



# RESISTENSI ANTIBIOTIKA *Bifidobacterium* PADA KEFIR dan YOGURT

Titik Budiati #1, Wahyu Suryaningsih #2

#Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Jember  
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember

<sup>1</sup>titik.budiati@gmail.com

<sup>2</sup>wahyu.suryaningsih@yahoo.com

## Abstract

Sebanyak 12 isolat *Bifidobacterium* diisolasi dari sampel kefir dan yogurt yang diperoleh dari pasar lokal. Resistensi *Bifidobacterium* yang diisolasi dari kefir dan yogurt mempunyai sifat resistensi terhadap terhadap Ceftazidime (Caz, 100 %), Ceftriaxone (Cro, 100%), Lincomycin (Li, 100%), Rifampicin (Rd, 100%), Sulphamethoxazole-Trimethoprim (Sxt, 50%), Tobramycin (Tob, 100%). Antibiogram yang paling banyak dijumpai pada *Bifidobacterium* adalah CazCroLiRdSxtTob (n=5) dengan. MAR index yang bervariasi dari 0.83 sampai 1. Tingginya MAR index menunjukkan semakin banyak paparan kontaminasi antibiotika pada bahan pembuatan yogurt dan kefir.

**Keywords**— *Bifidobacteria*, resistensi antibiotika, MAR

## I. PENDAHULUAN

*Bifidobacterium* adalah bakteri probiotik yang aman untuk dikonsumsi manusia dalam bentuk suplemen kesehatan atau dalam bentuk makanan serta minuman manusia. Akan tetapi *Bifidobacterium* dapat bersifat resisten terhadap antibiotika karena penggunaan antibiotika yang berlebihan pada manusia dan hewan. Bahkan *Bifidobacteria* dapat bertindak sebagai reservoir gen yang resisten terhadap antibiotika dan dapat dipindahkan ke bakteri patogen di usus manusia [1]. Hal ini dapat menghambat proses penyembuhan suatu penyakit pada manusia yang disebabkan oleh bakteri patogen yang menyerang usus manusia. EUPROSAFE, sebuah lembaga independen pemantau keamanan makanan di Eropa, telah menyarankan bahwa probiotik di masa depan sebaiknya tidak mempunyai sifat resisten terhadap antibiotika [2].

*Bifidobacterium* dapat diisolasi dari berbagai makanan fermentasi misalnya kefir dan yogurt. Akan tetapi penelitian yang mempelajari tentang resistensi antibiotika pada *Bifidobacterium* yang diisolasi pada produk yogurt dan kefir masih sangat terbatas. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang resistensi antibiotika pada *Bifidobacterium* yang diisolasi pada yogurt dan kefir. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeterminasi resistensi antibiotika pada *Bifidobacterium* yang diisolasi

pada yogurt dan kefir. Pada akhirnya penelitian ini dapat memberikan informasi tentang adanya resistensi antibiotika pada *Bifidobacterium* pada yogurt dan kefir dengan bahan dasar susu sebagai salah satu media terjadinya paparan antibiotika pada saat pemeliharaan hewan ternak.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. *Bifidobacterium*

*Bifidobacterium* adalah bakteri gram positif dari filum *Actinobacteria* yang bersifat tidak bergerak, tidak membentuk spora, tidak menghasilkan gas, bakteri anaerobik. Pada umumnya bifidobacteria species diisolasi dari gastrointestinal mamalia, serangga atau burung [3]. Beberapa bifidobacteria species (misalnya *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, and *Bifidobacterium longum* subsp. *longum*) merupakan isolat yang diperoleh dari manusia, sedangkan *Bifidobacterium gallinarum*, *Bifidobacterium angulatum* dan *Bifidobacterium cuniculi* berhubungan dengan kotoran hewan [4].

Menurut Makino et al. [5] *Bifidobacterium* telah ditemukan berasal dari saluran pencernaan manusia, vagina dan saluran kandung kemih. Tugas utama dari bakteri ini adalah menjaga keseimbangan flora mikro dalam usus, mengontrol peningkatan bakteri merugikan, memperkuat sistem kekebalan tubuh, dan membantu proses pencernaan [5]. Suhu optimal pertumbuhan sekitar



37 – 41°C dan pH optimal antara 6,5 – 7 [5]. Beberapa spesies dari genus *Bifidobacterium* telah digunakan selama beberapa dekade sebagai makanan fungsional untuk kesehatan atau efek probiotik [6]. Berbagai cara telah dilakukan untuk memanfaatkan *Bifidobacterium* sebagai probiotik. Probiotik dapat mereduksi terjadinya infeksi yang disebabkan oleh bakteri atau virus penyebab diare, menyembuhkan penyakit inflamasi kronis (misalnya *pouchitis* and *ulcerative colitis*), meningkatkan kondisi fisiologi (misalnya menurunkan tingkat kolesterol atau tidak toleran terhadap laktosa) dan mengurangi resiko yang berdampak pada kesehatan (misalnya karies gigi, alergi, dan bahkan kanker [7]. *Bifidobacterium* merupakan bakteri penghasil asam laktat, asam asetat, vitamin, bakteriosin. Asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri penyebab penyakit (bakteri patogen) dan bakteri pembusuk makanan. Selain itu, bakteri asam laktat juga dapat menghasilkan senyawa antimikroba lainnya seperti bakteriosin, reuterin, hidrogen peroksida dan diasetil. Bakteriosin adalah polipeptida yang memiliki aktivitas antimikroba. Hal ini mengindikasikan bahwa manfaat *Bifidobacteria* menunjukkan peran yang nyata melalui ekosistem yang kompleks dalam pencernaan manusia.

#### B. Antibiotika

Antibiotika adalah komponen sintetis atau alami yang dapat menghambat atau membunuh bakteri [8]. Antibiotik pada umumnya digunakan oleh manusia dan binatang sebagai obat penyembuhan. Penggunaan antibiotika secara berlebihan dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten dan dapat berpindah ke populasi yang lebih besar. Telah banyak penelitian tentang resistensi bakteri terhadap antibiotika yang didapatkan melalui berbagai mekanisme yaitu mutasi DNA bakteri atau melalui perpindahan gen secara horizontal. Perpindahan tersebut meliputi konjugasi, transduksi dengan bakteriofage, dan pengambilan DNA bebas melalui transformasi [8]. Serrano [9] menyatakan bahwa bakteri yang resisten terhadap dapat memindahkan sifat resistensi tersebut kepada bakteri yang hidup di usus dan bakteri patogen yang masuk ke pencernaan manusia. Hal ini menyebabkan penyembuhan penyakit pada manusia menjadi sulit dilakukan.

#### C. Resistensi pada antibiotika

Resistensi pada antibiotika pada mikroorganisma pada antibiotika tertentu yang sebelumnya sensitif dapat menjadi tahan terhadap antibiotika. Oleh karena itu penyembuhan biasa menjadi gagal sehingga infeksi suatu penyakit dapat bertahan dan menyebar. Resistensi terhadap antibiotika diantara bakteri disebabkan karena frekuensi penggunaan antibiotika yang menyebabkan mutasi atau memperoleh resistensi terhadap antibiotika di dalam gen bakteri [10; 11]

Beberapa penelitian telah menunjukkan beberapa resistensi pada satu atau

lebih antibiotika yang dapat menyebabkan peningkatan morbidity dan mortality [12, 13]

Bakteri mempunyai kemampuan untuk beradaptasi lingkungan di sekitarnya. Hal ini disebabkan karena karakter gen dan kemampuannya untuk mengakses kumpulan genetiknya. Resistensi kepada antibiotika dapat dipindahkan dari satu bakteri ke bakteri yang lain, melalui elemen mobil genetika, misalnya plasmid dan transposon. Hal ini biasanya didasari oleh sifat resistensi yang diperoleh. Perpindahan elemen genetika dapat melalui perpindahan gen secara horizontal yang dilakukan melalui konjugasi, transformasi dan transduksi [14]. Pada perpindahan transfer gen secara horizontal dapat melibatkan integron sebagai fragmen DNA kompleks. Integron dapat menggabungkan berbagai gen yang membawa sifat resistensi pada antibiotika. Integron dapat ditemukan pada Gram-positif dan Gram-negatif yang dapat memimpin sifat resistensi antibiotika pada tingkat tinggi [12].

Beberapa mikroorganisme mempunyai resistensi intrinsik karena komponen aktif pada antibiotika yang masuk ke dalam sel tidak mencapai bagian tertentu dalam sel bakteri tersebut dan dapat menyebabkan resistensi pada antibiotika. Menurut Alanis [14] hal ini disebabkan oleh efflux aktif antibiotika, transformasi antibiotika, destruksi antibiotika dan modifikasi receptor.

Destruksi atau transformasi antibiotik dapat terjadi ketika bakteri memproduksi enzim yang dapat memodifikasi atau merusak komponen aktif antimikroba [15]. Melalui mekanisme aktif efflux, mikroba dapat membentuk mekanisme transpor aktif yang dapat memompa molekul antibiotika dari interior dalam sel (misalnya efflux tetracyclin, makrolida dan fluoroquinolone) [13]. Modifikasi receptor terjadi ketika bakteri merubah receptor spesifik antibiotika untuk mengikat intraseluler antibiotika (misalnya modifikasi protein pengikat penicillin, dan alterasi ribosom yang dapat mencegah pengikatan aminoglikosida, makrolida atau tetracyclin [12; 13].

### III. TUJUAN DAN MANFAAT

#### A. Tujuan

Untuk mendeterminasi resistensi antibiotika pada *Bifidobacterium* yang diisolasi pada yogurt dan kefir.

#### B. Manfaat

Penelitian ini dapat memberikan informasi tentang adanya resistensi antibiotika pada *Bifidobacterium* pada yogurt dan kefir dengan bahan dasar susu sebagai salah satu media terjadinya paparan antibiotika pada saat pemeliharaan hewan ternak.



#### IV. METODE PENELITIAN

Sebanyak 12 isolat *Bifidobacterium* yang diisolasi dari kefir dan yogurt dilakukan uji resistensi antibiotika menggunakan metode *disc diffusion* dengan berbagai antibiotika (Ceftriaxone 5µg, Ceftazidime 10µg, Lincomycin 30µg, Rifampicin 30µg, Sulphamethoxazole 25µg, Tobramycin 10µg). Cakram antibiotika diperoleh dari Oxoid (Baringstoke, Hampshire, UK). Kultur bakteri ditumbuhkan dalam MRS broth (MRSB, Hi-media, India) dan diinkubasi 37 °C. Kultur yang sudah diinkubasi semalam diencerkan hingga mencapai kekeruhan yang sama dengan skala 0.5 larutan standar McFarland (Hi-Media, India). Kultur bakteri disebar diatas Mueller Hinton Agar (Oxoid, Baringstoke, Hampshire, UK) dalam cawan petri menggunakan *cotton swab*. Sesudah 30 menit, 3–4 buah cakram antibiotika ditempatkan diatas sebaran bakteri dan diinkubasi pada 37 °C selama 18–24 h. Setelah masa inkubasi, diameter area bening (*inhibition zones*) diukur dan dibandingkan dengan *interpretive chart* yang diperoleh dari '*Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*' dan diklasifikasikan sebagai resisten [16]. Penelitian dilakukan sebanyak tiga kali ulangan untuk tiap bakteri *Lactobacillus* sp. Multiple Antibiotic Resistances (MAR) index ditentukan berdasarkan metode yang dikemukakan oleh Krumperman [17]. Menurut Krumperman [17], MAR dihitung menggunakan rumus  $a/(b \times c)$  dimana "a" adalah skor resistensi antibiotik agregat pada semua isolate dengan antibiogram yang sama, "b" adalah jumlah antibiotik dan "c" adalah jumlah isolat. Nilai MAR index yang kurang dari atau sama dengan 0.2 mengindikasikan bahwa penggunaan antibiotika yang jarang atau tidak pernah. Nilai MAR index yang lebih dari 0.2 mengindikasikan bahwa isolat berasal dari sampel dengan bahan dasar susu yang sering terpapar antibiotika (*high-risk*).

#### V. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

Uji resistensi bakteri *Bifidobacterium* yang diisolasi dari kefir dan yogurt terhadap beberapa antibiotik dapat dilihat pada tabel I. Semua isolat *Bifidobacterium* resisten terhadap *Ceftazidime* (Caz), *Ceftriaxone* (Cro), *Lincomycin* (Li), *Rifampicin* (Rd) dan *Tobramycin* (Tob). D'Aimmo *et al.* [18] menyatakan bahwa hampir semua isolat *Bifidobacterium* yang diisolasi dari produk susu dan produk kesehatan resisten terhadap *Lincomycin* dan *Rifampicin*. Demikian juga hasil penelitian Charteris *et al.* [19] menemukan bahwa *Bifidobacterium* yang diisolasi dari alat pencernaan manusia bersifat resisten terhadap *Ceftazidime*. Hasil penelitian ini menunjukkan hasil yang bertolak belakang dengan penelitian yang dilakukan oleh Yazid *et al.* [20]. Yazid *et al.* [20] menemukan bahwa

*Bifidobacterium* mempunyai sifat yang sensitif terhadap *Tobramycin*.

TABEL IX  
RESISTENSI ANTIBIOTIKA PADA *BIFIDOBACTERIUM*  
YANG DIISOLASI DARI KEFIR DAN YOGURT

Antibiotik	Jumlah isolat yang resisten (%)
Ceftazidime (Caz)	12/12 (100%)
Ceftriaxone (Cro)	12/12 (100%)
Lincomycin (Li)	12/12 (100%)
Rifampicin (Rd)	12/12 (100%)
Sulphamethoxazole-Trimethoprim (Sxt)	6/12 (50%)
Tobramycin (Tob)	12/12 (100%)

Beberapa isolat dalam penelitian ditemukan bersifat sensitif terhadap *Sulphamethoxazole-Trimethoprim* (Sxt). Akan tetapi *Bifidobacterium* tampak cenderung bersifat resisten terhadap antibiotik tersebut. Menurut beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Bifidobacterium* bersifat resisten terhadap *Sulphamethoxazole-Trimethoprim* [21].

TABEL XI  
ANTIBIOGRAM DAN MAR INDEX PADA *BIFIDOBACTERIUM*  
YANG DIISOLASI DARI KEFIR DAN YOGURT

No	Isolat	Asal	Jumlah isolat	Antibiogram	MAR
1	YK2, YK3, YS1, KK1, KK3	F dan R	5	CazCroLiRd SxtTob	1
2	YK4, YS2, KK2	F dan R	3	CazCroLi RdTob	0.83
	YK1	F	1	CazCroLiRd SxtTob	0.83
3	YK5, PL1, PL2	R	3	CazCroLiRd Tob	0.83

Ket : *Sulphamethoxazole-Trimethoprim* (Sxt), *Ceftriaxone* (Cro), *Ceftazidime* (Caz), *Tobramycin* (Tob), *Lincomycin* (Li), *Rifampicin* (Rd), F (kefir), R (yogurt)

Sifat resistensi terhadap antibiotik melibatkan perubahan genetik yang bersifat stabil dan diturunkan dari satu generasi ke generasi lainnya, dan setiap proses yang menghasilkan komposisi genetik bakteri seperti mutasi DNA yang menyebabkan timbulnya sifat resisten tersebut [22]. Penyebaran sifat resisten secara cepat dan luas dapat terjadi di antara spesies bakteri yang sama maupun yang berbeda, bahkan juga di antara genus yang berbeda melalui perantaraan plasmid (faktor R). Pada resistensi



dengan perantaraan plasmid, mikroorganisme mendapatkan kemampuan tambahan dalam bentuk produksi enzim dan pada mutasi terjadi perubahan struktur di dalam sel bakteri [23].

Pada Tabel II dapat dilihat bahwa jika hasil ( $MAR \geq 0,2$ ) maka sampel semakin tinggi terpapar antibiotik, sebaliknya jika hasil ( $MAR \leq 0,2$ ) maka resiko terpaparnya resistensi antibiotik semakin rendah. Resistensi MAR pada bakteri paling sering dikaitkan dengan keberadaan plasmid yang mengandung satu atau lebih gen resistensi. Beberapa resistensi antibiotik (MAR) telah terbukti menjadi metode yang efektif dan valid dari pencarian sumber bakteri. Indeks MAR dihitung sebagai rasio jumlah antibiotik resisten dari organisme yang terpapar oleh antibiotik [24].

## VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. KESIMPULAN

Antibiogram yang paling banyak dijumpai pada *Bifidobacterium* adalah *CazCroLiRdSxtTob* ( $n=5$ ) dengan MAR index yang bervariasi dari 0.83 sampai 1.

### B. SARAN

Perlu upaya pencegahan terjadinya transfer resistensi antibiotika secara horizontal antara *Bifidobacterium* dan bakteri lain

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Kemenritekdikti atas pendanaan yang diberikan pada penelitian ini melalui skema Penelitian Fundamental.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. Rosander, E. Connolly, dan S. Roos, Removal of antibiotic resistance gene-carrying plasmids from *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 and characterization of the resulting daughter strain, *L. reuteri* DSM 17938. *Applied and environmental microbiology*, 2008. 74(19), 6032-6040.
- [2] V. Vankerckhoven, G. Huys, M. Vancanneyt, C. Vael, I. Klare, M.-B Romond, J.M. Entenza, P. Moreillon, R.D. Wind, J. Knol, E. Wiertz, B. Pot, E.E. Vaughan, G. Kahlmeter, H. Goossens, Biosafety assessment of probiotics used for human consumption: recommendations from the EUPROSAFE project. *Trends Food Sci. Technol.* 2008. 19:102-114.
- [3] M. Ventura, C. Canchaya, A. Tauch, G. Chandra, K. Chater, G.F. Fitzgerald, dan D. Van Sinderen. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2007.71:495-548.
- [4] R. Lamendella, J.W. Santo Domingo, C. Kelty, dan D.B. Oerther, *Bifidobacteria in feces and environmental waters*. Appl. Environ. Microbiol. 2008.74:575-584
- [5] Makino, Hiroshi, Akira Kushiro, Eiji Ishikawa, Hiroyuki Kubota, Agata Gawad, Takafumi Sakai, Kenji Oishi et al. "Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota." *PLoS one* 8, 2013. no. 11: e78331.
- [6] B.L. Maidak, J.R. Cole, T.G. Lilburn, C.T. Parker, P.R. Saxman, R.J. Farris, G.M. Garrity, G.J. Olsen, T.M.

- [7] Schmidt, dan J.M. Tiedje, *The RDP-II (Ribosomal Database Project)*. *Nucleic Acids Res.* 2001. 29:173-174.
- [8] M.L. Marco, S. Pavan, dan M. Kleerebezem, *Towards understanding molecular modes of probiotic action*. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2006. 17:204-210
- [9] A. Sapkota, A.R. Sapkota, M. Kucharski, J. Burke, S. McKenzie, P. Walker, dan R. Lawrence, Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. *Environment International* 2008. 34, 1215-1226.
- [10] P.H. Serrano. Responsible use of antibiotics in aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No. 469, Food and Agriculture Organization of The United Nation, Rome, Italy, pp. 1-10. 2005
- [11] K. Kümmerer, K., dan A. Henninger. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluents. *Clinical Microbiology and Infections*, 2003. 1203-1214.
- [12] J.L. Martinez. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental pollution*, 2009. 157: 2893-2902.
- [13] S.B. Levy, dan B. Marshall. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*, 2004. 10 (Suppl): S122-S129
- [14] A.M. Sefton. Mechanisms of antimicrobial resistance. *Drugs*, 2002. 62: 557-566.
- [15] A.J. Alanis. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Archives of medical research*, 2005, 36: 697-705.
- [16] G.A. Jacoby dan L.S. Munoz-Price. The new  $\beta$ -lactamases. *The New England Journal of Medicine*, 2005. 352: 380-391.
- [17] CLSI. 2010. "Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Informal Supplement". Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, 2010.
- [18] P.H. Krumperman. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 1983. 46(1), 165-170.
- [19] M.R. D'Aimmo, M. Modesto, B. Biavati, Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. *International journal of food microbiology*, 2007, 115(1), 35-42
- [20] W.P. Charteris, P.M. Kelly, L. Morelli, L., dan J.K. Collins. Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *Journal of applied microbiology*, 1998, 84(5), 759-768.
- [21] A.M. Yazid, A.M. Ali, M. Shuhaimi, V. Kalaivaani, M.Y. Rokiah, A. Reezal. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *Letters in applied microbiology*, 2002. 31(1), 57-62.
- [22] L. Masco, K. Van Hoorde, E. De Brandt, J. Swings, dan G. Huys, Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium* strains from humans, animals and probiotic products. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2006. 58(1), 85-94.
- [23] M.A. Webber, V. Ricci, R. Whitehead, M. Patel, M. Fookes, A. Ivens, dan L.J.V. Piddock. "Clinically relevant mutant DNA gyrase alters supercoiling, changes the transcriptome, and confers multidrug resistance." *MBio* 4, 2013. no. 4: e00273-13.
- [24] C. Pál, B. Papp, M.J. Lercher. Adaptive evolution of bacterial metabolic networks by horizontal gene transfer. *Nature genetics*, 2005. 37(12), 1372-1375.
- [25] O.O. Osundiya, R.O. Oladele, O. O.Oduyebo. (2013). Multiple antibiotic resistance (MAR) indices of *Pseudomonas* and *Klebsiella* species isolates in Lagos University Teaching Hospital. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 2013. 14(3), 164-168.