

RESISTENSI ANTIBIOTIK AMOKSISILIN PADA STRAIN *Lactobacillus plantarum* B1765 SEBAGAI KANDIDAT KULTUR PROBIOTIK

ANTIBIOTIC AMOXICILLIN RESISTANCE TO STRAIN *Lactobacillus plantarum* B1765 AS A CANDIDATE OF PROBIOTIC CULTURE

Wijo Kongko Kartika Yudha Sujadmiko* dan Prima Retno Wikandari
Departement of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
State University of Surabaya

Jl. Ketintang, Surabaya (60231), telp: 031-8298761

*Corresponding author, e-mail: wijokongko29@gmail.com

Abstrak. Probiotik merupakan bakteri yang mampu memberikan pengaruh baik terhadap kesehatan dengan membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan inangnya. Konsumsi antibiotika secara oral dapat mengancam kelestarian hidup probiotik di dalam usus. Penelitian ini bertujuan mengetahui tingkat resistensi *Lactobacillus plantarum* B1765 sebagai kandidat kultur probiotik terhadap antibiotik jenis amoksisilin klavulanat generik dengan metode difusi kertas cakram. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh data bahwa strain *L. plantarum* B1765 resisten pada konsentrasi amoksisilin 50ppm (v/v), bersifat intermediet pada 125/250 ppm (v/v), dan sensitif terhadap 500 ppm (v/v) amoksisilin dengan diameter zona hambat yang terbentuk secara berurutan yaitu 0 mm; 12.8 mm; 18.0mm; dan 24,9mm. Kemampuan resistensi *L. plantarum* B1765 terhadap antibiotik amoksisilin klavulanat generik ditunjukkan hanya sebatas konsentrasi 50ppm (v/v).

Kata kunci: Probiotik, Resistensi, Amoksisilin, *Lactobacillus plantarum* B1765

Abstract. Probiotics are bacteria that give good influence on health by forming colonization in digestive tract of its host. Consumption of antibiotic orally can intimidate survival of the probiotics in the gut. This study aims to determine the level of resistance *Lactobacillus plantarum* B1765 as a candidate probiotic cultures to antibiotics type of amoxycillin clavulanate generic with paper disc diffusion method. Based on the results of study mentioned that *L. plantarum* B1765 strains resistant to amoxycillin concentration of 50ppm (v/v), are intermediates at 125/250 ppm (v/v), and are sensitive to 500 ppm (v/v) amoxycillin with a diameter of inhibition zone formed sequentially is 0 mm; 12.8 mm; 18.0mm; and 24,9mm. The ability of the resistance from *L. plantarum* B1765 to the antibiotic of amoxycillin clavulanate generic are shown limited only to concentration of 50ppm (v/v).

Keywords: Probiotic, Resistance, Amoxycillin, *Lactobacillus plantarum* B1765

PENDAHULUAN

Probiotik merupakan bakteri yang dapat memberikan pengaruh baik terhadap kesehatan inangnya apabila mampu membentuk kolonisasi pada saluran usus dan memiliki adherensi kuat (penempelan) pada permukaan epitel saluran usus (mukosa) [1]. Kemampuan probiotik untuk resisten terhadap senyawa antibiotika perlu dipertimbangkan untuk menjaga kelestarian hidupnya sehingga tercapai keseimbangan mikroflora usus inangnya [2][3]. Mekanisme kerja antibiotik yaitu membunuh sel bakteri (bakterisidal) dan menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) salah satunya dengan

penghambatan sintesis dinding sel bakteri sehingga dinding sel menjadi rapuh dan terjadi lisis sel [4]. Amoksisilin merupakan antibiotik berspektrum luas karena mampu mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram negatif maupun Gram positif. Amoksisilin bersifat bakteriolitik, mengandung senyawa β -laktam, dan berperan sebagai inhibitor sintesis dinding sel. Antibiotik ini selain memiliki harga yang relatif murah juga cenderung diresepkan tenaga medis kepada pasien pada pusat layanan kesehatan dalam upaya pengobatan [5][6][7].

Lactobacillus plantarum B1765 sebagai isolat bakteri asam laktat (BAL) dari fermentasi

bekasam ikan bandeng dapat dipertimbangkan sebagai kandidat probiotik karena diketahui mampu menghasilkan senyawa peptida bioaktif antihipertensi [8]. Maka perlu diteliti lebih lanjut terkait ketahanan isolat terhadap aktivitas antibiotik β -laktam yaitu amoksisilin klavulanat generik dalam sediaan tablet.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari *Laminar air flow cabinet*, autoklaf, inkubator, *vortex*, stirer, cawan petri, kertas Whatman no. 42 diameter 6mm, penjepit besi, pembakar spiritus, peralatan gelas.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari strain *L.plantarum* B1765 (koleksi pribadi), sediaan tablet Amoksisilin Klavulanat generik (Kimia Farma), MRS Broth (Oxoid), NaOH 0.1M (Merck), CaCO₃ 1% (Brataco), NaCl 0.85% (Merck), aquademineral (Brataco), Agar (Swallow).

PROSEDUR PENELITIAN

Pengujian resistensi antibiotik

Pengujian ketahanan strain *L.plantarum* B1765 terhadap antibiotik dilakukan dengan metode difusi cakram kertas (*paper disk diffusion*) yang dimodifikasi dari prosedur standar *National Commitee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS). Jenis antibiotik yang digunakan yaitu amoksisilin klavulanat generik. Jumlah strain uji yang diinokulasikan sebanyak 10% (*v/v*) pada campuran media yang terdiri dari MRS broth, CaCO₃ 1% (*b/v*), dan Agar 1,5% (*b/v*) dengan menggunakan metode *pour plate* (cawan tuang). Jumlah konsentrasi amoksisilin yang diberikan pada kertas cakram berdiameter 6mm adalah 500; 250; 125; 50 dalam satuan *ppm*. Pembuatan larutan teknis amoksisilin untuk pengujian dilakukan dengan dilarutkan menggunakan pelarut NaOH 0,1N. Kertas cakram direndam di dalam larutan amoksisilin pada setiap konsentrasi uji selama 30 menit dan selanjutnya ditempelkan secara aseptis pada permukaan media padat tersuspensi strain uji. Kemudian di inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Resistensi antibiotik didasarkan terhadap ukuran diameter daerah hambatan yaitu daerah yang tidak di tumbuhi strain uji. Ketahanan strain uji terhadap antibiotik digolongkan ke dalam tiga kriteria sesuai dengan

NCCLS, yaitu resisten apabila besarnya zona hambatan 0–10 mm, intermediate (I) apabila besarnya zona hambatan 11–19 mm, dan tidak resisten atau sensitif apabila besarnya zona hambatan di atas 20 mm [9].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian resistensi antibiotik

Dewasa ini penggunaan sediaan antibiotik cenderung meningkat dalam bidang pengobatan penyakit. Konsentrasi antibiotik yang cenderung tinggi dapat menyebabkan aktivitas bakterisida dan bakteristatik dari antibiotik menjadi semakin tinggi dalam mempengaruhi jumlah sel bakteri [10]. Amoksisilin merupakan jenis antibiotika berspektrum luas (*broad spectrum*) yaitu mampu menghambat atau membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif [11]. Ketahanan bakteri probiotik terhadap sifat bakterisidal dan bakteristatik dari antibiotik perlu dipertimbangkan untuk menjaga dominasi jumlah populasi terhadap bakteri patogen pada saluran usus sehingga keseimbangan mikroflora usus inangnya tetap terpenuhi [2][3].

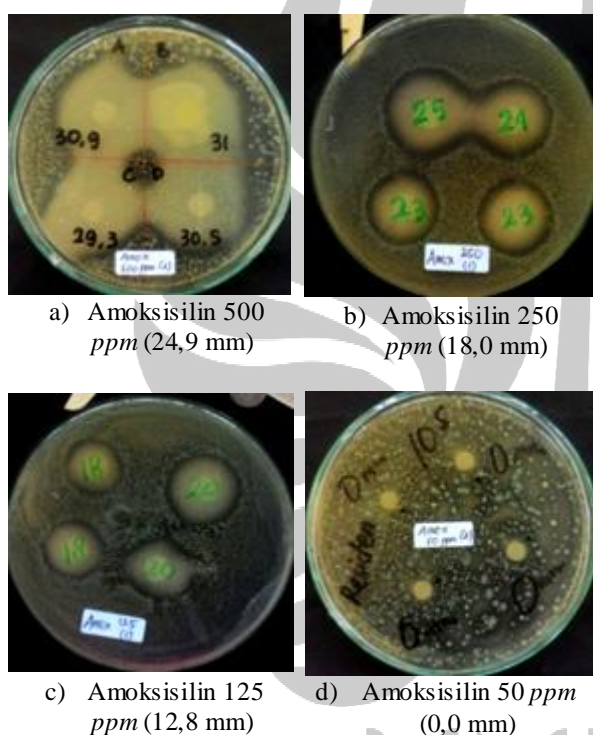
Jenis amoksisilin yang digunakan pada penelitian ini adalah amoksisilin klavulanat generik dalam sediaan tablet dengan konsentrasi uji (*v/v*) sebesar: 500ppm; 250ppm; 125ppm; dan 50ppm. Tingkat resistensi bakteri uji terhadap amoksisilin ditentukan berdasarkan ukuran diameter zona hambat atau daerah yang tidak mampu ditumbuhi bakteri *L. plantarum* B1765 disekitar kertas cakram. Semakin kecil diameter zona hambat maka kemampuan resisten bakteri semakin tinggi terhadap amoksisilin. Hasil pengujian resistensi strain *L.plantarum* B1765 terhadap aktivitas antibiotik amoksisilin disajikan pada Tabel 1.

Tabel.1 Hasil uji resistensi terhadap amoksisilin

Kultur <i>L.plantarum</i> B1765 umur 20 jam		
Konsentrasi amoksisilin (ppm)	Diameter zona hambat (mm)	Kategori*
50	0,0	Resisten
125	12,8	Intermediet
250	18,0	Intermediet
500	24,9	Tidak Resisten

* interpretasi resistensi terhadap antibiotik berdasarkan NCCLS (2005): ≤ 10 mm resisten, 11–19 mm intermediet, ≥ 20 tidak resisten.

Data hasil penelitian pada Tabel. 1 menunjukkan bahwa strain *L.plantarum* B1765 bersifat resisten terhadap konsentrasi amoksisilin klavulanat 50ppm dengan diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 0,0 mm. Kemudian bersifat intermediet pada konsentrasi amoksisilin sebesar 125ppm dan 250ppm. Bakteri uji tidak mampu resisten pada konsentrasi amoksisilin 500ppm dan diameter hambat terbentuk sebesar 24,9mm. Konsentrasi amoksisilin yang semakin tinggi menyebabkan sifat resistensi strain *L.plantarum* B1765 semakin rendah dan menjadi tidak resisten. Zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi antibiotik uji dapat ditunjukkan dengan Gambar 1.



Gambar 1. Zona hambat amoksisilin terhadap bakteri uji melalui difusi cakram

Pada beberapa bakteri yang resisten terhadap aktivitas antimikrobia dari zat antibiotik dapat disebabkan adanya faktor intrinsik yaitu bakteri mampu menghasilkan enzim inaktivasi senyawa antibiotik [10][12]. Amoksisilin mengandung sejumlah senyawa β -laktam sebagai komponen bakterisidal yang bersifat membunuh sel bakteri bagi yang memiliki respon sensitif terhadapnya [5]. Probiotik asal strain BAL diketahui mampu menghasilkan enzim β -laktamase yang berfungsi mendegradasi senyawa β -laktam sehingga aktivitas bakterisidal hilang dan mendukung

bakteri untuk resisten. Kerentanan amoksisilin terhadap aktivitas degradasi enzim β -laktamase menyebabkan pembuatan sediaan antibiotik ini cenderung dikombinasikan dengan asam klavulanat yang difungsikan sebagai inhibitor enzim β -laktamase sehingga menjaga aktivitas bakterisidal tetap tinggi [12]. Adanya bakteri lain yang rentan terhadap aktivitas bakterisidal dari komponen senyawa amoksisilin kemungkinan disebabkan bakteri tidak mampu menghasilkan enzim β -laktamase sehingga menjadi tidak resisten.

Adapun dinding sel BAL dapat menjadi pertahanan kedua apabila enzim inaktivasi yang disekresikan bakteri tidak memampuni untuk menghambat komponen antibiotik dalam konsentrasi cukup tinggi. Struktur dinding sel BAL memiliki ketebalan yang lebih besar dibandingkan bakteri yang rentan antibiotik. Dinding sel BAL tersusun dari beberapa lapisan peptidoglikan yang berfungsi untuk sistem permeabilitas membran plasma, memelihara integritas dan bentuk sel, menjembatani interaksi bakteri dengan kelangsungan abiotik dan menghadapi infeksi bakteriofag. BAL akan menurunkan permeabilitas membran sehingga memungkinkan komponen antibiotik tidak sampai masuk ke dalam sitoplasma sel. Hali ini akan mencegah sifat bakterisidal dari antibiotik untuk merusak komponen metabolisme sel dan bakteri terhindar dari kematian sel. Ketebalan lapisan peptidoglikan menentukan ketahanan bakteri terhadap antibiotik dimana ketebalan yang semakin besar maka sistem permeabilitas membran semakin ketat dalam mencegah insersi komponen antibiotik melewati membran sel sehingga mendukung kecenderungan BAL menjadi resisten terhadap antibiotik [13][14].

Kelurahan BAL dibandingkan bakteri lain yang sensitif terhadap antibiotik β -laktam seperti amoksisilin disebabkan karena memiliki faktor intrinsik yang mendukung dalam perlindungan sel dari komponen antibiotik yang bersifat bakterisidal bagi kelangsungan hidup bakteri. Beberapa penelitian terkait mendukung kemampuan resistensi isolat *L.plantarum* asal produk lainnya terhadap antibiotik β -laktam yaitu ketujuh isolat *L.plantarum* asal mandai menunjukkan tingkat resistensi cukup tinggi terhadap antibiotik amoksisilin [15]. Kemudian strain *L.plantarum* TN635 dan T600 juga memiliki resistensi tinggi terhadap antibiotik golongan β -laktam yaitu jenis penisilin G [7]. Isolat *L.plantarum* CCM 7039 asal fermentasi sayuran resisten terhadap antibiotik golongan

β -laktam jenis netilmisin, gentamisin, cefotaxime dan cefuroxime [16]. Adapun strain *L. plantarum* BG24 asal fermentasi sereal Boza menunjukkan resistensi tinggi terhadap hampir semua antibiotik golongan β -laktam yaitu; penisilin, ampisilin, cefamandole, vankomisin, azlosilin, piperasilin, oxasilin, kecuali sensitif terhadap amoksisilin [17].

Pada penelitian ini diduga bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 resisten terhadap amoksisilin pada konsentrasi 50ppm karena mampu menghasilkan enzim degralitik yaitu β -laktamase yang berfungsi menghambat efek bakterisidal dari β -laktam dan permeabilitas dinding sel bakteri bekerja dengan optimal untuk mencegah komponen antibiotik masuk menebus membran sel. Adapun kemungkinan bakteri *L. plantarum* B1765 menjadi tidak resisten pada amoksisilin 500ppm disebabkan karena jumlah konsentrasi amoksisilin yang cukup tinggi dan kandungan klavulanat sebagai inhibitor enzim β -laktamase juga meningkat sehingga produksi enzim β -laktamase tidak setara dengan peningkatan asam klavulanat akibatnya bakteri tidak memiliki mekanisme pertahanan terhadap sifat bakterisidal dari β -laktam. Hal ini juga berakibat pada lemahnya permeabilitas dinding sel karena tingginya konsentrasi komponen antibiotik yang berinsersi ke dalam sel sehingga tidak memungkinkan lapisan peptidoglikan dinding sel bertahan dari kerusakan yang disebabkan mekanisme penghambatan sintesis dinding sel dari amoksisilin.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Isolat *Lactobacillus plantarum* B1765 asal bekasam bandeng menunjukkan sifat resisten terhadap sediaan tablet antibiotik amoksisilin klavulanat generik pada konsentrasi 50 ppm dan cenderung bersifat sensitif (tidak resisten) pada konsentrasi amoksisilin sebesar 500 ppm.

Saran

Perlu dilakukan pengujian terkait perbandingan kemampuan antagonistik terhadap mikroba patogen antara *Lactobacillus plantarum* B1765 dan zat antibiotik untuk mengetahui seberapa tinggi kemampuan dalam menggantikan fungsi antibiotik yang dinilai kurang aman terhadap kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Maunatin, A. dan Khanifa. 2012. Uji Potensi Probiotik *Lactobacillus plantarum* secara *In vitro*. *Alchemy*, 2 (1): 26–34
2. Tensiska. 2008. Probiotik dan Prebiotik sebagai Pangan Fungsional. *Skripsi*. Bandung: Universitas Padjadjaran
3. Korhonen, Jenni. 2010. Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria. *Dissertation*. Kuopio: University of Eastern Finland
4. Utami, E.R. 2012. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. *Jurnal Sainstis*, 1(1): 124–138
5. McEvoy, G.K., Miller, J.L., Shick, J., & Milikan, E.D. 2002. *AHFS Drug Information*. Washington DC: American Society of Health
6. Harianto, Sabarijah, W., dan Transitawuri, F. 2006. Perbandingan Mutu dan Harga Tablet Amoksisilin 500 mg Generik dengan Non Generik yang Beredar di Pasaran. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 3(3): 127–142
7. Bejar, W., Khemakhem, A.F., Smaoui, S., Makni, M., Fahat, M.B., Abdelmalek, B., Mellouli, L., Maguin, E., Bejar, S., & Chouayekh, H. 2011. Selection of *Lactobacillus plantarum* TN627 as a New Probiotic Candidate Based on *In vitro* Functional Properties. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 16: 1115–1123
8. Wikandari, P.R. 2011. Potensi Bakteri Asam Laktat Indigenous sebagai Penghasil Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitor pada Fermentasi Bekasam. *Disertasi*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. Washington DC: American Society for Microbiology
10. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Nomor 2406/MENKES/PER/XII/2011. Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik.
11. Sulistyaningsih. 2007. Pengujian Potensi Sediaan Injeksi Kering Amoksisilin Dalam Aqua Pro Injeksi pada Variasi Suhu Penyimpanan dan Konsentrasi. *Laporan Penelitian Mandiri*. Bandung: Universitas Padjadjaran

12. Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal I*. Edisi ke-2. Surabaya: Universitas Airlangga Press
13. Delcour, J., Ferain, T., Deghorain, M., Palumbo, E., & Hols, P. 1999. The Biosynthesis and Functionality of the Cell-Wall of Lactic Acid Bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76: 159–184
14. Hogg, S. 2005. *Essential Microbiology*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd
15. Emmawati, A., Laksmi, B.S., Nuraida, L., dan Syah, D. 2015. Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Mandai yang Berpotensi sebagai Probiotik. *Jurnal Agritech*, 35(2): 146–155
16. Lukáčová, D., Karovičová, J., Greifová, M., Greif, G., Šovčíková, A., Kohajdová, Z. 2006. *In vitro* Testing of Selected Probiotic Characteristics of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum*. *Journal of food and Nutrition Research* 45(2): 77–83
17. Cholakov, R., Yanakieva, V., Denkova, Z., & Sotirova, E. 2014. Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum* BG24, Isolated from Naturally Fermented Cereal Beverage. *Scientific University of Rousse Journals*, 53: 46–50

