

UJI KEPEKAAN BAKTERI ASAM LAKTAT ISOLAT KOMBUCHA TEH HIJAU KANDIDAT PROBIOTIK TERHADAP ANTIBIOTIK

Ni Wayan Nursini^{12*}, Ida Bagus Agung Yogeswara¹²

¹Universitas Dhyana Pura; ²PUI-PT Nutribiome

*Email Corresponding: nursini@undhirabali.ac.id¹; agungyogeswara@undhirabali.ac.id²

ABSTRAK

Penggunaan antibiotik masih banyak dilakukan da;lam dunia kesehatan, sehingga akan banyak menimbulkan masalah yang besar yaitu resisten antibiotik. Penggunaan antibitik juga sudah dibatasi, namun tidak dapat dihentikan. Penggunaan probiotik sebagai terapi dalam dunia kesehatan juga semakin meningkat setiap tahunnya, sehingga perlu dilakukan kajian kombinasi antibiotik dan probiotik agar tidak mengurangi efektivitas probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kepekaan bakteri asama laktat isolat kombucha teh hijau kandidat probiotik terhadap antibiotik. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif, experimental dimana pengamatan yang dilakukan terkait dengan populasi bakteri asam laktat per ml dan zona bening isolat BAL dari kombucha teh hijau terhadap antibiotik. Pada penelitian ini menggunakan lima isolat yaitu GTK1, GTK6, GTK8, dan GTK15. Hasil penelitian didapatkan populasi isolat GTK1, GTK6, GTK8, dan GTK15 masing-masing $7,45 \times 10^8$ CFU/mL, $2,97 \times 10^9$ CFU/mL, $3,31 \times 10^8$ CFU/mL, dan $2,28 \times 10^8$ CFU/mL. Berdasarkan uji kepekaan terhadap antibiotik didapatkan bahwa isolat BAL GTK1, GTK3, GTK6, GTK8, dan GTK15 sensistif terhadap antibiotik kloramfenikol dan resisten terhadap antibiotik ciprofloxasin. Dari keempat isolat yang diujikan didapatkan bahwa GTK6 memiliki populasi tertinggi dan zona bening paling luas terhadap antibiotik klorampenikol.

Kata kunci: Probiotik, Antibiotik, BAL, Kombucha Teh Hijau

1. Pendahuluan

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok mikroorganisme yang banyak dimanfaatkan sebagai probiotik karena kemampuannya memberikan manfaat kesehatan bagi inang, terutama dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus dan meningkatkan sistem imun (Albureikan, 2023; Doğan & Çanakçı Adıgüzel, 2024). Salah satu aspek penting dalam penilaian keamanan dan kelayakan BAL sebagai kandidat probiotik adalah profil kepekaannya terhadap antibiotik. Uji kepekaan antibiotik diperlukan untuk memastikan bahwa isolat BAL tidak memiliki resistensi yang berpotensi ditransfer secara horizontal kepada bakteri patogen di saluran pencernaan (Allaith et al., 2022; Mohania et al., 2008; Outman et al., 2023).

Kombucha teh hijau merupakan minuman tradisonal yang terbuat dari teh hijau atau teh hitam yang difermentasi oleh konsorsium yeast dan bakteri (SCOBY), yang diketahui mengandung berbagai mikroorganisme fungsional, termasuk bakteri asam laktat. Teh hijau sebagai bahan baku fermentasi kaya akan senyawa polifenol yang berperan sebagai substrat bioaktif, sehingga dapat mendukung pertumbuhan BAL dengan karakteristik fungsional yang unggul. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa BAL yang diisolasi dari kombucha memiliki potensi probiotik, seperti toleransi terhadap kondisi asam dan empedu, serta aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen. mendapatkan perhatian karena kombinasi unik dari fitokimia, metabolit, dan mikroba. (M. Bogdan, S. Justine, D. C. Filofteia, C. C. Petruta, L. Gabriela, U. E. Roxana, 2018; Nguyen et al., 2015; Yang et al., 2022). Kombucha mengandung berbagai jenis asam organik seperti asam glukuronat, asam glukonat, asam asetat, asam folat, asam amino, vitamin, dan zat lainnya. Kombucha dapat dibuat dari teh hijau, teh oolong dan teh hitam. Tetapi untuk tujuan pengobatan, paling baik menggunakan teh hijau karena

mengandung lebih dari 36 % polifenol sebagai komponen bioaktifnya dibandingkan teh hitam (M. Karyantina; Sumarmi, 2021).

Uji kepekaan bakteri asam laktat terhadap antibiotik menjadi langkah penting dalam proses seleksi kandidat probiotik. Isolat BAL yang sensitif terhadap antibiotik umumnya dianggap lebih aman untuk dikembangkan sebagai probiotik karena memiliki risiko lebih rendah dalam membawa gen resistensi antibiotik. Selain itu, hasil uji kepekaan dapat memberikan gambaran awal mengenai stabilitas genetik dan keamanan isolat dalam aplikasi pangan atau kesehatan.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menguji kepekaan bakteri asam laktat yang diisolasi dari kombucha teh hijau terhadap beberapa jenis antibiotik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah dalam penentuan kelayakan isolat BAL sebagai kandidat probiotik yang aman dan berpotensi dikembangkan dalam produk pangan fungsional.

2. Metode

Isolat BAL kombucha teh hijau GTK1, GTK3, GTK6, GTK8, dan GTK15 yang disimpan dalam gliserol 30% pada suhu -80°C diambil sebanyak satu *loop ose* dan diinokulasikan kedalam tabung reaksi yang berisi 5ml media MRS broth, kemudian diinkubasi aerobik pada 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan ditunjukkan dengan kekeruhan pada tabung (Nursini & Yogeswara, 2023). Selanjutnya dilakukan uji konfirmasi untuk memastikan bahwa isolat tidak mengalami perubahan meliputi uji produksi gas dari produksi metabolisme glukosa, uji katalase, uji pewarnaan gram dan morfologi sel bakteri (Nursini et al., 2022).

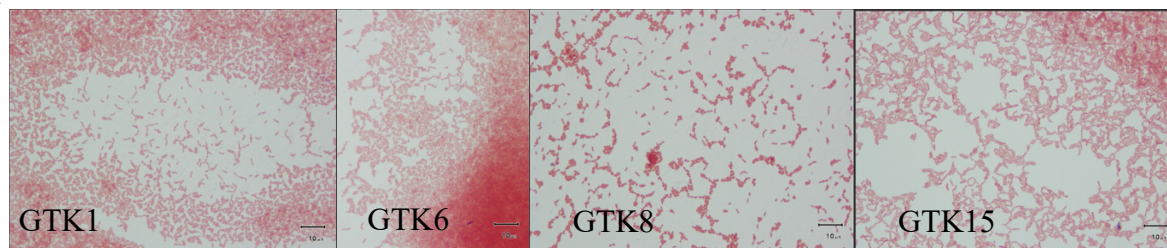
Kepekaan isolat BAL terhadap antibiotik dilakukan dengan metode difusi cakram. Antibiotik yang digunakan adalah kloramfenikol (stok 20 mg/ml) dan Ciprofloxacin (stok 0,1 mg/ml). Larutan antibiotik tersebut kemudian disterilkan menggunakan membran filter (ukuran pori 0,22 μm). Cawan petri yang mengandung MRS padat sebelumnya telah diinokulasikan dengan 200 μl (7,0-8,0 log CFU/ml) kultur BAL. Setelah piringan agar memadat, kertas cakram steril diletakkan di atas permukaan agar secara aseptis dan ditambahkan sebanyak 20 μl masing-masing larutan, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C , kemudian diukur diameter zona bening yang terbentuk (Duche et al., 2023; Floris et al., 2025)

3. Hasil dan Pembahasan

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan kepada inang, ketika diberikan dalam jumlah yang sesuai. Mereka umumnya ditemukan dalam makanan fermentasi seperti yogurt, kefir, asinan kubis, kimchi dan juga tersedia dalam bentuk suplemen. Secara umum mereka dari kelompok bakteri asama laktat (Chen et al., 2023; Khushboo et al., 2023; Yan et al., 2022). Berdasarkan hasil uji konfirmasi didapatkan keempat isolat GTK1, GTK6, GTK8, dan GTK15 adalah gram positif, nonmotil, berbentuk bacil, katalase negatif, dan heterofermentatif dan semua telah memenuhi kriteria sebagai bakteri asam laktat (4–6). Untuk melakukan uji lebih lanjut perlu diketahui populasi masing-masing isolat. Populasi isolat GTK1 yaitu $7,45 \times 10^8$ CFU/ml, GTK6 yaitu $2,97 \times 10^9$ CFU/ml, GTK8 yaitu $3,31 \times 10^8$ CFU/ml, dan GTK15 yaitu $2,28 \times 10^8$ CFU/ml.

Bakteri Asam Laktat (BAL) diklasifikasikan ke dalam bakteri Gram positif yang tersebar luas di alam dan menghasilkan asam laktat baik melalui jalur homofermentatif maupun heterofermentatif. Bakteri asam laktat dianggap sebagai bakteri yang menguntungkan, karena

memiliki kemampuan untuk memecah karbohidrat, protein dan lemak dalam makanan serta membantu penyerapan mineral, asam amino dan vitamin yang diperlukan dalam proses metabolisme. BAL menunjukkan aktivitas antagonis yang kuat terhadap berbagai mikroorganisme pembusuk makanan dengan memproduksi berbagai asam organik, hidrogen peroksida, diasetil, asam penghambat dan bakteriosin. Morfologi sel isolat BAL dapat dilihat pada Gambar 1.



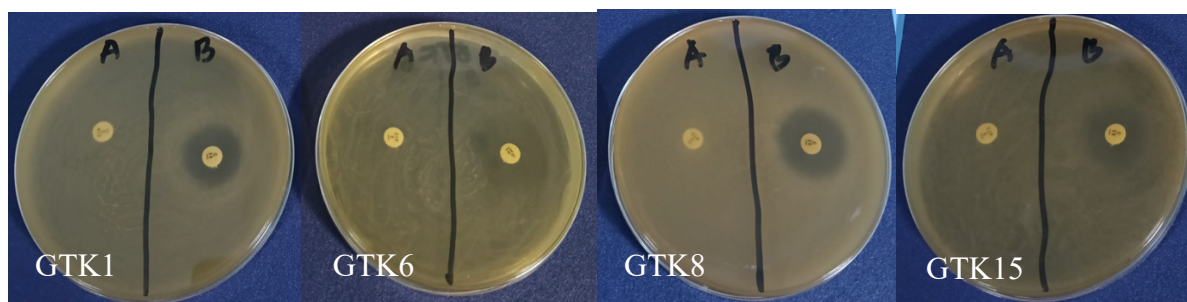
Gambar 1. Morfologi sel isolat GTK1, GTK6, GTK8 dan GTK15
(Sumber: dokumentasi pribadi)

Sesitivitas terhadap antibiotik merupakan faktor paling penting dalam evaluasi keamanan probiotik. Resistensi antibiotik merupakan risiko potensial aplikasi probiotik, karena transfer horisontal gen resistensi antibiotik telah ditunjukkan antara *Lactobacilli* dan *Enterococcus faecalis* secara *in vivo* (Hansur et al., 2019). Hasil uji kepekaan isolat BAL terhadap antibiotik dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 2. Sebanyak 10^8 isolat BAL ditumbuhkan dalam media MRSA dengan metode tuang dan ditunggu hingga memadat. Setelah padat cakram antibiotik diletakkan diatas media dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C .

Tabel 1. Uji kepekaan isolat BAL terhadap antibiotik

No	Kode Isolat	Ciprofloxasin (CIP 5 mcg)	Kloramfenicol (C30mcg)
1	GTK1	R	S
2	GTK6	R	S
3	GTK8	R	S
4	GTK15	R	S

Ket. R=Resisten (zona hambat ≤ 12); I= Intermediet (zona hambat 12-18mm); S=Sensitif (zona hambat ≥ 12 mm)



Gambar 2. Zona bening yang terbentuk dari sensitifitas isolat terhadap antibiotik kloramfenikol
(Sumber: dokumentasi pribadi)

Berdasarkan data dapat dilihat bahwa isolat BAL GTK1, GTK6, GTK8, dan GTK15 sensitif terhadap antibiotik kloramfenikol dan resisten terhadap antibiotik ciprofloxasin.

Sensitivitas bakteri terhadap antibiotik sebagai kandidat probiotik sangatlah penting karena akan mencegah transfer gen resisten terhadap antibiotik tersebut ke sel patogen. BAL sebagai kandidat probiotik adalah tidak memiliki kemampuan mentransfer gen resisten. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik dapat mentransfer plasmid R atau gen-gen yang mengkode sifat resistensi bakteri kepada bakteri lain (Asnita & Meryandini, 2023). Penggunaan antibiotik secara berlebihan dapat menimbulkan tekanan selektif yang mendorong perkembangbiakan mikroorganisme yang resisten. Sebagai contoh bakteri gram positif tidak memiliki membran sel bagian luar (*outer membrane*) sehingga secara intrinsik bersifat resisten terhadap polimiksin. Hal tersebut disebabkan sifat antibiotik polimiksin B yang merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba dan dapat menyebabkan lisis pada bakteri (Hansur et al., 2019).

4. Simpulan

Populasi isolat GTK1, GTK6, GTK8, dan GTK15 masing-masing $7,45 \times 10^8$ CFU/mL, $2,97 \times 10^9$ CFU/mL, $3,31 \times 10^8$ CFU/mL, dan $2,28 \times 10^8$ CFU/mL. Dari keempat isolat yang diujikan didapatkan bahwa GTK6 memiliki populasi tertinggi dan zona bening paling luas terhadap antibiotik klorampenikol.

5. Daftar Rujukan

- Albureikan, M. O. I. (2023). Characterization and molecular identification of lactic acid bacteria isolated from kefir and evaluation of their antibacterial activity against food-borne pathogens in Saudi Arabia. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 27(23), 11249–11263. https://doi.org/10.26355/eurrev_202312_34564
- Allaith, S. A., Abdel-aziz, M. E., Thabit, Z. A., Altemimi, A. B., Abd El-Ghany, K., Giuffrè, A. M., Al-Manhel, A. J. A., Ebrahim, H. S., Mohamed, R. M., & Abdelmaksoud, T. G. (2022). Screening and Molecular Identification of Lactic Acid Bacteria Producing β -Glucan in Boza and Cider. *Fermentation*, 8(8), 1–20. <https://doi.org/10.3390/fermentation8080350>
- Asnita, D., & Meryandini, A. (2023). Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik dari Susu Kuda Bima. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 9(2), 49–54. <https://doi.org/10.29244/jsdh.9.2.49-54>
- Chen, Z., Leng, X., Zhou, F., Shen, W., Zhang, H., Yu, Q., Meng, X., Fan, H., & Qin, M. (2023). Screening and Identification of Probiotic Lactobacilli from the Infant Gut Microbiota to Alleviate Lead Toxicity. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 15(4), 821–8318.
- Doğan, S., & Çanakçı Adıgüzel, G. (2024). Isolation Identification and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria from Raw Milk Samples Collected from Erzurum Region. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 13(1), 111–117. <https://doi.org/10.46810/tdfd.1424945>
- Duche, R. T., Singh, A., Wandhare, A. G., Sangwan, V., Sihag, M. K., Nwagu, T. N. T., Panwar, H., & Ezeogu, L. I. (2023). Antibiotic resistance in potential probiotic lactic acid bacteria of fermented foods and human origin from Nigeria. *BMC Microbiology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02883-0>

- Floris, I., Battistini, R., Tramuta, C., Garcia-Vozmediano, A., Musolino, N., Scardino, G., Masotti, C., Brusa, B., Orusa, R., Serracca, L., Razzuoli, E., Martucci, F., & Bianchi, D. M. (2025). Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria from Dairy Products in Northern Italy. *Antibiotics*, 14(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14040375>
- Hansur, L., Ugi, D., & Hambali, H. (2019). Uji Kepekaan Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik terhadap Antibiotik Kanamisin, Oleandomisin, dan Polimiksin B. *EJournal Kedokteran Indonesia*, 7(1), 61–65. <https://doi.org/10.23886/ejki.7.8476>.
- Khushboo, Karnwal, A., & Malik, T. (2023). Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from diierent dietary sources for development of functional foods. *Frontiers in Micobiology*, 01–14.
- M. Bogdan, S. Justine, D. C. Filofteia, C. C. Petruta, L. Gabriela, U. E. Roxana, M. F. (2018). Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Kombucha with Potential Probiotic Effect. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(3), 13592–13598.
- M. Karyantina; Sumarmi. (2021). Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Kombucha Rosella. *Agrointek*, 15(1), 244–252. <https://doi.org/DOI 10.21107/Agrointek.v15i1.7340>
- Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S., Marotta, F., Singh, V., Parkash, O., & Yadav, H. (2008). Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of Digestive Diseases*, 9(4), 190–198. <https://doi.org/10.1111/j.1751-2980.2008.00345.x>
- Nguyen, N. K., Thi, N., Dong, N., Nguyen, H. T., & Le, P. H. (2015). *Lactic acid bacteria : promising supplements for enhancing the biological activities of kombucha*. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0872-3>
- Nursini, N. W., Antara, N. S., Sugitha, I. M., & Sujaya, I. N. (2022). Screening of *Lactobacillus rhamnosus*-producing gamma aminobutyric acid (GABA) isolated from Sumbawa mare milk and its potential application to increase GABA content in fermented milk. *Food Research*, 6(3), 187–195. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(3\).380](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(3).380)
- Nursini, N. W., & Yogeswara, I. B. A. (2023). Produksi Asam Gamma Aminobutirat (Gaba) *Lactobacillus plantarum* PH715 pada Susu Terfermentasi. *ARGIPA (Arsip Gizi Dan Pangan)*, 8(1), 69–80. <https://doi.org/10.22236/argipa.v8i1.8369>
- Outman, A., Deracinois, B., Flahaut, C., Diab, M. A., Dhaouefi, J., Outman, A., Deracinois, B., Flahaut, C., & Diab, M. A. (2023). *Obtaining of New Antioxidant and Antimicrobial Peptides Derived from Human Hemoglobin by Peptide Hydrolysis and Comparison with These Obtained by Bovine Hemoglobin*. <https://doi.org/10.20944/preprints202307>
- Salminen, S., A.V. Wright, A. O. (2004). *Lactic Acid Bacteria “Microbiological and Functional Aspect”Third Edition, Revision and Expanded*.
- Yan, R., Wang, K., Wang, Q., Jiang, H., Lu, Y., Chen, X., Zhang, H., Su, X., Du, Y., Li, L., & Longxian, L. (2022). Probiotic *Lactobacillus casei* Shirota prevents acute liver injury by reshaping the gut microbiota to alleviate excessive inflammation and metabolic disorders. *Microb Biotechnol.*, 1(15), 247–261.



Yang, J., Lagishetty, V., Kurnia, P., Henning, S. M., Ahdoot, A. I., & Jacobs, J. P. (2022).
Microbial and Chemical Profiles of Commercial Kombucha Products.