

UJI RESISTENSI BAKTERI *BACILLUS SP* YANG DIISOLASI DARI PLAK GIGI TERHADAP MERKURI DAN ERITROMISIN

¹Terence Kanzil
²Fatimawali
²Aaltje Manampiring

¹Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

²Bagian Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

Abstract: Mercury is a toxic heavy metal that is used for dental fillings in the form of amalgam. To reduce the toxic effects produced by mercury, mercury resistant bacteria can be used. *Bacillus sp* is a gram-positive bacteria that is resistant to mercury. Besides having the mer operon genes that can transform Hg^{2+} to Hg^0 that is less toxic, *Bacillus sp* bacteria also produce esterase that cause these bacteria resistant to erythromycin antibiotic. Erythromycin is a macrolide class of antibiotic used for the treatment of diseases caused by Gram-positive bacteria, especially *Staphylococcus* and *Diphtheroids*. To determine the resistance of *Bacillus sp* bacteria against mercury and erythromycin antibiotic. This study used a descriptive exploratory method with samples of bacteria and mercury are already available in the Laboratory of Pharmaceutical Microbiology. Based on the research that has been conducted, showed that the *Bacillus sp* bacteria is resistant to mercury and erythromycin.

Key words: bacteria, *bacillus sp*, resistant, mercury, erythromycin

Abstrak: Merkuri merupakan logam berat bersifat toksik yang digunakan untuk penambalan gigi dalam bentuk amalgam. Untuk mengurangi efek toksik yang dihasilkan oleh merkuri, dapat digunakan bakteri resisten merkuri. Bakteri *Bacillus sp* merupakan bakteri gram positif yang resisten terhadap merkuri. Selain memiliki gen mer operon yang dapat mengubah Hg^{2+} menjadi Hg^0 yang kurang toksik, bakteri *Bacillus sp* juga membentuk esterase yang menyebabkan terjadinya resisten bakteri ini terhadap antibiotik eritromisin. Eritromisin adalah antibiotik golongan makrolid yang digunakan untuk pengobatan penyakit akibat bakteri Gram positif khususnya *Staphylococcus* dan *Diphtheroids*. Untuk mengetahui resistensi bakteri *Bacillus sp* terhadap merkuri dan antibiotik eritromisin. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksploratif dengan sampel bakteri dan merkuri yang sudah tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh bahwa bakteri *Bacillus sp* resisten terhadap merkuri dan eritromisin.

Kata Kunci: bakteri, *bacillus sp*, resisten, merkuri, eritromisin

Merkuri adalah unsur yang mempunyai nomor atom (NA=80) serta mempunyai massa molekul relatif (MR=200,59).¹ Umumnya kadar dalam tanah, air dan udara relatif rendah. Berbagai jenis aktivitas manusia dapat meningkatkan kadar ini, misalnya aktivitas penambangan

yang dapat menghasilkan merkuri sebanyak 10.000 ton / tahun. Pekerja yang mengalami paparan terus menerus terhadap kadar 0,05 Hg mg/m³ udara menunjukkan gejala nonspesifik berupa neurasthenia, sedangkan pada kadar 0,1-0,2 mg/m³ menyebabkan tremor. Dosis fatal

gram merkuri adalah 1 gr.²

Merkuri merupakan salah satu bahan yang digunakan untuk membuat amalgam. Amalgam adalah bahan yang digunakan untuk penambalan gigi berlubang. Pada saat dilakukan tindakan penambalan gigi dengan menggunakan amalgam, proses penghalusan atau pengeburan amalgam di dalam mulut dapat menghasilkan endapan kandungan merkuri yang dapat tertelan dan racun dari merkuri tersebut dapat mengendap dalam tubuh. Endapan kandungan merkuri di dalam tubuh dalam jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada paru-paru dan kegagalan pernafasan yang dapat mengakibatkan kematian.³

Eritromisin merupakan antibiotik golongan makrolid. Eritromisin dihasilkan oleh suatu strain *Streptomyces erythreus*. Zat ini berupa Kristal berwarna kekuningan, larut dalam air sebanyak 2 mg/mL. Antibiotik ini tidak stabil dalam suasana asam, kurang stabil pada suhu kamar tetapi cukup stabil pada suhu rendah. Aktivitas *in vitro* paling besar dalam suasana alkalis. Larutan netral eritromisin yang disimpan pada suhu kamar akan menurun potensinya dalam beberapa hari, tetapi bila disimpan pada suhu 5°C biasanya tahan beberapa minggu.⁴

Resistensi terhadap eritromisin biasanya disandi oleh plasmid. Telah diketahui terdapat tiga mekanisme : (1) berkurangnya permeabilitas membrane sel atau efluks aktif; (2) pembentukan (oleh *Enterobacteriaceae*) esterase yang menghidrolisis makrolid; dan (3) modifikasi tempat pengikatan di ribosom (yang disebut sebagai proteksi ribosom) oleh mutasi kromosom atau oleh metilase yang terbentuk secara konstitutif atau akibat induksi makrolid.^{4,5}

Di dalam tubuh manusia terdapat berbagai macam bakteri, di antaranya terdapat bakteri yang resisten terhadap merkuri dan eritromisin seperti bakteri *Bacillus sp.* Bakteri *Bacillus sp.* dapat mendetoksifikasi merkuri dengan mengubah bentuk Hg²⁺ yang memiliki sifat

toksik menjadi bentuk Hg⁰ yang bersifat volatile dan tidak toksik di dibandingkan dengan bentuk Hg²⁺. Bakteri ini memiliki seperangkat gen mer operon, sehingga mampu mengubah bentuk merkuri yang bersifat toksik menjadi tidak toksik.⁶ Bakteri *Bacillus sp.* juga membentuk esterase yang menghidrolisis makrolid yang menyebabkan terjadinya resisten bakteri ini terhadap antibiotik eritromisin.^{4,5}

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksploratif. Penelitian ini dilakukan pada bulan November-Desember 2014 di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi. Populasi dalam penelitian ini adalah semua bakteri resisten merkuri yang tumbuh pada plak gigi pasien dengan tumpatan amalgam yang ada di laboratorium mikrobiologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi. Sampel yang diambil dalam penelitian ini adalah bakteri *Bacillus sp.* pada plak gigi yang telah diisolasi resisten terhadap merkuri yang tumbuh pada media Luria Bertani (LB) broth dan media LB padat.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Timbangan Analitik, Cawan Petri, Tabung Reaksi, Autoklaf, Gelas Ukur, Erlemeyer, Cakram, Lampu spritus/Bunsen, Jarum Ose, Rak Tabung, Laminar Air Flow, stirer, Hot plate, Gelas kimia, Aluminium foil, Mikro pipet, kertas label, Handskun, Masker, Tissue.

Bahan yang digunakan adalah Aquades, Media LB padat (NaCl, Tripton, Yest Extrae, Becton Agar), Media LB cair (NaCl, Tripton, Yest Extrae), Sabun, Merkuri anorganik (HgCl₂), Antibiotik eritromisin 15 µg, dan Spritus,

Cara kerja

Pengambilan sampel dengan mengambil bakteri *Bacillus sp.* pada plak gigi yang telah diisolasi resisten terhadap merkuri yang sudah diisolasi dari plak gigi

yang ada di Laboratorium mikrobiologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi. Sampel diperiksa di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi untuk dikultur dan diuji resisten merkuri dan resistensi antibiotik eritromisin.

Uji Resistensi Merkuri

Koloni *Bacillus sp* 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 *Bacillus sp* 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 resisten merkuri pada media LB padat. Kertas disk antibiotik dengan konsentrasi 15 µg antibiotik diletakkan menggunakan pinset steril pada permukaan media LB padat yang sudah diinokulasikan bakteri, kertas disk di atur jarak agar tidak terlalu rapat, lalu diinkubasi selama 24 jam. 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 dalam tabel kemudian dibandingkan hasilnya.

HASIL PENELITIAN DAN BAHASAN

Selama proses penelitian yang dilakukan pada November – Desember 2014 dengan sampel bakteri *Bacillus sp* yang diisolasi dari plak gigi, berikut adalah hasil penelitian yang disajikan dalam bentuk tabel beserta penjelasan:

Tabel 1. Uji Resistensi bakteri *Bacillus sp* terhadap Merkuri

Media luria bertani (LB) Broth	Pertumbuhan	Keterangan
10 ppm	+	Banyak
20 ppm	+	Sedang
40 ppm	+	Sedikit
80 ppm	-	Tidak ada

Pada uji resistensi bakteri *Bacillus sp* terhadap merkuri, bakteri diletakkan pada 4 media LB Broth yang masing-masing memiliki konsentrasi yang berbeda, yaitu 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm dan 80 ppm. Berdasarkan tabel 1, dapat kita lihat pada media dengan konsentrasi HgCl₂ 10 ppm terdapat pertumbuhan yang banyak dari bakteri isolat, pertumbuhan sedang pada media 20 ppm, pertumbuhan sedikit pada media 40 ppm dan tidak terdapat pertumbuhan bakteri isolat pada media 80 ppm. Peneliti kemudian mengambil bakteri isolat pada konsentrasi 10 ppm yang memiliki pertumbuhan bakteri paling banyak untuk dilakukan uji resistensi eritromisin.

Berdasarkan hasil penelitian, masih terdapat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi HgCl₂ 10 ppm, 20 ppm dan 40 ppm. Hal ini disebabkan oleh adanya gen resisten merkuri (mer operon). Mer operon ini mengubah Hg²⁺ yang bersifat toksik menjadi bentuk Hg⁰ yang bersifat *volatile* dan tidak toksik dibandingkan dengan bentuk Hg²⁺ sehingga bakteri masih dapat bertumbuh walaupun di dalam merkuri.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Jefry pada tahun 2013. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus sp* dapat bertahan sampai pada konsentrasi HgCl₂ 40 ppm dan pada konsentrasi Fenil Merkuri 20 ppm yang menandakan kalau bakteri *Bacillus sp* resisten terhadap merkuri.⁷

Pada uji resistensi *Bacillus sp* terhadap antibiotik eritromisin, bakteri hasil uji tes merkuri diberikan antibiotik eritromisin sebanyak tiga kali pengulangan.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan zona hambat sebesar 10 mm pada pengulangan pertama, kedua dan ketiga. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa bakteri *Bacillus sp* resisten terhadap antibiotik eritromisin karena zona hambat yang < dari 12 mm.

Tabel 2. Uji resistensi bakteri *Bacillus sp* terhadap antibiotic eritromisin

Pengulangan pemberian antibiotik eritromisin	Zona hambat	Keterangan
I	10 mm	Resistensi
II	10 mm	Resistensi
III	10 mm	Resistensi

Penelitian terhadap bakteri *Bacillus* juga dilakukan oleh Isa pada tahun 2012. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* yang telah diisolasi sensitif terhadap Penicillin, Ampicillus, Oxytetracycline, Gentamicin, Ciprofloxacin dan Sulfamethoxazole. Hal ini membuktikan bahwa bakteri *Bacillus sp* resisten terhadap antibiotik eritromisin namun masih sensitif terhadap antibiotik lainnya.⁸

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh bahwa bakteri *Bacillus sp* dapat hidup dalam media LB dengan konsentrasi HgCl₂ 40 ppm dan menghasilkan zona hambat yang kurang dari 12 mm yaitu 10 mm, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa bakteri *Baccilus sp* resisten terhadap merkuri dan eritromisin.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut

tentang sensitivitas dan resistensi bakteri terhadap antibiotik golongan lainnya

Penggunaan obat antibiotik harus sesuai dengan dosis yang telah diberikan, karena dosis yang kurang atau berlebihan dapat menyebabkan resistensi kuman terhadap antibiotik tersebut

DAFTAR PUSTAKA

1. **Alfian Z.** Merkuri : antara manfaat dan efek penggunaannya bagi kesehatan manusia dan lingkungan. Medan: 2006
2. Merkuri dan dampaknya terhadap kesehatan manusia. Diunduh dari : <http://www2.pom.go.id/public/siker/desc/produk/MerKesMan.pdf>
3. Tambalan logam vs amalgam. Diakses pada 21 Januari 2015. Diunduh dari : <http://www.shinysmiledentalclinic.com/tambalan-logam-vs-amalgam/>
4. **Setiabudi R.** Antimikroba lain: Farmakologi dan terapi edisi 5. Jakarta: 2007. p.723-4.
5. **Katzung B K, Masters S B, Trevor A J.** Farmakologi Dasar & Klinik edisi 12. Jakarta: 2013. Hal 919-21
6. **Selin N.** Global Biogeochemical Cycling of Mercury. Massachusetts Institute of Technology. Cambridge. 2009. Vol 34: 43-63
7. **Hinonaung J H.** Identifikasi Bakteri Resistensi Merkuri pada Individu di Daerah Pesisir Pantai di Desa Budo Kecamatan Wori. 2014. Diakses pada 13 Januari 2015. Diunduh dari : http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/e_biomedik/article/viewFile/3697/3220
8. **Mahendra I.** Uji Kepekaan *Bacillus subtilis* yang Diisolasi Dari Sedimen Tambak Udang dan Tambak Ikan Terhadap Bahan Antimikroba. 2012. Diakses tanggal 26 Januari 2015. Diunduh dari : http://web.unair.ac.id/admin/file/f_6956_AI.pdf