

**UJI EFEKTIVITAS *Lactobacillus casei*
DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Helicobacter pylori***

SKRIPSI

OLEH:

**CHAIROEL MUNAWAR RIZKY
188700015**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2025**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 30/5/25

Access From (repository.uma.ac.id)30/5/25

**UJI EFEKTIVITAS *Lactobacillus casei*
DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Helicobacter pylori***

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana di Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Medan Area

Oleh:

**CHAIROEL MUNAWAR RIZKY
188700015**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2025**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 30/5/25

Access From (repository.uma.ac.id)30/5/25

Judul Skripsi : Uji Efektivitas *Lactobacillus casei* Dalam Menghambat
Pertumbuhan *Helicobacter pylori*
Nama : Chairael Munawar Rizky
NIM : 188700015
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi



Tanggal Lulus : 10 Maret 2025

HALAMAN PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat peroleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan skripsi ini yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan karya ilmiah. Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya dengan peraturan yang berlaku, apabila dikemudian hari ditemukan adanya plagiat dalam skripsi ini.

Medan, 11 Februari 2025



Chairoel Munawar Rizky
188700015

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR/SKRIPSI/TESIS UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Chairael Munawar Rizky
NPM : 188700015
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Jenis Karya : Skripsi

demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area **Hak Bebas Royalti (Non-exclusive Royalti-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul : Uji Efektivitas *Lactobacillus casei* Dalam Menghambat Pertumbuhan *Helicobacter pylori* beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Medan Area berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada Tanggal : 11 Februari 2025

Yang Menyatakan



(Chairael Munawar Rizky)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas *Lactobacillus casei* dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*. Metode yang digunakan yaitu difusi cakram Kirby-Bauer dengan dua kerapatan yaitu *Lactobacillus casei* 10^5 CFU/mL dan *Lactobacillus casei* 10^8 CFU/mL, kontrol positif (antibiotik) dan kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan zona hambat rata-rata sebesar 10,3 mm pada konsentrasi 10^5 CFU/mL, 18,3 mm pada 10^8 CFU/mL, dan 25 mm pada kontrol positif, sementara kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat. *Lactobacillus casei* menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* melalui produksi bakteriosin berupa laktosin dan caseicin, asam laktat dan kompetisi adhesi. Berdasarkan data zona hambat pada pengujian penelitian ini, *Lactobacillus casei* memiliki efek sebagai agen penghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*.

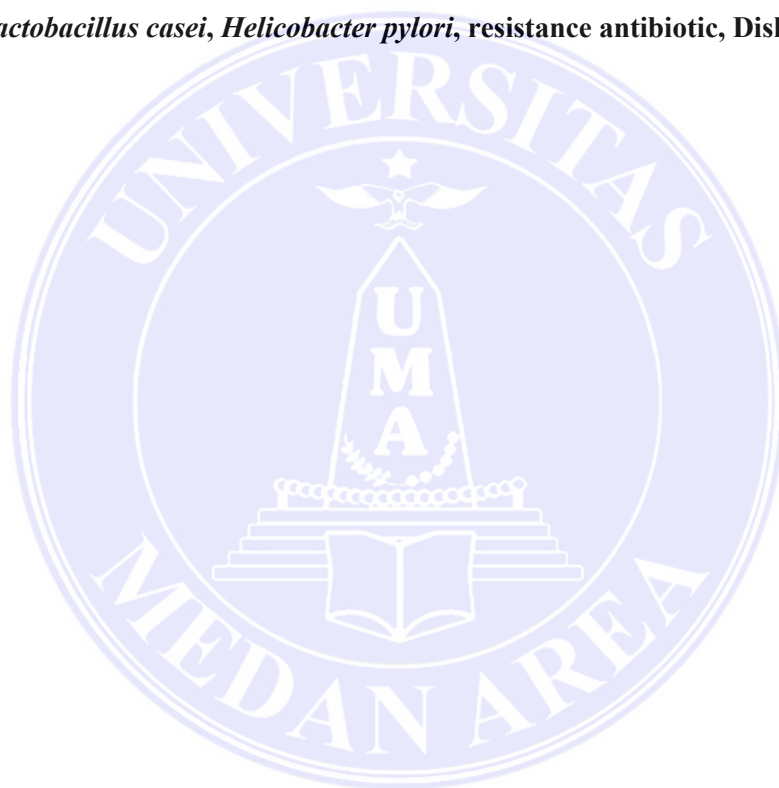
Kata Kunci: *Lactobacillus casei*, *Helicobacter pylori*, resistensi antibiotik, difusi cakram



ABSTRACT

This study aims to determine the effectiveness of *Lactobacillus casei* in inhibiting the growth of *Helicobacter pylori*. The method used is the Kirby-Bauer disk diffusion test with two bacterial densities: *Lactobacillus casei* at 10^5 CFU/mL and 10^8 CFU/mL, along with a positive control (antibiotic) and a negative control. The results showed an average inhibition zone of 10.3 mm at 10^5 CFU/mL, 18.3 mm at 10^8 CFU/mL, and 25 mm for the positive control, while the negative control produced no inhibition zone. *Lactobacillus casei* inhibits *Helicobacter pylori* growth through the production of bacteriocins (laktosin and caseicin), lactic acid, and adhesion competition. Based on the inhibition zone data from this study, *Lactobacillus casei* demonstrates potential as an inhibitory agent against *Helicobacter pylori* growth.

Keywords: *Lactobacillus casei*, *Helicobacter pylori*, resistance antibiotic, Disk diffusion



RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Chairoel Munawar Rizky dilahirkan di Lhokseumawe pada tanggal 03 Februari 2001. Penulis merupakan putra ke empat dari empat bersaudara.

Tahun 2018 penulis lulus dari SMAN 1 Syamtalira Aron, Aceh dan pada tahun 2018 terdaftar sebagai mahasiswa program studi biologi fakultas sains dan teknologi di Universitas Medan Area.

Selama mengikuti perkuliahan, penulis telah menyelesaikan e-kursus Elements of AI oleh Reaktor Helsinki, The Fundamentals of Digital Marketing oleh Google Digital Garage, Google Analytics 360 oleh Google Academy Analytics, Komputer dan Bahasa Inggris oleh Universitas Medan Area dan meraih medali perak pada olimpiade sains tingkat mahasiswa yang diselenggarakan oleh POSI tahun 2020. Penulis juga aktif mengikuti beberapa webinar yang relevan.

Pada tahun 2021, penulis menyelesaikan Praktek Kerja Lapangan (PKL) di department laboratorium Rumah Sakit Columbia Asia Medan dengan baik.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Potensi Probiotik *Lactobacillus casei* Dalam Menghambat Pertumbuhan *Helicobacter pylori***”.

Terima kasih penulis sampaikan kepada Rahmmiati, S.Si, M.Si selaku pembimbing dan komisi seminar yang telah memberikan arahan dalam penyusunan skripsi. Terima kasih pula kepada ibu penulis yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan.

Penulis menyadari bahwa tugas skripsi ini masih memiliki kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi pengembangan tugas skripsi ini. Penulis berharap tugas skripsi ini dapat bermanfaat baik untuk pendidikan maupun masyarakat. Akhir kata penulis ucapkan terima kasih.

Penulis

(Chairoel Munawar Rizky)

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	
ABSTRACT	
RIWAYAT HIDUP	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
 BAB I. PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1. <i>Lactobacillus casei</i>	5
2.2. <i>Helicobacter pylori</i>	6
2.3. Patogenitas <i>Helicobacter pylori</i>	7
2.4. Efektivitas <i>Lactobacillus casei</i> Menghambat Pertumbuhan <i>Helicobacter pylori</i>	9
 BAB III. METODE PENELITIAN.....	 13
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.2. Alat dan Bahan.....	13
3.3. Sampel Penelitian	13
3.4. Metode Penelitian	13
3.5. Prosedur Penelitian	14
3.5.1. Preparasi Alat dan Bahan	14
3.5.2. Preparasi Media Uji.....	15
3.5.3. Subkultur <i>Helicobacter pylori</i>	15
3.5.4. Difusi Cakram.....	15
3.5.5. Pewarnaan Gram	16
3.6. Analisis Data	16
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	 17
4.1. Difusi Cakram	17
4.2. Pewarnaan Gram.....	22
 BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	 19
5.1. Simpulan	23
5.2. Saran	23
 DAFTAR PUSTAKA	 24

LAMPIRAN.....26



DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Zona Hambat <i>Lactobacillus casei</i> Terhadap Pertumbuhan <i>Helicobacter pylori</i>	17
2. Hasil Uji LSD Efektivitas <i>Lactobacillus casei</i> Dalam Menghambat Pertumbuhan <i>Helicobacter pylori</i>	19
3. Zona hambat <i>Lactobacillus casei</i> terhadap pertumbuhan <i>Helicobacter pylori</i> ..	20



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Struktur <i>Lactobacillus casei</i>	5
2. Struktur <i>Helicobacter pylori</i>	6
3. Pengukuran Diameter Zona Hambat	16
4. Zona Hambat Terhadap Pertumbuhan <i>Helicobacter pylori</i>	18
5. Pewarnaan Gram Negatif <i>Helicobacter pylori</i>	22



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Perhitungan Zona hambat.....	26
2. Aktivitas Penelitian.....	28
3. Analisis parametrik Anova dan LSD.....	28



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lactobacillus casei merupakan bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri gram positif yang pertama kali ditemukan oleh ilmuwan bernama Louis Pasteur pada tahun 1857. Bakteri asam laktat diketahui memiliki peran sebagai probiotik yang dapat membantu kesehatan saluran pencernaan dengan menghambat pertumbuhan patogen melalui senyawa antimikroba berupa laktosin dan caseicin sebagai antibakteri (Zheng *et al.*, 2020).

Penelitian terhadap bakteri asam laktat sebagai probiotik terus berkembang terutama dalam bidang industri pangan termasuk fermentasi makanan. *Food and Agriculture Organization* (FAO) menjelaskan bahwa probiotik merupakan mikroorganisme *non-patogen* yang hidup dan memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan apabila dikonsumsi dengan jumlah yang tepat (Hill *et al.*, 2014). Mikroorganisme probiotik diteliti lebih luas pada genus *Lactobacillus*, salah satunya adalah *Lactobacillus casei*. *Lactobacillus casei* merupakan bakteri gram positif yang dapat mengubah karbohidrat menjadi asam laktat, mensintesis asam organik serta mampu mensekresikan bakteriosin, memproduksi eksopolisakarida sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan, dan dapat memodulasi sistem imun (Murray *et al.*, 2016).

Champagne *et al.*, (2018) menyatakan bahwa, bakteri *Lactobacillus casei* memiliki efektivitas sebagai agen pengendalian hayati mikroorganisme patogen di saluran pencernaan, sehingga *Lactobacillus casei* dikembangkan menjadi produk konsumtif berupa minuman fermentasi seperti susu probiotik yogurt dan makanan fermentasi yang banyak diminati masyarakat.

Bakteri *Lactobacillus casei* diketahui memiliki kemampuan dalam mengatasi gejala penyakit gastritis yang disebabkan oleh bakteri patogen antara lain *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Clostridium* dan *Helicobacter pylori*. Gastritis merupakan suatu kondisi adanya peradangan pada saluran pencernaan karena infeksi bakteri patogen, salah satu bakteri yang menyebabkan peradangan akut pada saluran pencernaan adalah *Helicobacter pylori* (Keikha *et al.*, 2021).

Helicobacter pylori dapat menyebabkan gastritis hingga kanker lambung (Takashi-Kanemitsu *et al.*, 2021). *Helicobacter pylori* dikategorikan sebagai karsinogen kelas I oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC). Data global menunjukkan bahwa sekitar 4,4 miliar orang terinfeksi oleh bakteri ini (Hill *et al.*, 2014). Pengobatan infeksi *Helicobacter pylori* berbasis antibiotik konvensional dapat meninggalkan residu yang menyebabkan reaksi hipersensitifitas dan meningkatnya resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik (Hu *et al.*, 2016).

Pengobatan berbasis antibiotik konvensional telah mendapatkan beberapa laporan kasus resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik atau dikenal *Multi Drug Resistance* (MDR) merupakan kondisi dimana bakteri tidak dapat dihambat pertumbuhannya menggunakan jenis antibiotik yang diberikan (Hu *et al.*, 2016). Penelitian oleh Saniee *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kasus resistensi antibiotik pada *Helicobacter pylori* secara signifikan, terutama pada pasien gastritis di Iran selama periode 2010-2017. *World Health Organization* (WHO) juga melaporkan bahwa resistensi antibiotik merupakan penyebab utama gagalnya terapi dalam memberantas *Helicoacter pylori* (Hu *et*

al., 2016). Upaya pengobatan alternatif dari resistensi antibiotik melalui terapi probiotik strain *Lactobacillus casei*. *Lactobacillus casei* semakin dikembangkan secara ekstensif karena dinilai sebagai probiotik yang ketersediaannya relatif melimpah dan mampu bertahan hidup melawan patogen saluran pencernaan (Luo *et al.*, 2023).

Lactobacillus casei telah dinyatakan aman untuk dikonsumsi oleh *Generally Recognized as Safe* (GRAS) (Bujnakova *et al.*, 2017). Berdasarkan aspek karakteristik *Lactobacillus casei* yang memiliki potensi menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* dan mengurangi gejala gastritis, sehingga dapat mengatasi kasus resistensi antibiotik menjadi alasan penelitian ini dilakukan.

Pemanfaatan *Lactobacillus casei* sebagai probiotik dalam mengatasi masalah resistensi antibiotik dalam pengendalian infeksi *Helicobacter pylori* semakin dikembangkan. Penelitian probiotik strain *Lactobacillus casei* diharapkan dapat menjadi solusi efektif untuk meningkatkan kesehatan saluran pencernaan dan mengurangi infeksi yang disebabkan oleh *Helicobacter pylori*. Hasil penelitian ini berupa nilai zona hambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* yang dapat berperan sebagai pengembangan ekstensif penegakan diagnosis klinis dari pengujian efektivitas *Lactobacillus casei*.

Pentingnya penelitian potensi *Lactobacillus casei* dalam menghambat *Helicobacter pylori* menjadi semakin mendesak, mengingat tingginya pelaporan kasus resistensi antibiotik yang menyebabkan pengobatan berbasis antibiotik konvensional semakin tidak efektif. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi penting dalam pengembangan pengujian probiotik

sebagai solusi alternatif yang lebih aman dan berkelanjutan untuk mengatasi resistensi antibiotik dari infeksi *Helicobacter pylori*.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana efektivitas bakteri *Lactobacillus casei* dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas *Lactobacillus casei* dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*.

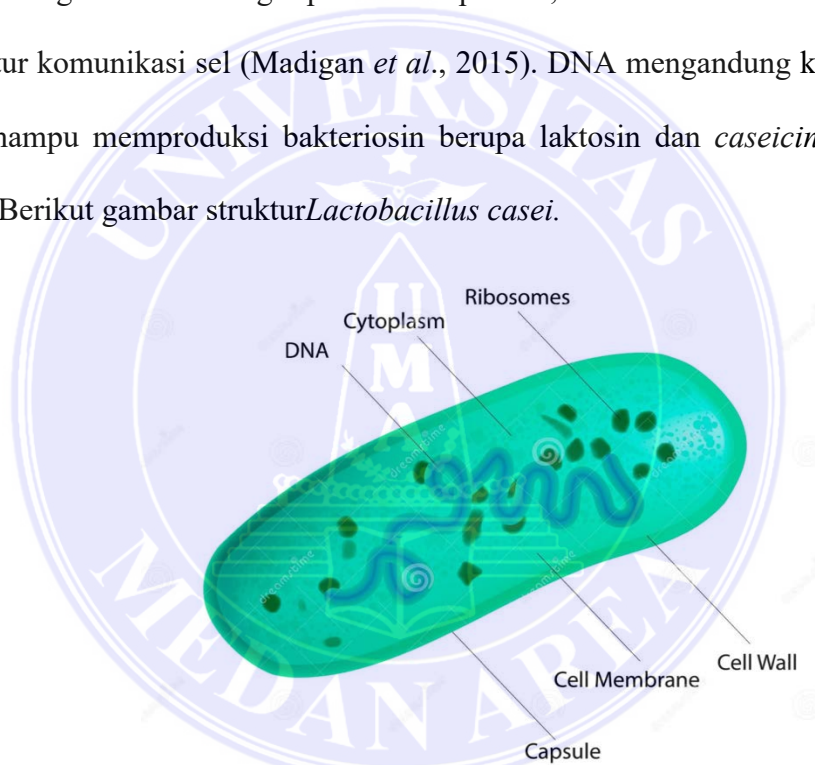
1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini berkontribusi dalam literasi data pengujian efektivitas probiotik *Lactobacillus casei* dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei merupakan bakteri gram positif berdiameter 0.6 μm dan panjang 1.2 μm , dinding sel sebagai pemberi bentuk basil, kapsul sebagai pelindung terluar untuk dapat beradaptasi yang tersusun dari polisakarida, membran sel mengandung lipid yang mengatur keluar masuknya zat, sitoplasma mengandung ribosom sebagai pensintesis protein, membran sel melindungi serta mengatur komunikasi sel (Madigan *et al.*, 2015). DNA mengandung kode genetik yang mampu memproduksi bakteriosin berupa laktosin dan *caseicin* (Chauhan, 2020). Berikut gambar struktur *Lactobacillus casei*.



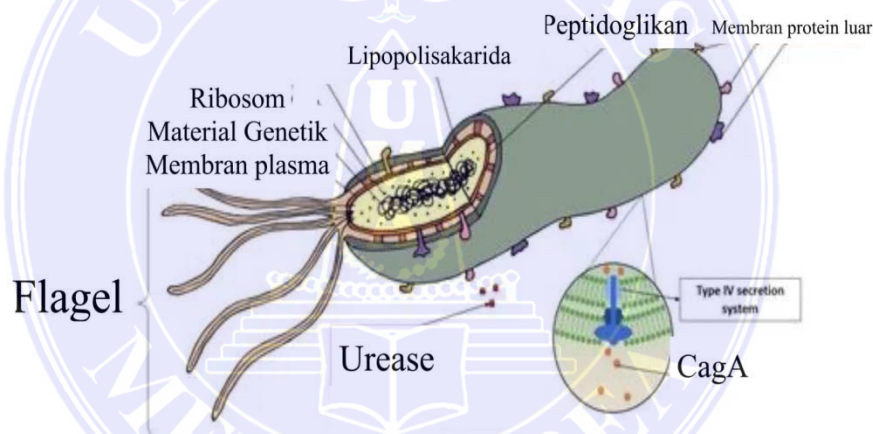
Gambar 1. Struktur *Lactobacillus casei*
Sumber : Alamy, 2022

Lactobacillus casei dikelompokkan sebagai bakteri asam laktat karena mampu mengubah bahan organik berupa karbohidrat menjadi asam laktat melalui fermentasi yang bersifat heterofermentatif. Pertumbuhannya optimal pada kondisi pH 5 (Champagne *et al.*, 2018). Dalam jumlah yang stabil pada saluran pencernaan, *Lactobacillus casei* berperan dalam dekomposisi bahan organik,

modulasi imunitas, menjaga kestabilan mikrobiom gastrointestinal dan mencegah atau menurunkan gejala gastritis dari infeksi mikroorganisme patogen yang menyerang saluran pencernaan seperti *Helicobacter pylori* (Keikha *et al.*, 2021).

2.2. *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori merupakan bakteri patogen gram negatif berbentuk spiral dan mengandung material genetik yang dapat memproduksi sitotoksin berupa CagA dan VacA yang dapat merusak sel mukosa dan menyebabkan gastritis pada saluran pencernaan hingga kanker lambung (Hatakeyama, 2014). Berikut merupakan gambar struktur *Helicobacter pylori*.



Gambar 2. Struktur *Helicobacter pylori*
Sumber : Cheok *et al.*, 2021

Helicobacter pylori berdiameter 0,5 μm dengan panjang 3 μm ,memilikipili dan protein membran luar (Champagne *et al.*, 2016). Terdapat peptidoglikan sebagai lapisan kapsul yang memberi kekohan membentuk spiral. Ribosomnya dapat mensistesis protein sitotoksin *Vacuolating cytotoxinA* (VacA) dan *Cytotoxin associated gene A* (CagA), asam nukleat sebagai penyandi materi genetiknya,

membran plasma sebagai lapisan pertukaran zat, dan flagela sebagai motilitas (Hatakeyama, 2014).

Flagela berdiameter 30 nm dengan panjang 12 nm, sebagai alat gerak flagela tersusun atas 4 subunit yaitu tubuh basal, kait, filamen, dan selubung. Tubuh basal berfungsi dalam koordinasi sekresi protein, mendistribusikan protein ke seluruh bagian flagela dan mengatur arah rotasi flagela. Kait Flagela berfungsi sebagai pencegah polimerisasi, membentuk struktur, dan sebagai penghubung dengan badan basalnya. Filamen Flagela berfungsi sebagai motilitas bagi sel *Helicobacter pylori*. (Martínez *et al.*, 2016).

2.3. Patogenitas *Helicobacter pylori*

Epidemi yang disebabkan oleh *Helicobacter pylori* dapat terjadi karena sanitasi buruk dan vektor. Bakteri ini bermigrasi dari satu inang ke inang lainnya dengan cara transmisi oral-oral dan fekal-oral. Transmisi oral-oral terjadi melalui air liur dan fekal-oral melalui feses (Kao *et al.*, 2016).

Transmisi *Helicobacter pylori* dimulai dengan masuknya bakteri dari mulut tertelan menuju saluran pencernaan menggunakan flagela sebagai motilitas dengan mekanisme kemotaksis dan menempel di lapisan superfisial epitel lambung berkolonisasi. Bagian flagela mengespresikan protein struktural flgE dan fliD yang membentuk biofilm sehingga semakin sulit kolonisasi direduksi (Martínez *et al.*, 2016).

Lipopolisakarida *Helicobacter pylori* berperan dalam interaksi hidrofobik sel seperti perlekatan pada dinding permukaan sel pada saluran pencernaan inang. Semakin tinggi hidrofobisitasnya maka semakin besar potensinya mampu bertahan di lingkungan saluran pencernaan (Prescott *et al.*, 2016).

Helicobacter pylori dapat berubah dari bentuk heliks menjadi bentuk kokoid yang dapat menghindari sistem kekebalan tubuh (Cheok *et al.*, 2021). *Helicobacter pylori* memproduksi urease yang mengubah urea menjadi amonia dan karbon dioksida dimana amonia membantu menetralkan asam lambung yang mendukung pertumbuhan kolonisasinya (Kao *et al.*, 2016).

Urease dilepaskan oleh sitoplasma saat lisis bakteri, urea juga digunakan sebagai lapisan penyangga periplasma. Amonia bersifat toksik terhadap sel inang. Stimulasi dari respon reseptor sel epitel terhadap aktivitas pili mengaktifkan TLR4 dan TLR5 sebagai rekognisi imunitas, kemudian mensekresikan protein sitokin berupa interleukin-8 sebagai antiinflamasi terhadap respon CagA dan VacA yang dibawa oleh pili (Knorr *et al.*, 2019).

Pili mulai melakukan kontak terhadap sel epitel lambung melalui membran protein luar dengan menyuntikkan CagA dan VacA ke sel epitel melintasi membran sel epitel menuju sitoplasma (Takahashi-Kinametsu *et al.*, 2020). VacA berfungsi sebagai penguat adhesi pili ke bagian sel epitel sehingga mencegah pelepasan perlekatan antar sel terutama dari gerakan peristaltik usus (Kao *et al.*, 2016).

Toksitas VacA dapat menyebabkan pembentukan vakuola pada sitoplasma sel epitel sehingga menurunkan aktivitas proteolitik dan mengakibatkan penghambatan stimulasi proliferasi dan maturasi Sel T pada inang, dan merangsang produksi sitokin pro-inflamasi ke lokasi infeksi dan menyebabkan peradangan kronis. VacA dapat menyebabkan penurunan resistansi trans-epitel dan meningkatkan permeabilitas absorpsi nutrisi (Takahashi-Kanemitsu *et al.*, 2020).

Gastritis berawal dari peradangan Infeksi oleh *Helicobacter pylori* menyebabkan gangguan mukosa pada saluran pencernaan. Gastritis yang tidak mereda kemudian menjadi kronis akan memicu pembentukan ulkus yang diperberat gejalanya oleh toksin CagA dan VacA (Takashi-Kanemitsu *et al.*, 2020). Infeksi persisten menyebabkan transformasi neoplastik sel epitel dan limfosit menjadi sel kanker, kemudian disebut kanker lambung (Hatakeyama, 2014). Eradikasi infeksi persisten *Helicobacter pylori* berbasis antibiotik memiliki efek samping berupa resistansi antibiotik sehingga upaya solusi alternatif lainnya berupa penggunaan probiotik yang mengandung *strain Lactobacillus casei* (Saniee *et al.*, 2018).

2.4. Efektivitas *Lactobacillus casei* Menghambat Pertumbuhan *Helicobacter pylori*

Lactobacillus casei berdasarkan karakteristiknya memiliki efek menghambat pertumbuhan kolonisasi *Helicobacter pylori* pada saluran pencernaan sehingga dapat meredakan gejala gastritis dari infeksi persisten. *Strain Lactobacillus casei* menghambat pertumbuhan kolonisasi *Helicobacter pylori* dengan memproduksi asam laktat yang dapat menurunkan pH lingkungan dimana *Helicobacter pylori* merupakan bakteri yang bersifat alkalifilik (Liu *et al.*, 2021).

Terjadinya konkurensi antara *Lactobacillus casei* dan *Helicobacter pylori* terhadap ruang perlekatan permukaan bakteri. *Lactobacillus casei* memproduksi bakteriosin berupa laktosin dan *caseicin* yang berfungsi sebagai penghambat terhadap pertumbuhan *Helicobacter pylori* (Chauhan, 2020). Terjadinya persaingan kelengasan dimana *Helicobacter pylori* bersifat mikroaerofilik yang

membutuhkan oksigen pada proses respirasi sedangkan *Lactobacillus casei* bersifat anaerob fakultatif. *Lactobacillus casei* memproduksi senyawa volatil yang dapat memodulasi *quorum sensing* *Helicobacter pylori* sehingga menyebabkan penguraian biofilm serta transduksi sinyal dan penghambatan koordinasi respon sistem *autoinducer* *Helicobacter pylori* (Liu *et al.*, 2021).

Produksi bakteriosin oleh *Lactobacillus casei* merupakan bentuk adaptasi terhadap infeksi patogen *Helicobacter pylori*. Bakteriosin memiliki potensi sebagai molekul teurapeutik alternatif dari kasus resistensi antibiotik terhadap patogen (Chauhan, 2020). Bakteriosin dapat membentuk pori-pori pada membran sel *helicobacter pylori* sehingga menyebabkan lisis. Bakteriosin memiliki efek terhadap *proton motive force* (PMF) bakteri target. PMF adalah gradien elektrokimia pada membran sitoplasma yang berfungsi sebagai sintesis energi, menggabungkan ion dan metabolit lainnya. Permukaan sel bakteri bermuatan negeatif (anionik) menjadikan target bakteriosin yang bermuatan positif (kationik) (Lü *et al.*, 2014).

Bakteriosin berikatan dengan bagian luar membran sel negatif melalui reaksi elektrostatik kemudian mengubah permeabilitas membran sel bakteri negatif melalui berkurangnya gradien ion membran sel dan menyebabkan terhambatnya sintesis energi bakteri bermuatan negatif sehingga berakhir pada kematian sel (Lü *et al.*, 2014). Bakteriosin tidak memicu reaksi imun sehingga baik untuk digunakan sebagai agen antibakteri dengan tujuan terapeutik (Chauhan, 2020).

Terdapat dua bakteriosin yang diproduksi oleh *Lactobacillus casei* yaitu laktosin dan *caseicin*. Laktosin memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat

lebih dari 20 nm (Madigan *et al.*, 2015). *Caseicin* menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* melalui mekanisme gangguan integritas membran sel kemudian membentuk pori yang dapat menghambat enzim metabolik *Helicobacter pylori* dan menginduksi respon stres negatif berupa stress (Chauhan, 2020).

Sebagai agen probiotik saluran pencernaan, *Lactobacillus casei* harus mampu bertahan dalam merespon beberapa tekanan diantaranya derajat keasaman (pH), garam empedu, ROS, adhesi, bakteriosin (Liu *et al.*, 2021). Derajat keasaman (pH) merupakan faktor yang dapat merusak membran sel melalui osmosis sehingga dapat menyebabkan kematian sel. Mikroba probiotik yang hidup di lambung harus dapat bertahan pada pH 3 (Keikha *et al.*, 2021). Pada saluran pencernaan, garam empedu disekresi dengan kadar 0.3%. Garam empedu dapat mengemulsi lipid, sementara membran sel *Lactobacillus casei* tersusun dari lipid (Murray *et al.*, 2016).

Garam empedu dapat masuk ke membran sitoplasma sehingga menyebabkan kematian sel (Prescott *et al.*, 2016). Sebagai adaptasi, *Lactobacillus casei* memproduksi enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) yang mampu menghidrolisis garam empedu. Tekanan oksidatif *Reactive Oxygen Species* (ROS) berupa hidrogen peroksida (H_2O_2), superoksida (O_2) dan radikal hidroksil (OH) dapat menyebabkan kerusakan protein, lipid dan nukleotida sehingga menyebabkan terhentinya pertumbuhan sel. *Lactobacillus casei* mensintesis enzim katalase untuk mendegradasi H_2O_2 , kandungan Mn yang tinggi pada *Lactobacillus casei* sebagai pemulung O_2 yang efisien (Ianniello *et al.*, 2016).

Dinding sel terdapat asam teikoat yang berfungsi sebagai perlekatan pada sel epitel. Kemampuan adhesi *Lactobacillus casei* pada permukaan sel mukosa melalui produksi asam teikoat (Madigan *et al.*, 2015). Mekanisme antibakteri pada bakteriosin terhadap sel target berupa melibatkan selubung sel dimana terjadinya penghambatan sintesis lipopolisakarida atau peptidoglikan, pembentukan pori-pori dan adanya perubahan permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan kematian sel target (Murray *et al.*, 2016).

Telah banyak penelitian yang dilakukan untuk meningkatkan efektivitas probiotik pada sebuah produk konsumtif dan menjadikan genus *Lactobacillus* sebagai opsi mikroba paling efektif sebagai agen probiotik (Champagne, *et al.*, 2018). Beberapa studi memperoleh hasil yang optimal dalam pemanfaatan *Lactobacillus casei* sebagai agen bakteri asam laktat pada produk susu (Pimentel *et al.*, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Ullah *et al.*, (2017) bahwa isolat probiotik *Lactobacillus casei* pada produk susu mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui produksi senyawa antimikroba.

Lactobacillus casei dapat menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* dengan memproduksi asam laktat untuk menurunkan pH lingkungan, mensekresikan bakteriosin sebagai antibiotik, menghambat aktivitas urease, serta memodulasi sistem imun terhadap peradangan yang diinduksi oleh *Helicobacter pylori* (Yu *et al.*, 2023).

Lactobacillus casei merupakan salah satu implemmentasi bioteknologi klinis seperti produk konsumtif probiotik susu dan keju. Semakin tinggi kerapatan sel, maka semakin tinggi pula efek hambatan yang dihasilkan (Champagne, *et al.*, 2018).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Oktober 2024 hingga Desember 2024 di Laboratorium Farmasi STIKes Senior Medan.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu laminar air flow, mikroskop, inkubator, autoklaf, mikropipet, cawan petri, jangka sorong, tabung reaksi, pinset, kaca objek, jarum ose dan tabung reaksi.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu suspensi *Lactobacillus casei*, suspensi *Helicobacter pylori*, Muller-Hinton Agar (MHA), kertas cakram, kertas cakram antibiotik, kristal violet, lugol, alkohol 70%, safranin dan spiritus.

3.3. Sampel Penelitian

Sampel penelitian yaitu kultur *Lactobacillus casei* 10^5 CFU/ml sebanyak 10 mL, *Lactobacillus casei* 10^8 CFU/ml sebanyak 10 mL dan *Helicobacter pylori* 10^8 CFU/mL sebanyak 10 mL diperoleh dari koleksi Laboratorium Farmasi STIKes Senior Medan.

3.4. Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis *eksperimental laboratories* dengan metode difusi cakram Kirby Bauer. Analisis data secara deskriptif dan statistik menggunakan data primer hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk pada pengujian difusi cakram efektivitas *Lactobacillus casei* menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* dan pengamatan sel bakteri mikroskopik pada skala 1000x pada pewarnaan Gram bakteri *Helicobacter pylori*.

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Preparasi Alat dan Bahan

Sebelum pengujian dimulai, membersihkan alat seperti tabung reaksi, cawan petri, pipet, dan jarum ose menggunakan air dan deterjen. Setelah itu, alat mengeringkan dan membungkus menggunakan kertas steril, kemudian mensterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15-20 menit. Mensterilkan mikropipet menggunakan alkohol 70% sebelum digunakan, sedangkan tip disediakan dalam kemasan steril yang siap pakai. Untuk bahan yang digunakan, menyiapkan akuades dengan memanaskan akuades dalam botol kaca tahan panas, lalu mensterilkan pada autoklaf pada suhu 121°C selama dengan tekanan 15 psi 15-20 menit.

Mensterilkan permukaan laminar air flow terlebih dahulu sebelum melakukan aktivitas pengujian menggunakan alkohol dengan konsentrasi 70%, dan menyalakan lampu UV selama 30 menit. Hal ini dilakukan untuk menjaga area pengerjaan sehingga bebas dari kontaminasi. Setelah sterilisasi, menyimpan alat-alat berupa cawan petri, tabung reaksi, pipet, jarum ose, dan kaca objek di tempat yang bersih dan tertutup hingga digunakan.

Menyimpan bubuk media MHA dan bahan pewarnaan Gram yang akan digunakan di inkubator untuk mencegah kontaminasi sebelum digunakan dalam eksperimen. Menyimpan bahan berupa akuades di tempat aseptis untuk menjaga dari kontaminasi hingga digunakan. Penyimpanan dilakukan secara aseptis agar terhindar dari kontaminasi yang dapat mengganggu proses pengujian difusi cakram terhadap pertumbuhan *Helicobacter pylori* pada media yang diinokulasi *Lactobacillus casei*.

3.5.2. Preparasi Media Uji

Preparasi media uji dilakukan dengan menimbang bubuk MHA kemudian melarutkan bubuk MHA sebanyak 38gr kedalam 1L akuades yang telah dipanaskan, kemudian mengaduk hingga homogen dan mensterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi, menuangkan larutan MHA ke dalam cawan petri di bawah kondisi aseptik dalam laminar air flow dan membiarkan hingga mengeras pada suhu kamar.

3.5.3. Subkultur *Helicobacter pylori*

Subkultur *Helicobacter pylori* dilakukan dengan menginokulasikan suspensi *Helicobacter pylori* ke media MHA menggunakan teknik *streaking*. Setelah menginokulasi, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C dalam kondisi anaerobik selama 24 jam. Koloni yang terbentuk setelah inkubasi kemudian digunakan untuk uji difusi cakram dan pewarnaan Gram.

3.5.4. Difusi Cakram

Cakram disk direndam pada suspensi *Lactobacillus casei* kemudian meletakkannya diatas permukaan media MHA yang telah mengeras, cakram disk antibiotik berisi amoksisilin trihidrat sebagai kontrol positif dengan melarutkan menggunakan buffer fosfat dan cakram disk kosong digunakan sebagai kontrol negatif diletakkan secara berjarak dengan empat titik penempatan pada satu cawan petri yang telah diinokulasikan *Helicobacter pylori*. Kemudian meletakkan cawan petri pada inkubator dengan suhu 37°C dalam kondisi mikroaerofilik selama 48 jam. Setelah masa inkubasi selama, maka terbentuk zona bening di sekitar cakram disk yang dapat diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui efektivitas *Lactobacillus casei* dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*.

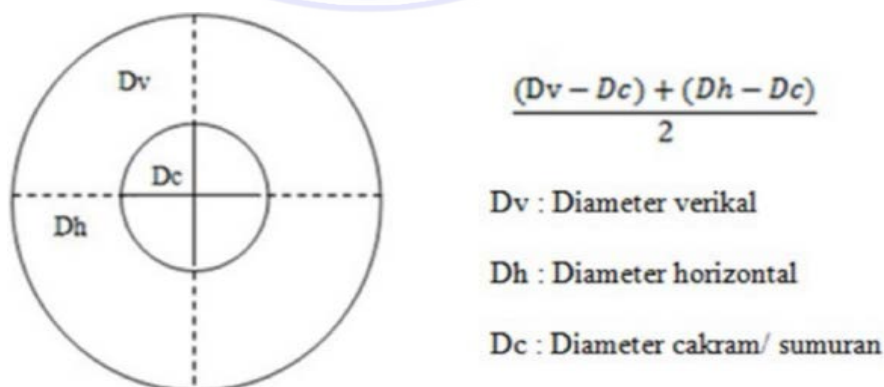
3.5.5. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram perlu dilakukan untuk mengkonfirmasi bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif. Pewarnaan Gram dilakukan dengan mengambil koloni *Helicobacter pylori* pada media cawan petri yang telah diukur zona hambat, kemudian meletakkan pada kaca objek, lalu meneteskan pewarna kristal violet dan mendiamkan selama satu menit kemudian membilas menggunakan air mengalir dengan perlahan. Meneteskan kembali larutan lugol kemudian mendiamkannya selama satu menit dan meneteskan lugol dan mendiamkan selama satu menit kemudian bilas. Meneteskan alkohol 70% selama 15-20 detik kemudian segera membilas. Kemudian meneteskan pewarna safranin lalu mendiamkan selama satu menit kemudian membilas dan mengeringkannya. Pengamatan dilakukan pada mikroskop dengan perbesaran 1000x.

3.6. Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan data primer hasil zona hambat difusi cakram dan pewarnaan Gram dengan metode deskriptif. Pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong dengan rumus sebagai berikut :

Gambar 3. Pengukuran diameter zonahambat



Sumber : Kumalasari *etal.*, 2024

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Lactobacillus casei memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* melalui produksi bakteriosin dan asam laktat. Semakin tinggi kerapatan sel *Lactobacillus casei*, maka semakin besar efek hambatan pertumbuhan yang dihasilkan. Terdapat perbedaan signifikan dalam pertumbuhan *Helicobacter pylori* pada setiap perlakuan. Diantara perlakuan *Lactobacillus casei*, pada kerapatan 10^8 CFU/mL secara signifikan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* dibanding *Lactobacillus casei* dengan kerapatan 10^5 CFU/mL.

5.2. Saran

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu penggunaan hanya satu jenis probiotik dan jumlah sampel yang terbatas. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengamati tingkat kerapatan sel yang efektif *Lactobacillus casei* dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*, dapat melalui kombinasi dengan antibiotik serta jenis probiotik lain yang berpotensi lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori*.

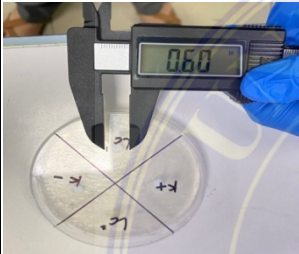
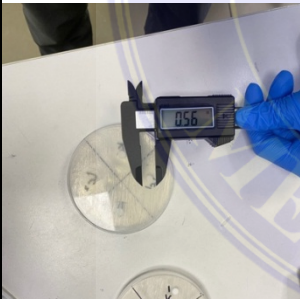
DAFTAR PUSTAKA

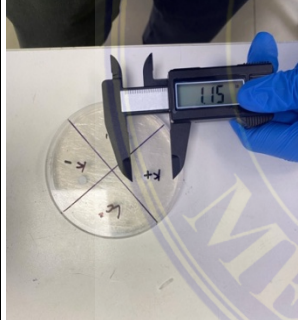
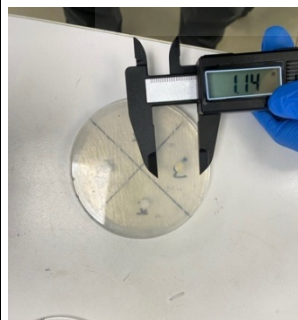
- Bujnakova, D., & Strakova, E. 2017. Safety, probiotic and technological properties of *Lactobacilli* isolated from unpasteurised ovine and caprine cheeses. *BMC gastroenterology* 67:813-826.
- Champagne, C. P., Gomes da Cruz, A., & Daga, M. 2018. Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods. *Current opinion in food science* 32:160-166.
- Chauhan, V. 2020. Bacteriocin: A potent therapeutic weapon used as an alternative to antibiotics. *Biomedical Science and Engineering* 6(1):39-40.
- Cheok, Y. Y., Lee, C. Y. Q., Cheong, H. C., Vadivelu, J., Looi, C. Y., Abdullah, S., & Wong, W. F. 2021. An Overview of *Helicobacter pylori* Survival Tactics in the Hostile Human Stomach Environment. *Department of medical microbiology* 9(12):2502.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth International Supplement. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute 100(24):30-31.
- Hatakeyama, M. 2014. *Helicobacter pylori* CagA and gastric cancer: a paradigm for hit-and-run carcinogenesis. *Cell Host & Microbe* 15(3):306-316.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. 2014. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Gastroenterology* 11:506-514.
- Hu Y, Zhang M, Lu B, Dai J. 2016. *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance, a continuing and intractable problem. *Helicobacter* 21(5):349-63.
- Ianniello RG, Zotta T., Matera A., Genovese F., Parente E., Ricciardi A. 2016. Investigation of Factors Affecting Aerobic and Respiratory Growth in the Oxygen-Tolerant Strain *Lactobacillus casei* N87. *Plos One* 11(11):1371.
- Kao CY, Sheu BS, Wu JJ. 2016. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomedical Journal* 39(1):14-23.
- Keikha, M., & Karbalaei, M. 2021. Probiotics as the live microscopic fighters against *Helicobacter pylori* gastric infections. *BMC gastro enterology* 21:388.
- Knorr, J., Ricci, V., Hatakeyama, M., & Backert, S. 2019. Classification of *Helicobacter pylori* Virulence Factors: Is CagA a Toxin or Not?. *Biophysical journal* 27(9):731-738.
- Kumalasari, S., Fitriyati, L., Pudji Rahayu, T., & Wakhidatul Kiromah, N. 2024. Antibacterial Activity Test of the Combination of Methanol Extract of Arumanis Mango Leaves (*Mangifera indica* L) and Taro Leaves (*Colocasia esculenta* L) on *Escherichia coli* Bacteria Causes of Diarrhea Diseases V. *Jurnal pijar MIPA* 19(1).
- Liu, Y., Li, Y., Yu, X., Yu, L., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. 2021. Physiological Characteristics of *Lactobacillus casei* Strains and Their Alleviation Effects against Inflammatory Bowel Disease. *Food Microbiology and Biotechnology* 31(1):32-103.

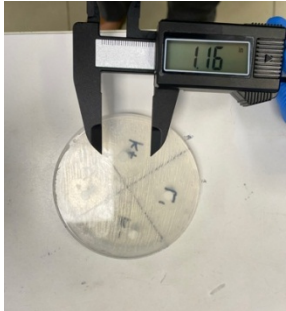
- Luo Q, Liu N, Pu S, Zhuang Z, Gong H, Zhang D. 2023. A review on the research progress on non-pharmacological therapy of *Helicobacter pylori*. Department of Gastroenterology 14:1134.
- Lü, X., Yi, L., Dang, J., Dang, Y., & Liu, B. 2014. Purification of novel bacteriocin produced by *Lactobacillus coryniformis* MXJ 32 for inhibiting bacterial food born pathogens including antibiotic-resistant microorganisms. Food Control 46:264-271.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H., & Stahl, D.A. 2015. *Brock Biology of Microorganisms*. 14th ed. Pearson.
- Martínez LE, Hardcastle JM, Wang J, Pincus Z, Tsang J, Hoover TR. 2016. *Helicobacter pylori* strains vary cell shape and flagellum number to maintain robust motility in viscous environments. Molecular microbiology 99(1):88-110.
- Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A. 2016. *Medical Microbiology*. 8th ed. Elsevier.
- Pimentel, T. C., Brandão, L. R., de Oliveira, M. P., da Costa, W. K. A., & Magnani, M. 2021. Health benefits and technological effects of *Lactobacillus casei*-01: An overview of the scientific literature. Trends in Food Science & Technology 114:722-737.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., & Klein, D.A. 2016. *Microbiology*. 10th ed. McGraw-Hill Education.
- Priadi, Bi, G., Setiyoningrum, F., Afiati, F., Irzaldi, R., & Lisdiyanti, P. 2020. Studi in vitro bakteri asam laktat kandidat probiotik dari makanan fermentasi Indonesia. Pusat penelitian bioteknologi lembaga ilmu pengetahuan Indonesia 31(1):21-28.
- Saniee P, Hosseini F, Kadkhodaei S, Siavoshi F, Khalili-Samani S. 2018. *Helicobacter pylori* multidrug resistance due to misuse of antibiotics in Iran. Arch Iran Med 21:283-288.
- Takahashi-Kanemitsu A, Knight CT, Hatakeyama M. 2020. Molecular anatomy and pathogenic actions of *Helicobacter pylori* CagA that underpin gastric carcinoma genesis. Cellular and molecular Immunology 17(1):50-63.
- Ullah, N., Wang, X., Wu, J., Guo, Y., Ge, H., Li, T., Feng, X. 2017. Purification and primary characterization of a novel bacteriocin, LiN333, from *Lactobacillus casei*, an isolate from a Chinese fermented food. Food science and Technology 84:867- 875.
- Yu, Z., Cao, M., Peng, J., Wu, D., Li, S., Wu, C., Qing, L., Zhang, A., Wang, W., Huang, M., & Zhao, J. 2023. *Lactobacillus casei* T1 attenuates *Helicobacter pylori* -induced inflammation and gut microbiota disorders in mice. BMC microbiology 23:39.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. International journal of systematic and evolutionary microbiology 70:4.

LAMPIRAN

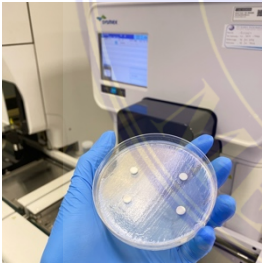
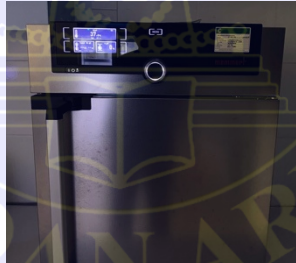
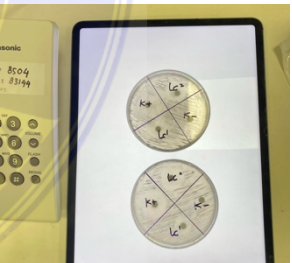
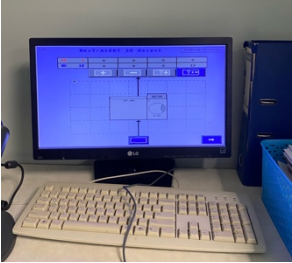
Lampiran 1. Perhitungan Zona Hambat

Pengukuran Zona Hambat	Perhitungan	Perlakuan Sampel
	$0.55 \text{ inch} = 13.97 \text{ mm}$ $13.97 - 4 = 9.97 \text{ mm}$	<i>Lactobacillus casei</i> 10^5 CFU/mL Pengulangan 1
	$0.60 \text{ inch} = 15.24 \text{ mm}$ $15.24 - 4 = 11.24 \text{ mm}$	<i>Lactobacillus casei</i> 10^5 CFU/mL Pengulangan 2
	$0.56 \text{ inch} = 14.22 \text{ mm}$ $14.22 - 4 = 10.22$	<i>Lactobacillus casei</i> 10^5 CFU/mL Pengulangan 3
	$0.88 \text{ inch} = 22.35 \text{ mm}$ $22.35 - 4 = 18.35 \text{ mm}$	<i>Lactobacillus casei</i> 10^8 CFU/mL Pengulangan 1

	0.92 inch = 23.37 mm $23.37 - 4 = 19.37$ mm	<i>Lactobacillus casei</i> 10^8 CFU/mL Pengulangan 2
	0.87 inch = 22.10 mm $22.10 - 4 = 18.10$ mm	<i>Lactobacillus casei</i> 10^8 CFU/mL Pengulangan 3
	1.15 inch = 29.21 mm $29.21 - 4 = 25.21$ mm	Kontrol positif Pengulangan 1
	1.14 inch = 28.96 mm $28.96 - 4 = 24.96$ mm	Kontrol positif Pengulangan 2

	1.16 inch = 29.46 mm $29.46 - 4 = 25.46$ mm	Kontrol positif Pengulangan 3
---	--	---

Lampiran 2. Aktivitas Penelitian

		
Sterilisasi alat dan bahan pada autoklaf	Pembuatan media nutrient pertumbuhan bakteri	Sampel kultur probiotik dan uji patogen
		
Subkultur patogen dan kertas cakram	Inkubasi cawan petri	Pengamatan zona hambat
		
Pewarnaan Gram negatif	Pengamatan mikroskopis	Pengolahan limbah B3

Lampiran 3. Analisis parametrik Anova dan LSD

Analisis statistic menggunakan ANOVA satu arah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan dalam penelitian ini. Nilai Fhitung = 2087,2, yang jauh lebih besar dibandingkan Ftabel pada tingkat signifikansi 5% (4,066) dan 1% (7,591), mengindikasikan bahwa perbedaan yang diamati dalam zona hambat antara kelompok perlakuan bukan terjadi secara acak, melainkan dipengaruhi oleh perbedaan perlakuan yang diberikan. Karena Fhitung > Ftabel, maka hipotesis nol (H_0) ditolak, yang berarti terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan *Lactobacillus casei* dengan berbagai konsentrasi serta control positif dan negatif.

SOURCE OF VARIANCE	df	ANOVA		F	Signifikan	F TABEL	
		SS	MS			F. 05	F. 01
4 Treatment	3	1043,6	347,9	2087,2	**	4,066	7,591
Error	8	1,3	0,17				
12 Total	11						

Selanjutnya, uji *Least Significant Difference* (LSD) pada taraf 5% dihitung untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan secara spesifik. Nilai LSD 0,8 menunjukkan bahwa perbedaan rata-rata zona hambat antara dua kelompok perlakuan dianggap signifikan jika melebihi 0,8 mm. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi *Lactobacillus casei* yang lebih tinggi menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah atau tanpa perlakuan.

LSD 0.05 =	T 0.05(8)	SQRT (2MSE/Rep)
	2,306	0,33
	0,8	