

UJI RESISTENSI BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* YANG DIISOLASI DARI PLAK GIGI TERHADAP MERKURI DAN ANTIBIOTIK Siprofloksasin

¹Lisa Kepel
²Fatimawali
²Fona Budiarmo

¹Kandidat Skripsi Fakultas kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado
²Bagian Kimia Fakultas Kedokteran Unievrstas Sam Ratulangi Manado
Email: lkepel11_156@yahoo.com

Abstract: Mercury-resistant bacteria can be found in the oral cavity, especially in dental plaques which are exposed to mercury in amalgam. Albeit, not all mercury resistant bacteria must be resistant to antibiotics. This study aimed to determine the level of the resistance of *Escherichia coli* in mercury and to determine whether the mercury-resistant bacteria have become resistant to the antibiotic ciprofloxacin. This study used a descriptive exploratory method with samples of *Escherichia coli* bacteria, mercury, and antibiotics that were available in the Laboratory of Pharmaceutical Microbiology University of Sam Ratulangi Manado. The bacterium *E. coli* were grown in four concentrations of mercury. The results showed that *E. coli* was resistant to mercury. However, in three repetitions of antibiotic it was found that *E. coli* was still sensitive to ciprofloxacin. Based on the results, it is advisable to do a similar study in groups using the same antibiotic but with different treatments.

Keywords: mercury, bacteria, resistant, ciprofloxacin antibiotic

Abstrak: Bakteri resisten merkuri bisa ditemukan di dalam rongga mulut pada plak gigi yang terpapar merkuri (amalgam). Bakteri yang resisten merkuri tidak harus resisten terhadap antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat resistensi bakteri *Escherichia coli* (*E.coli*) terhadap merkuri dan untuk mengetahui apakah bakteri yang resisten merkuri ini juga resisten terhadap antibiotik siprofloksasin. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksploratif dengan sampel *E.coli*, merkuri, dan antibiotik yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Sam Ratulangi Manado. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa *E. coli* yang ditanam pada empat konsentrasi merkuri resisten terhadap merkuri. Dari hasil uji resisten antibiotik dengan tiga kali pengulangan didapatkan bahwa *E. coli* yang resisten merkuri ini masih sensitif terhadap siprofloksasin. Berdasarkan hasil penelitian disarankan untuk dilakukan penelitian yang serupa secara berkelompok dengan menggunakan antibiotik yang sama tetapi dengan perlakuan yang berbeda.

Kata kunci: merkuri, bakteri, resisten, antibiotik siprofloksasin

Merkuri (Hg) merupakan salah satu jenis logam berat dan umumnya kadar dalam tanah, air dan udara relatif rendah. Akan tetapi berbagai jenis aktivitas manusia justru meningkatkan kadar ini, seperti aktivitas penambangan yang dapat menghasilkan merkuri sebanyak 10.000

ton/tahun.¹

Paparan merkuri membawa efek berbahaya bagi kesehatan manusia.² Salah satu sumber pencemaran merkuri yang terjadi berasal dari penambangan emas yang dilakukan oleh masyarakat dengan pengolahan emas melalui amalgamasi.

Dalam proses tersebut merkuri dapat terlepas ke lingkungan pada tahap pencucian. Pada proses pencucian, limbah yang umumnya masih mengandung merkuri dibuang langsung ke badan air. Hal ini disebabkan merkuri tersebut tercampur/terpecah menjadi butiran-butiran halus yang sifatnya sukar dipisahkan pada proses penggilingan yang dilakukan bersamaan dengan proses pencucian merkuri dalam ampas terbawa masuk ke sungai. Disamping itu menurut Denny, pencemaran merkuri juga dapat berasal dari pembuangan limbah padat (*tailing*) tanpa pengolahan terlebih dahulu.³

Salah satu usaha untuk detoksifikasi merkuri dapat menggunakan mikroorganisme resisten merkuri. Bakteri resisten merkuri merupakan bakteri yang mempunyai seperangkat gen resisten merkuri *mer operon* untuk bertahan pada lingkungan yang mengandung merkuri, tetapi bila bakteri resisten merkuri masuk ke dalam tubuh maka akan berdampak pada kesehatan manusia. Oleh sebab itu, harus dilakukanlah pengobatan dengan antibiotik. Namun, bila bakteri resisten merkuri (Hg) juga memiliki senyawa resisten terhadap antibiotik, maka akan terjadi kegagalan pengobatan.⁴

Escherichia coli merupakan bakteri batang Gram negatif yang resistensi terhadap panas, dimana media tumbuh optimumnya sekitar 30-37 °C. *E. coli* hanya dapat tumbuh pada konsentrasi HgCl₂ 20 mg/2100 ml.⁵ Bakteri ini diidentifikasi sebagai *E. coli enterohaemorrhagic* (EHEC) dengan kandungan gen yang resisten terhadap antibiotika. Data pada tahun 2010 menunjukkan 30% strain *E. coli* resisten terhadap siprofloksasin.⁶

Asam nalidixat adalah prototip antibiotika golongan kuinolon lama yang dipasarkan sekitar tahun 1960. Pada awal tahun 1980 diperkenalkan golongan kuinolon baru dengan atom fluor pada cincin kuinolon (karena itu dinamakan fluoroquinolon). Perubahan struktur secara dramatis meningkatkan daya antibakterinya, memperlebar spektrum antibakteri, memperbaiki penyerapannya dari saluran

cerna, serta memperpanjang masa kerja obat. Salah satu golongan obat ini ialah siprofloksasin.⁷

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui tingkat resistensi bakteri *E. coli* terhadap merkuri dan untuk mengetahui daya hambat antibiotika siprofloksasin terhadap bakteri *E. coli* yang diisolasi dari plak gigi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan November-Desember 2014 di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi dengan menggunakan metode deskriptif eksploratif. Populasi penelitian ini ialah semua bakteri resisten merkuri yang tumbuh pada plak gigi pasien dengan tumpatan amalgam yang ada di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi.

Bahan yang digunakan ialah aquades, media LB padat (NaCl, Tripton, Yest Extrae, Becton Agar), media LB cair (NaCl, Tripton, Yest Extrae), sabun, merkuri anorganik (HgCl₂), antibiotik, dan spritus,

Cara kerja

Pengambilan sampel bakteri *E. coli* yang sudah diisolasi dari plak gigi yang ada di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi untuk diperiksa, dikultur, dan diidentifikasi.

Uji resistensi merkuri

Koloni bakteri *E. coli* ditumbuhkan pada media LB broth dengan menggunakan jarum ose yang sudah mengandung merkuri, kemudian dipindahkan pada media agar miring dengan menggunakan jarum ose sebagai kultur sediaan (Antibiotik dan resisten merkuri) dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam, selanjutnya disimpan pada suhu 4⁰C, kemudian dilakukan kembali inokulasi kultur bakteri *E. coli* dalam media LB broth yang mengandung HgCl₂ dalam beberapa konsentrasi yang berbeda yaitu 10 ppm, 20

ppm, 40 ppm dan 80 ppm. Diamati jumlah koloni yang tumbuh.

Uji resistensi Antibiotik

Uji resistensi antibiotik dilakukan dengan menginokulasi bakteri resistensi merkuri pada media LB padat. Kertas disk antibiotik dengan konsentrasi 5 µg antibiotik diletakkan menggunakan pinset steril pada permukaan media LB padat yang sudah diinokulasikan bakteri, kertas disk diatur jarak agar tidak terlalu rapat, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu diamati perubahan yang terjadi dan diukur zona beningnya dengan menggunakan mistar berskala.

Setelah serangkaian uji resistensi merkuri dan uji resistensi antibiotik, maka data ditabulasi kemudian dibandingkan hasilnya.

HASIL PENELITIAN DAN BAHASAN

Uji resistensi bakteri terhadap merkuri menggunakan 4 konsentrasi merkuri yaitu: 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm. Sedangkan pada uji resisten bakteri terhadap antibiotik dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Pada uji resistensi merkuri dilakukan pertumbuhan pada bakteri dalam media LB broth dengan menggunakan 4 konsentersasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm. Hal ini bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri dapat tumbuh dalam keempat konsentersasi yang diberikan.

Dari uji ini didapatkan isolasi bakteri resisten merkuri pada konsentersasi HgCl₂ 10 ppm yaitu bakteri bertumbuh dengan baik dalam jumlah banyak pada isolat dan semua koloni terlihat berwarna merah. Pada konsentersasi HgCl₂ 20 ppm ditemukan bahwa bakteri bertumbuh dengan baik dalam jumlah sedang pada semua isolat dan semua koloni terlihat berwarna merah ke jernih. Pada konsentersasi HgCl₂ 40 ppm ditemukan bahwa bakteri bertumbuh dalam jumlah sedikit pada semua isolat dan semua koloni terlihat berwarna merah ke jernih. Pada konsentersasi HgCl₂ 80 ppm tidak ditemukan pertumbuhan bakteri pada semua isolat (Tabel 1).

Proses inokulasi ini dilakukan pada media LB broth dengan menggunakan metode gores. Bakteri *E. coli* ditumbuhkan pada media LB broth dengan menggunakan 4 konsentersasi merkuri. Dari hasil uji ini, bakteri *E. coli* paling banyak bertumbuh pada konsentersasi 10 ppm dibandingkan dengan konsentersasi lainnya yaitu 20 ppm, 40 ppm dan 80 ppm.

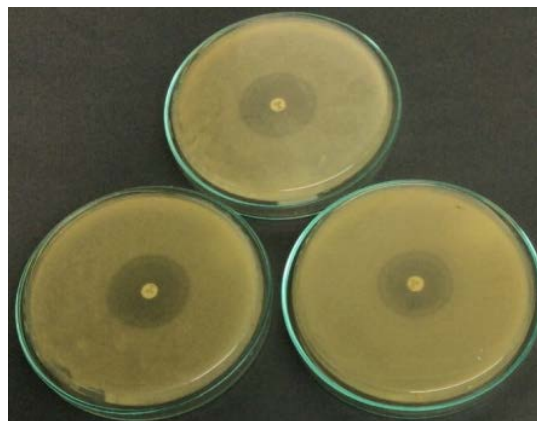
Hal ini menunjukkan terdapat beragam tingkat resistensi bakteri tersebut terhadap merkuri. Penurunan populasi salah satu isolat bakteri merupakan indikasi adanya penghambatan pertumbuhan akibat aktivitas isolat bakteri lainnya berupa ekskresi zat antimikroba. Hasil akhir kompetisi ini dipengaruhi oleh kecepatan pengambilan nutrisi, kecepatan metabolisme dan kecepatan pertumbuhan masing-masing mikroorganisme.

Resistensi merkuri ini ditemukan secara luas baik pada bakteri gram negatif maupun pada bakteri gram negatif, dan biasanya gen resisten merkuri ini ditemukan pada plasmid yang dikode oleh transposon. Gen-gen yang mengkode protein enzim bersama dengan masing-masing fungsinya ditemukan sebagai operon *mer*. Gen *mer A* mengkode pembentukan enzim merkuri reduktase untuk detoksikasi merkuri anorganik atau ion merkuri, sedangkan gen *mer B* mengkode pembentukan enzim organo-merkuri liase untuk detoksikasi merkuri organik. Beberapa penelitian tentang peran enzim organo-merkuri liase (enzim *merB*) maupun merkuri reduktase (enzim *mer A*) telah dilakukan. Penelitian tentang aktifitas enzim *mer A* dan *mer B* oleh Benision dkk menunjukkan bahwa ion merkuri dapat ditransfer secara langsung oleh kedua enzim tersebut untuk proses detoksikasi.⁸ Pada uji resistensi antibiotik siprofloksasin dengan konsentersasi 5 µg yang diulang sebanyak tiga kali didapatkan bahwa pada pengulangan pertama didapatkan hasil zona hambat dengan diameter 29 mm, pada pengulangan kedua didapatkan diameter zona hambat 29 mm dan begitu juga pada pengulangan ketiga didapatkan bahwa diameter zona hambat adalah 29 mm. Dari

interpretasi hasil dari ketiga pengulangan tersebut adalah bahwa bakteri *E. coli* sensitif terhadap antibiotik golongan siprofloksasin (Tabel 2 dan Gambar 1).

Pada uji yang kedua mengenai uji bakteri resisten merkuri terhadap antibiotik golongan siprofloksasin telah disimpulkan bahwa bakteri *E. coli* sensitif terhadap antibiotik siprofloksasin. Penelitian ini didukung dengan penelitian dari Mulyani. Penelitiannya menggunakan 12 isolat *Actinomyces* yang dikultur terlebih dahulu pada media *Starch Nitrate Broth* (SNB). Ke 12 isolat yang digunakan diberi kode T18, T19, T25, T34, T37, T41, T43, P104, P301, P302 dan TL. Cairan yang di kultur selama 14 hari itu selanjutnya diuji aktivitas terhadap bakteri uji untuk memastikan adanya kandungan antibiotik di dalam cairan kulturnya. Uji dilakukan terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922. Selain itu juga diuji sifat resistensi bakteri uji yang digunakan terhadap antibiotik.

Dari hasil penelitiannya menunjukkan bahwa zona hambat besar terhadap *E. coli* muncul pada antibiotik siprofloksasin sehingga disimpulkan bahwa ATCC 25922 masih sensitif terhadap siprofloksasin.⁹



Gambar 1. Uji bakteri resisten merkuri terhadap antibiotik siprofloksasin dengan 3 kali pengulangan

Tabel 1. Uji Resistensi Bakteri terhadap Merkuri

Media Luria Bertani (LB) Broth	Pertumbuhan	Keterangan	Warna
10 ppm	+	Pertumbuhan banyak	Merah
20 ppm	+	Pertumbuhan sedang	Merah-Jernih
40 ppm	+	Pertumbuhan sedikit	Merah-Jernih
80 ppm	-	Tidak ada pertumbuhan	Jernih

Tabel 2. Uji Bakteri Resistensi Merkuri terhadap Antibiotik Siprofloksasin

Pengulangan Pemberian Antibiotik Siprofloksasin	Zona Hambat	Keterangan
I	29 mm	Bakteri sensitif terhadap antibiotik
II	29 mm	Bakteri sensitif terhadap antibiotik
III	29 mm	Bakteri sensitif terhadap antibiotik

Penelitian lain juga yang diajukan oleh Fauzia dkk mengenai pemeriksaan potensi tablet siprofloksasin yang beredar di apotek kota Medan dengan metode pengenceran. Penelitian ini melatar belakangi cara penyimpanan tablet siprofloksasin dengan

nama dagang dan nama generik yang dianjurkan melalui label pada kemasan adalah di tempat sejuk dan kering yang berkisar 8°-15°C. Tetapi dalam survey lapangan menunjukkan bahwa tidak ada apotek yang menyimpan sediaan tablet

siprofloksasin dalam ruangan khusus seperti lemari pendingin atau melengkapi ruangan apotek dengan pendingin udara. Oleh karena itu penelitian ini dibuat karena mungkin penurunan potensi antibakteri yang terjadi akibat penyimpanan yang tidak sesuai. Untuk mengetahui potensi sediaan tablet siprofloksasin yang beredar, dilakukan penentuan kadar Hambat Minimum (KHM) menggunakan cara pengenceran (*macrodilution procedure*). Dari hasil penelitian tersebut didapatkan bahwa KHM rata-rata antara 0,21-0,42 µg/ml terhadap bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Bahan baku siprofloksasin secara umum dikatakan mempunyai daya anti bakteri baik apabila mempunyai KHM antara 0,004-2µg/ml terhadap bakteri gram negatif, maka dapat dikatakan bahwa KHM tablet siprofloksasin 500 yang diuji masih termasuk dalam kisaran KHM dengan daya anti bakteri baik.¹⁰

Dari penelitian di atas justru ditemukan perbedaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maya. Dimana tujuan penelitiannya adalah untuk menentukan perbedaan tingkat resistensi bakteri uropatogen *E. coli* pada pemberian siprofloksasin dosis 500 mg dua kali sehari selama 3 hari dengan dosis 750 mg dua kali sehari selama 1 hari. Metode penelitian ini dengan melihat Simulasi model kinetika in vitro yang digunakan untuk memperoleh parameter farmako-kinetika siprofloksasin AUC₀₋₂₄ dan C_{max}. Bakteri uropatogen *Escherichia coli* yang digunakan memiliki nilai MIC awal 0,5 µg/mL. Nilai parameter tersebut digabungkan menjadi parameter PK/PD yang akan digunakan untuk menilai aktivitas antibakteri. Parameter PK/PD tersebut adalah rasio AUC₀₋₂₄/MIC, C_{max}/MIC, dan T>MIC. Aktivitas antibakteri diukur berdasarkan penurunan jumlah koloni bakteri setelah perlakuan kedua dosis siprofloksasin. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya kenaikan nilai MIC pada bakteri uropatogen *Escherichia coli* yang menunjukkan kemungkinan terjadinya resistensi selama dan setelah perlakuan kedua dosis siprofloksasin.¹¹

SIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa bakteri resisten merkuri bisa terdapat dalam tumpatan amalgam pada gigi dimana dalam penelitian ini ditemukan bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari plak gigi resisten terhadap merkuri dan dalam uji bakteri resistensi merkuri terhadap antibiotik siprofloksasin didapatkan bahwa diameter zona hambat mencapai 29 mm dengan 3 kali pengulangan yang artinya jika zona hambat >17 mm disebut bahwa bakteri *Escherichia coli* sensitif terhadap antibiotik siprofloksasin. Jadi, tidak semua bakteri resisten merkuri, resisten juga terhadap antibiotik.

Dari hasil ini, perlu dilakukan penelitian yang sama secara berkelompok dengan menggunakan antibiotik yang sama tetapi dengan perlakuan yang berbeda. Selain itu, Perlu dilakukan pengawasan terhadap penggunaan antibiotik terlebih khusus untuk mencegah resistensi antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri *Escherichia coli* berhubung tingkat resistensi terhadap bakteri *Escherichia coli* sudah banyak ditemukan di antibiotik golongan lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Albasar MI, Daud A, Ida LM.** Paparan merkuri (Hg) pada masyarakat di kelurahan poboyo kota palu Sulawesi tengah. [cited 2014 Oct 12]. Available from : <http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/b86d2d8e47b63721254a298fc489ecb6.pdf>
2. **Bernhoft RA.** Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *Journal of Environmental and Public Health* vol. 2012, Article ID 460508, 10 pages; 2012.
3. **Purnawan S, Rismawati, Sikanna, Prismawiryanti.** Distribusi Logam merkuri pada sedimen laut di sekitar muara sungai poboya. *Jurnal of Natural Science*, Vol. 2 (1): 18-24.
4. **Ayu DR.** Isolasi dan Uji resistensi antibiotik bakteri resistensi merkuri (Hg) dari kawasan Pantai Losari Makassar. [cited 2015 Jan 21]. Available from

- <http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/123456789/4006/ISOLASI%20AN%20UJI%20RESISTENSI%20ANTIBIOTIK%20BAKTERI%20RESISTENSI%20MERKURI%20%28Hg%29%20DARI%20KAWASAN%20PANTAI%20LOSARI%20MAKASSAR.pdf?sequence=1>
5. **Manampiring A, Kepel B.** Studi populasi bakteri resisten merkuri di daerah aliran sungai Tondano. [cited 2014 Oct 10]. Available from : <http://www.sulutiptek.com/documents/merkuriketangbaru.pdf>
 6. Resistensi Bakteri terhadap Antibiotika Kian Meningkat. Universitas Gadjja Mada. [cited 2014 Oct 27]. Available from : <http://ugm.ac.id/id/post/page?id=4335>
 7. **Syarif A, Estuningtyas A, Setiawati A, Muchtar A, Arif A, Bahry Bahroelim.** Farmakologi dan Terapi Ed. 5 FKUI. Jakarta; EGC, 2007.
 8. **Kepel B, Fatimawali.** Karakteristik suspek band gen *merB* pada elektroforesis hasil PCR isolate bakteri resisten merkuri organik.
 9. **Mulyani NS.** Aktivitas Cairan Kultur 12 Isolat Actinomycetes terhadap Bakteri Resistensi. Kesmas. 2013;7(2):55-122.
 10. **Fauzia, Wiryanto, Lubis S.** Pemeriksaan Potensi Tablet Ciprofloxacin yang Beredar di Apotek Kota Medan dengan Metode Pengenceran. Majalah Kedokteran Nusantara Volume 38 No. 4 Desember 2005. [cited 2014 Jan 5] Available from : <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/15592/1/mkn-des2005-%20%285%29.pdf>
 11. **Rakhmawatie MD.** Efek perbedaan dosis siprofloksasin pada resistensi uropatogen escherichia coli: simulasi model kinetika in vitro; 2012. (diakses pada 5 Januari 2014) available from : http://etd.ugm.ac.id/index.php?mod=penelitian_detail&sub=PenelitianDetail&act=view&typ=html&buku_id=58152&obyek_id=4