyakit periodontal merupakan penyakit inflamasi yang menyerang jaringan pendukung gigi disebabkan karena adanya akumulasi bakteri plak pada permukaan gigi. Plak

merupakan lapisan tipis biofilm yang mengandung kumpulan mikroorganisme patogen salah satunya adalah bakteri *Fusobacterium nucleatum*.^{1,2}

Fusobacterium nucleatum merupakan salah satu bakteri gram negatif anaerob yang berada pada rongga mulut dan berperan penting terhadap penyakit periodontal karena memiliki sifat adhesif sehingga dapat melekat dengan mudah pada beberapa mikroba yang berada di dalam rongga mulut. Selain itu,

Fusobacterium nucleatum berperan sebagai penghubung antara koloni awal dan koloni sekunder dalam pembentukan plak gigi.² Kerusakan jaringan periodontal dan inflamasi gingiva dapat terjadi karena adanya peningkatan jumlah *Fusobacterium nucleatum* di dalam rongga mulut.³

Perawatan pencegahan penyakit periodontal dapat dilakukan secara terapi mekanis dan antimikroba. Perawatan pencegahan secara terapi mekanis seperti melakukan scaling, root planning dan menyikat gigi sedangkan perawatan pencegahan antimikroba seperti penggunaan antibiotik. Penggunaan antibiotik harus dibatasi karena adanya penyebaran bakteri yang resisten terhadap antibiotik telah menjadi masalah serius.⁴ Oleh karena itu, terdapat alternatif lain yaitu dengan menggunakan probiotik yang dipercaya dapat memodulasi mikrobiota.⁵

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang apabila dikonsumsi dengan jumlah yang cukup dapat memberi manfaat kesehatan (FAO/WHO, 2001 dan 2002). Probiotik dapat dikonsumsi dengan mudah oleh masyarakat dalam produk minuman siap saji seperti yoghurt. Bakteri asam laktat dalam yoghurt memiliki efek bakterisidal bagi bakteri lain sehingga dapat mengurangi pembentukan plak yang merupakan salah satu penyebab awal terjadinya penyakit periodontal.⁶ Beberapa penelitian telah menyebutkan bahwa probiotik memiliki potensi untuk memodifikasi mikrobiota mulut dan dapat menjadi pilihan sebagai pencegahan penyakit di rongga mulut seperti penyakit periodontal.³

Berdasarkan uraian di atas, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi kandungan probiotik dalam minuman yoghurt terhadap daya hambat pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* sebagai salah satu bakteri penyebab penyakit periodontal.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental murni laboratorium. Penelitian ini termasuk dalam penelitian kuantitatif dan menggunakan data primer. Metode difusi cakram dengan analisa *post test only control group design* digunakan pada penelitian. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari – Februari 2024 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Sampel penelitian menggunakan bakteri *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian dilaksanakan setelah mendapat persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dengan nomor 011/EC-EXEM- KEPK FKIK UMY/I/2024.

Penelitian ini menggunakan 3 (tiga) kelompok yang terdiri dari kelompok perlakuan, yaitu bakteri *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 yang dikultur dalam Muller Hinten Agar (MHA) dengan perlakuan pemberian Cimory™ Yoghurt Squeeze plain, kelompok kontrol positif, yaitu bakteri *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 yang dikultur dalam Muller Hinten Agar (MHA) dengan pemberian klorheksidin 2%, dan kelompok kontrol negatif, yaitu *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 yang hanya dikultur dalam Muller Hinten Agar (MHA) dengan perlakuan pemberian aquades steril.

Besar sampel pada penelitian dihitung menggunakan rumus jumlah subjek untuk eksperimental,⁷ yaitu rumus federrer $(r - 1) (t - 1) \geq 15$ dengan keterangan, t = jumlah kelompok r = jumlah ulangan. Sehingga jumlah ulangan dari masing – masing perlakuan yang harus dilakukan

adalah sebanyak 9 ulangan, dengan demikian besar sampel penelitian ini adalah 27 biakan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558.

Bahan yang digunakan terdiri dari bakteri *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558; NaCl 0,9%; MHA (Himedia); aquades steril; klorheksidin diglukonat 2% (Onemed); minuman yogurt Cimory™ squeeze (plain) (PT Cisarua Mountain Dairy). Alat yang digunakan terdiri dari termometer; inkubator (Espec); Bio safety cabinet (Sanyo); jangka sorong (Caliver); cawan petri (Borosilicate); *cotton bud* steril atau *cotton swab*; kertas cakram (Blank disc MN Germany); sentrifugator (Dlab D3024); jarum ose (usbeck Germany); *autoclave* (Hiramaya); spreader; labu Erlenmeyer (Pyrex 250 ml); gelas ukur; Vortex (Dlab MX-S); blue tips (Axygen); Hockey sticks.

Persiapan penelitian dilakukan dengan sterilisasi alat menggunakan autoclave (GEA LS-50LJ) pada suhu 121°C, tekanan 2 atm dalam waktu 30 menit. Pembuatan stok biakan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 dilakukan dengan mengambil satu ose *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 dan diinokulasi pada media MHA. Setelah itu, lakukan inkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C.⁸ Pembuatan Muller Hinton Agar (MHA) dilakukan dengan cara menyiapkan sebanyak 19 gram Muller Hinton Agar (MHA) dan di larutkan menggunakan aquades kedalam labu erlenmeyer hingga mencapai volume 500 mL lalu dipanaskan hingga homogen. MHA disterilkan dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C kemudian media dituang ke dalam cawan petri sebanyak 25 mL dan diamkan hingga memadat.⁹

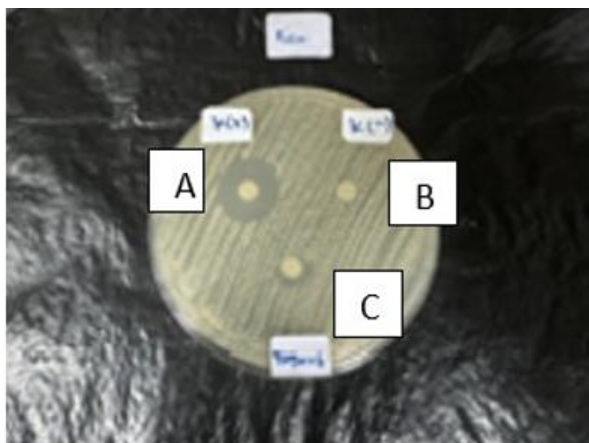
Tahap perlakuan pengamatan daya hambat bakteri dilakukan dengan menyiapkan media MHA yang telah diberikan suspensi bakteri

Fusobacterium nucleatum ATCC 2558 dengan standar Mc Farland 0,5, kemudian paper disk diletakkan pada permukaan MHA dan ditetesi 50µl larutan yoghurt, 50µl klorheksidin, dan 50µl larutan aquades steril. Setiap kelompok diberi label dibawah cawan petri agar memiliki tanda dan tidak tertukar. Cawan petri diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya lakukan pengamatan zona hambat pada area atau zona bening yang terbentuk di sekitar paper disk menggunakan jangka sorong yang memiliki ketelitian 0,01 mm.⁸

Hasil data yang diperoleh dianalisis secara menggunakan SPSS versi 22. Uji normalitas data menggunakan Shapiro-wilk dan uji homogenitas menggunakan Levene's test. Diperoleh sebaran data tidak normal pada kelompok kontrol ($p < 0,05$), dan normal pada kelompok perlakuan ($p > 0,05$) sehingga perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 akan dianalisa secara non parametric menggunakan uji Kruskal-Wallis.

HASIL

Hasil pengamatan zona hambat pada setiap kelompok dilakukan dengan cara menghitung zona bening yang terbentuk pada sekeliling paper disc menggunakan jangka sorong yang memiliki ketelitian 0,01 mm. Tabel 1 menunjukkan rerata zona hambat pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 yang terbentuk pada kelompok yoghurt sebesar 10.8444 mm sedangkan pada kelompok kontrol negatif rerata zona hambat sebesar 0 mm atau tidak terbentuk zona hambat.



Gambar 1. A) kontrol positif dengan zona bening yang terbentuk pada sekitar kertas cakram, B) kontrol negatif, tidak terbentuk zona bening disekitar cakram, C) perlakuan pemberian yoghurt dengan zona bening yang terbentuk pada sekitar kertas cakram

Tabel 1. Hasil rerata dan standar deviasi zona hambat kandungan probiotik dalam yoghurt terhadap pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558

Kelompok	n	Mean ± SD (mm)
Negatif	9	0
Positif	9	20.2500 ± .18371
Yoghurt	9	10.8444 ± .24037

Hasil uji normalitas Shapiro-wilk pada tabel 2 menunjukkan nilai $p > 0,05$ pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan (yoghurt) sedangkan pada kelompok kontrol negatif menunjukkan nilai $p < 0,05$. Berdasarkan uji Shapiro – wilk, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan menunjukkan data yang berdistribusi normal sedangkan pada kelompok kontrol negatif data tidak berdistribusi normal.

Tabel 2. Hasil uji normalitas Shapiro – wilk kandungan probiotik dalam yoghurt terhadap pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558

Kelompok	n	p-value
Kelompok negatif	9	0
Kelompok positif	9	0.333*
Yoghurt	9	0.204*

Berdasarkan hasil uji Kruskal Wallis pada tabel 4 diketahui nilai Asymp. Sig. adalah 0,000 atau $P < 0,05$ yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan terhadap zona hambat pertumbuhan

Fusobacterium nucleatum ATCC 2558 pada setiap kelompok dalam penelitian.

Tabel 3. Hasil uji statistik Kruskal wallis Kandungan Probiotik Dalam Yoghurt Terhadap Pertumbuhan *Fusobacterium Nucleatum* ATCC 2558

Kruskal-Wallis H	24.061
df	2
Asymp. Sig.	0.000*

PEMBAHASAN

Pada tabel 1, hasil analisis normalitas sebaran data pada kelompok kontrol menunjukkan hasil tidak normal, hal tersebut terjadi karena dari jumlah sebanyak 9 ulangan yang dilakukan tidak menunjukkan adanya diameter zona hambat pada pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558, sedangkan hasil analisis normalitas sebaran data pada kelompok kontrol dan kelompok positif menunjukkan sebaran data yang normal ditandai dengan nilai sig $> 0,05$ yaitu sebesar 0,204 pada kelompok kontrol dan 0,333 pada kelompok positif. Rerata diameter zona hambat pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 yang terbentuk pada kelompok perlakuan yoghurt adalah 10,84 mm yang memiliki arti bahwa probiotik dalam yoghurt memiliki potensi terhadap aktivitas antibakteri. Begitu pula pada kelompok kontrol positif yang menunjukkan rerata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 sebesar 20,25 mm.

Diameter zona hambat pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 pada kelompok perlakuan yoghurt jika diinterpretasikan ke dalam klasifikasi Ahn menunjukkan respon hambat pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 yang lemah sedangkan pada kelompok kontrol positif menunjukkan respon hambat pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558 yang kuat dan pada kelompok kontrol negatif

tidak menunjukkan terdapat respon hambat pertumbuhan *Fusobacterium nuclueatum* ATCC 2558 (0 mm).

Tabel 4. Klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri berdasarkan Ahn¹⁰

Diameter Zona Terang	Respon Hambat Pertumbuhan
> 20 mm	Kuat
16 - 19 mm	Sedang
10 - 15 mm	Lemah
< 10 mm	Tidak Ada

Berdasarkan hasil analisis perbandingan uji Kruskal wallis didapatkan rerata zona hambat yang signifikan, yaitu $p = 0,000$. Hal ini menunjukkan bahwa rerata zona hambat pada kelompok perlakuan yoghurt secara signifikan lebih tinggi (10,84 mm) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (0,0 mm). Hasil pada penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan diameter zona hambat pada setiap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.^{11,12}

Yoghurt dalam penelitian ini memiliki kandungan bakteri asam laktat *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Bakteri asam laktat menghasilkan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Bakteriosin dapat merusak permeabilitas membran sel sitoplasma, menghambat biosintesis protein dan menghambat produksi energi pada sel patogen sehingga sel akan menjadi lemah. Kondisi ini dapat mengakibatkan pembentukan pori pada sel sehingga membran sitoplasma dapat mengalami kebocoran yang memungkinkan pertumbuhan sel patogen akan terhambat atau mati.¹² Terdapat beberapa mekanisme bakteri probiotik dalam menjaga kesehatan rongga mulut, yaitu dengan memproduksi substansi antimikroba, berikatan di rongga mulut, sebagai imunomodulator, dan memodifikasi kondisi rongga mulut dengan cara

memodulasi PH dan memodifikasi potensial reduksi-oksidasi.⁴

Berdasarkan klasifikasi Ahn, hasil pada penelitian ini menunjukkan diameter zona hambat yang kuat pada kelompok kontrol positif yaitu klorheksidin. Klorheksidin merupakan bahan kimia bis-biguanida yang dapat menjadi antiseptik efektif dan tidak mengiritasi yang digunakan untuk pengendalian peradangan dan plak.¹³ Klorheksidin dapat bersifat bakteristatik pada konsentrasi rendah dan dapat bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi. Klorheksidin menjadi gold standar larutan antimikroba yang dapat melawan bakteri gram negatif, gram positif, jamur dan virus.¹⁴ Molekul klorheksidin memiliki muatan positif, atau kation sedangkan sebagian besar molekul bakteri memiliki muatan negatif, atau anion. Hal ini menyebabkan klorheksidin melekat pada membran sel bakteri dengan kuat. Ini mengubah permeabilitas membran sel bakteri, memungkinkan sitoplasma dan komponen sel dengan berat molekul rendah keluar dari membran sel sehingga menyebabkan kematian bakteri.¹⁵

Penelitian ini menunjukkan bahwa probiotik yoghurt plain memiliki potensi terhadap daya hambat pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558. Keterbatasan pada penelitian ini adalah hanya menggunakan satu jenis probiotik dan menggunakan konsentrasi asli tanpa melakukan pengenceran, sehingga kurang diketahui probiotik apa dan pada konsentrasi berapa yang memiliki potensi paling tinggi terhadap daya hambat pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa probiotik dalam yoghurt

squeeze plain memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri *Fusobacterium nucleatum* ATCC 2558.

REFERENSI

1. Kemenkes RI. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). Jakarta: Balitbang Kemenkes RI;2018.Availablefrom:https://kesmas.kemkes.go.id/assets/upload/dir_519d41d8cd98f00/files/Hasil-riskesdas-2018_1274.pdf
2. Aulia Maulina, S., Gani Soulissa, A., & Sari Widyarman, A. Antibiofilm Effect of Rambutan Leaf Extract (*Nephelium lappaceum* L.) on Selected Periodontal Pathogens. *Indonesian Dental Association Journal of Indonesian Dental Association*. (2023): 5,(2),57-61
3. Allaker, R. P., & Stephen, A. S. Use of Probiotics and Oral Health. In *Current Oral Health Reports*(2017). 4, (4), 309– 318.
4. Terai, T., Okumura, T., Imai, S., Nakao, M., Yamaji, K., Ito, M., Nagata, T., Kaneko, K., Miyazaki, K., Okada, A., Nomura, Y., & Hanada, N. Screening of probiotic candidates in human oral bacteria for the prevention of dental disease. *PLoS ONE*, (2015). 10(6),1–20.
5. Alibasyah, Z. M., Ningsih, D. S., & Fadhillah Ananda, S. Daya Hambat Minuman Probiotik Yoghurt Susu Sapi Terhadap *Porphyromonas gingivalis* Secara In Vitro. *Alibasyah et All J Syiah Kuala Dent Soc*, (2018). 3(2), 65–75.
6. Sulastri, S. The Effect of Drinking Yogurt on The PH Saliva of Elementary School Students. *Jurnal Kesehatan Gigi*, (2018). 05(1), 24–29
7. Mushlih, M., & Rosyidah, R. Buku Ajar Mata Kuliah Statistika “Aplikasi di Dunia Kesehatan”. Sidoarjo: UMSIDA Press.
8. Magvirah, T., Marwati, & Ardhani F. (2019). Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, (2020). 2, 41 - 50.
9. Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. Comparison Of The Antibacterial Activity Of Yogurt Starter With Disk Diffusion Agar And Well Difussion Agar Methods. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, (2020). 41 - 46.
10. Soraya , C., Sunnati, & Wulandari , F. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* Secara In-Vitro. *Cakradonya Dental Journal* , (2019). 23 - 32.
11. Sulistiowati, C. p., Suhartono, M., Rahmawati, D. F., Ulfah, N., Supandi, S. K., Wijaksana, I. E., . . . Dhadse, P. (2023). In-Vitro Inhibitory Efficacy of 3 Types of Probiotics on the Growth of Aggregatibacter actinomycetemcomitans Bacteria . *Frontiers in Bioscience Landmark*, 1 - 7.
12. Sandi, I. M., Bachtiar, H., & Hidayati. Perbandingan Efektivitas Daya Hambat Dadih Dengan Yogurt Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutan*. *Jurnal B-Dent*, (2015). 2, 88 – 94
13. Collins, J. R., Olsen, J., Cuesta, A., Silva-Vetri, M., Hernandez, M., Romanos, G., Palma, P. In vitro Microbiological Analysis on Antibacterial, Anti-inflammatory, and Inhibitory Action on Matrix Metalloproteinases-8 of Commercially Available Chlorhexidine Digluconate Mouth rinses. *Indian Journal of Dental Research*, (2018),. 29, 799 - 807.
14. Balagopal, S., & Radhika, A. Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplaque Agent. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*,(2013),. 5, 270 - 274.
15. Sinaredi, B. R., Pradopo, S., & Wibowo, T. B. Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine, povidone iodine, fluoride suplementasi zinc terhadap, *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. *Dental Journal*, (2014). 47, 211 - 214.