

Respon Galur *Leuconostoc mesenteroides* dan *Weissella confusa* terhadap pH Kondisi Pertumbuhan Menggunakan Antibiotik sebagai Indikator

(Response of *Leuconostoc mesenteroides* and *Weissella confusa* strains on pH of Growth Condition using Antibiotics as Indicator)

DEWI PUSPITA, RIZKI AYU AMALIA, AMARILA MALIK*

**Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi
Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Kampus UI Depok, Depok, 16424.**

Diterima 8 September 2012 , Disetujui 28 September 2013

Abstrak: Bakteri asam laktat diketahui berkontribusi dalam kesehatan manusia sebagai penghasil eksopolisakarida, vaksin hidup, *starter* kultur dalam proses fermentasi dan sebagai probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati respon galur *Leuconostoc mesenteroides* dan *Weissella confusa* di bawah kondisi komposisi sumber karbon dan pH yang termanipulasi dan dengan menggunakan indikator berbagai antibiotika. Media yang digunakan adalah MRS dan MRS termodifikasi (konsentrasi dekstrosa 50% dari normal). Modifikasi pH dilakukan pada kondisi asam (pH 4,6) dan basa (pH 9,0). Metode yang digunakan adalah difusi cakram menggunakan enam jenis antibiotik. Hasil menunjukkan bahwa semua galur dapat tumbuh di medium MRS + asam dan cenderung lebih sensitif terhadap amoksisilin (Am), kloramfenikol (Ch) dan polimiksin B (PoB), tetapi lebih resisten terhadap siprofloksasin (Ci). Dalam MRS termodifikasi + asam, galur cenderung menjadi lebih sensitif terhadap Am, Ch, Ci, dan PoB. Ketika ditumbuhkan pada MRS termodifikasi + basa, respon semua galur menjadi lebih sensitif terhadap Am, Ci, dan PoB, tetapi lebih resisten terhadap Ch, sedangkan dalam MRS termodifikasi + basa responnya menjadi lebih resisten terhadap Am dan Ch tetapi lebih sensitif terhadap Ci dan PoB. Kebanyakan galur tidak menunjukkan zona inhibisi terhadap vankomisin dan pada kondisi yang digunakan tersebut tidak satu galur pun menunjukkan zona inhibisi terhadap sulfametoksazol-trimetoprim.

Kata kunci: bakteri asam laktat, respon pertumbuhan, *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella confusa*, antibiotik, MRS asam, MRS basa.

Abstract: Lactic acid bacteria is known to contribute to human health as exopolysaccharide producer, bacteriocin producer, live vaccins, starter in fermentation process and as probiotics. This study aimed to observe *Leuconostoc mesenteroides* and *Weissella confusa* strains response under manipulated growth condition for carbon source composition and on pH as a model, using various antibiotics as indicator. MRS and modified MRS (50% normal dextrose concentration) were used. Modification of pH representing acidic and alkaline condition were 4.6 and 9.0. Disc diffusion method was employed using six different antibiotics. Result showed that all strains grown in acidic standard MRS tend to be more sensitive to amoxicillin (Am), chloramphenicol (Ch) and polymyxin B (PoB), but more resistant to ciprofloxacin (Ci), while in the acidic modified MRS, the strains respond more sensitive to Am, Ch, Ci and PoB. When grown in alkaline standard MRS, all strains respond more sensitive to Am, Ci and PoB, but more resistant to Ch, while in alkaline modified MRS, they respond more resistant to Am and Ch but more sensitive to Ci and PoB. Most of the strains did not show inhibition against vancomycin and none of strains showed inhibition against sulphamethoxazole-trimethoprim under conditions applied.

Key words: lactic acid bacteria, growth response, *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella confusa*, antibiotic, acidic modified MRS, alkaline modified MRS.

* Penulis korespondensi, Hp. 0816751775
e-mail: amarila.malik@ui.ac.id

PENDAHULUAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) telah banyak diteliti dan telah banyak pula digunakan dalam berbagai sediaan fermentasi dan probiotik. BAL juga telah dilaporkan potensial sebagai penghasil biopolimer eksopolisakarida, peptida antimikroba bakteriosin dan penggunaannya yang semakin populer sebagai *live-vaccine*. BAL yang memiliki kemampuan adaptasi tinggi terhadap kondisi lingkungan sangat diutamakan dalam memperoleh galur-galur unggul.

BAL termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin. Oleh karenanya, BAL termasuk dalam *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme *Generally Recognized As Safe* (GRAS). Metabolit BAL yang diproduksi mempunyai efek antimikroba, termasuk diantaranya adalah asam laktat, asam organik, asam lemak, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin⁽¹⁾.

Namun, dibalik keuntungan yang diberikan oleh BAL, ternyata bakteri tersebut mempunyai potensi yang merugikan, yaitu sebagai inang dari gen resisten antibiotik melalui transfer gen pada BAL dan bakteri patogen lainnya⁽²⁾.

Perkembangan resistensi antibiotik pada bakteri didasarkan pada dua faktor, yaitu adanya gen resisten dan *selective pressure* dengan penggunaan antibiotik⁽²⁾. Untuk mengatasi hal tersebut, maka dicari alternatif pemecahan masalah dengan cara mempelajari mekanisme respons pada bakteri. Tekanan akibat panas (*heat pressure*) telah dilaporkan menyebabkan peningkatan toleransi BAL terhadap pH dan etanol, selain itu inkubasi pada suhu dingin dan dalam medium mengandung laktosa sebagai sumber karbon juga dilaporkan telah meningkatkan kemampuan *survival* terhadap perlakuan pembekuan (*freeze-thawing*) dan pengering-bekuan (*freeze-drying*)⁽³⁾.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons bakteri asam laktat terhadap manipulasi kondisi tumbuhnya dengan parameter pH medium dengan menggunakan beberapa antibiotik sebagai indikator. Dalam penelitian ini digunakan galur *Leuconostoc mesenteroides* dan *Weissella confusa* serta sebagai galur acuan adalah *L. mesenteroides* JCM 6124 (turunan dari ATCC 8293) sebagai model. Setelah didapatkan hasil, selanjutnya akan dipelajari secara molekular dengan analisis transkriptomik. Karakter lengkap terhadap respons adaptif dan proteksi silang beserta studi molekularnya akan sangat berguna saat BAL dikembangkan untuk dimanfaatkan di industri.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bakteri yang digunakan adalah *L. mesenteroides* dan *W. confusa* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari kultur stok beku BAL koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Fakultas Farmasi UI dari penelitian sebelumnya^(4,5,6) yang telah teridentifikasi secara molekular dengan 16S rDNA sebagaimana tercantum pada Tabel 1. Galur acuan *L. mesenteroides* JCM 6124 (turunan dari ATCC 8293) merupakan pemberian Prof. N. Ogasawara, Division of Bioinformatics and Genomics, Graduate School of Information Science, Nara Institute of Science and Technology (NAIST), Jepang; galur tersebut sudah memiliki data DNA genomik lengkap.

Tabel 1. Galur *Leuconostoc mesenteroides* dan *Weissella confusa* yang digunakan.

No.	Identitas galur*
1.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> MBF2-2
2.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> MBF3-1
3.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> MBF7-5
4.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> MBF9-2
5.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> MBF11-2
6.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> MBFWRS-6
7.	<i>Weissella confusa</i> MBF8-2
8.	<i>Weissella confusa</i> MBF8-1
9.	<i>Weissella confusa</i> MBFCNC-2(1)

Medium yang digunakan adalah medium Nutrient Agar (Difco) dan MRS (de Man Rogosa Sharpe)⁽⁷⁾. Medium MRS dibuat sebagai berikut: pepton 2,5 g, LAB-Lemco 2 g, ekstrak khamir 1 g, dikalium hidrogen fosfat 0,5 g, natrium asetat 1,25 g, amonium sitrat 0,5 g, magnesium sulfat 0,05 g dan mangan sulfat 0,0125 g. Semua bahan dimasukkan ke dalam labu bulat. Setelah itu ditambahkan air suling secukupnya dan dilarutkan dengan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, ditambahkan 0,125 mL (\pm 2-3 tetes) tween 80 dan diaduk kembali hingga homogen dengan pengaduk bermagnet di atas pemanas listrik. Larutan medium ini diatur hingga pH 6,3, kemudian volumenya dicukupkan dengan air suling hingga 125 mL. Larutan medium ini diaduk kembali hingga homogen dengan pengaduk bermagnet di atas pemanas listrik. Sementara itu, dekstrosa ditimbang sebanyak 5 g kemudian dilarutkan dengan 125 mL air suling di dalam labu bulat. Masing-masing disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada 121°C. Sesaat akan digunakan, sebanyak masing-masing 1 bagian

dicampur dalam keadaan hangat. Medium MRS dan dekstrosa tersebut disiapkan dalam tabung-tabung gelas dengan volume yang siap untuk dituang ke cawan Petri.

Antibiotik yang digunakan adalah amoksisilin (25 µg/cakram), kloramfenikol (30 µg/cakram), vankomisin (30 µg/cakram), polimiksin B (300 IU), siprofloksasin (5 µg/cakram), dan sulfametoksazol-trimetoprim (25 µg/cakram). Antibiotik berupa cakram (*antibiotic susceptibility test disc* dari Oxoid).

Modifikasi dekstrosa dan pH medium. Kondisi manipulasi adalah sebagai berikut: medium agar MRS pH 4,6 (asam) dan pH 9,0 (basa) dan medium modifikasi adalah MRS namun dengan penggunaan dekstrosa hanya 50% dari resep.

Penyiapan inokulum dan kultur uji. Kultur-kultur *L. mesenteroides* dan *W. confusa* masing-masing ditumbuhkan pada medium cair MRS dan MRS modifikasi kemudian diinkubasi pada suhu 32°C selama 18-24 jam. Inokulum induk tersebut diukur OD (*optical density*)-nya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm (OD₆₀₀). Konsentrasi inokulum induk yang akan diinokulasikan pada medium MRS standar dan MRS modifikasi dengan berbagai pH ditentukan berdasarkan nilai OD₆₀₀ kemudian setelah diinokulasikan diinkubasi pada suhu 32°C selama 18-24 jam. Setelah OD₆₀₀ diukur kembali dilakukan uji kepekaan bakteri terhadap antibiotik.

Uji efek modifikasi pH menggunakan antibiotik sebagai indikator. Nutrient Agar (NA) digunakan sebagai *base layer*. Inokulum uji bakteri *L. mesenteroides* dan *W. confusa* ditambahkan ke dalam medium *seed layer* pada saat suhu medium sudah tidak terlalu panas, kemudian dituangkan ke atas *base layer*. Setelah memadat, cakram antibiotik diletakkan pada permukaan medium, kemudian didiamkan 1 jam, selanjutnya diinkubasi pada suhu 32°C selama 21 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan jangka sorong. Pengujian ini dilakukan tiga kali ulangan. Pengamatan zona hambat dilakukan dengan membandingkan hasil antara medium MRS standar dengan MRS modifikasi untuk masing-masing kondisi pH.

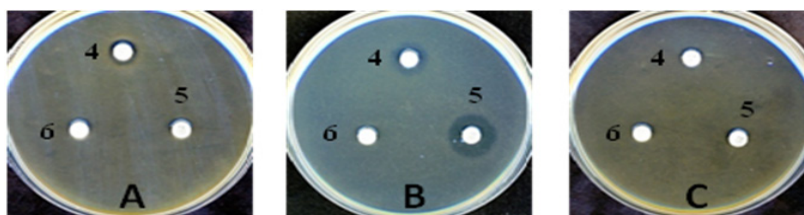
Analisis data. Data uji kepekaan diolah secara statistik untuk mengetahui kecenderungan respon *L. mesenteroides* dan *W. confusa* yang signifikan terhadap antibiotik pada kondisi standar dan kondisi modifikasi menggunakan program SPSS 16.0. Ho = data respon antara medium standar dengan modifikasi tidak berbeda secara signifikan dan H1 = data respon antara medium standar dengan modifikasi berbeda secara signifikan. Uji statistik yang digunakan adalah uji T sampel berpasangan (*paired samples T-test*) dengan level signifikansi 0,025 (analisis *2-tailed* dengan tingkat kepercayaan 97,5%) dengan kriteria pengujian Ho ditolak jika level signifikansi kurang dari 0,025. Sebelum dianalisis dengan uji T sampel berpasangan, data pengamatan zona hambat dianalisis dengan uji Kolmogorof-Smirnov (dengan level signifikansi 0,025) untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak⁽⁸⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi manipulasi yang diterapkan pada penelitian ini adalah pH yaitu pH 4,6 (asam) dan pH 9,0 (basa) serta kondisi pH 6,3 sebagai pH standar MRS, dengan waktu inkubasi 21 jam berdasarkan penelitian pendahuluan untuk mengetahui kemampuan tumbuh BAL yang digunakan dan masih terbentuknya zona hambat terhadap antibiotik. BAL digolongkan sebagai bakteri neutrofil⁽⁹⁾, bukan merupakan bakteri asidofil yang mampu hidup pada pH kurang dari 2 dan juga bukan merupakan bakteri alkalofil yang mampu hidup pada pH lebih dari 10⁽¹⁰⁾.

Modifikasi lainnya dilakukan dengan pengurangan konsentrasi salah satu komponen medium MRS, yaitu dengan mengurangi konsentrasi pepton dan dekstrosa masing-masing sebanyak 50%. Namun pengurangan pepton tidak menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antara kondisi standar dan modifikasi.

Hasil pengamatan zona hambat terhadap 10 galur bakteri yang digunakan secara umum menunjukkan adanya perbedaan respon sebagaimana ditampilkan pada Tabel 2. Galur *W. confusa* MBF8-1 tidak dimasukkan dalam perhitungan statistik karena tidak memberikan hasil pada kondisi pH asam terhadap



Gambar 1. Zona hambat galur-galur *Weissella*, A adalah MBFCNC-2⁽¹⁾, B adalah MBF8-1 dan C adalah MBF8-2, cakram nomor 4 adalah siprofloksasin; 5. polimiksin B; 6. sulfametoksazol- trimetoprim.

Keterangan: * = Galur-galur tersebut telah diidentifikasi secara molekuler dengan 16S rDNA^(4,5,6).

Tabel 2. Hasil analisis data respon galur *L. mesenteroides* dan *W. confusa* terhadap antibiotik pada medium modifikasi pH.

Medium	Antibiotik	pH asam ¹ (4,6) (signifikansi ²)	pH basa ¹ (9,0) (signifikansi ²)
MRS standar	Amoksisilin	+ (4,09x10 ⁻⁵)	+ (0,2351)
	Kloramfenikol	+ (0,1432)	+ (0,1615)
	Vankomisin	*	*
	Siprofloksasin	- (0,0291)	+ (0,0227)
	Polimiksin B	+ (0,4366)	+ (0,0064)
	Sulfametoksazol-trimetoprim	*	*
MRS modifikasi	Amoksisilin	- (0,7453)	- (0,2343)
	Kloramfenikol	- (0,9311)	- (0,4764)
	Vankomisin	*	*
	Siprofloksasin	*	+ (0,0499)
	Polimiksin B	*	+ (0,0083)
	Sulfametoksazol-trimetoprim	*	*

Keterangan : 1. Ukuran zona hambat relatif terhadap pH 6,3; + = bertambah; - = berkurang; 2. signifikansi sebagai hasil analisis uji T sampel berpasangan dengan level signifikansi < 0,025; *: tidak dilakukan analisis statistik.

beberapa kondisi manipulasi. Namun galur ini memberikan respon menarik terhadap antibiotik Polimiksin B pada medium MRS standar pada pH asam dimana pada umumnya galur-galur tidak memberikan hasil zona hambat sebesar MBF8-1 (Gambar 1). Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut berdasarkan mekanisme molekuler dan ekspresi gennya.

Pada medium MRS standar dan MRS modifikasi dengan perlakuan kondisi pH basa menunjukkan perluasan diameter zona hambat. Namun terdapat pula respon berupa pengurangan diameter zona hambat, baik pada kondisi pH asam maupun basa. Pada medium MRS modifikasi pH 6,3 menunjukkan perluasan zona hambat yang signifikan dibandingkan dengan MRS standar pH standar.

Antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak enam antibiotik, yaitu amoksisilin, kloramfenikol, vankomisin, siprofloksasin, polimiksin B dan sulfametoksazol-trimetoprim, dipilih untuk mewakili lima mekanisme kerja antibiotik. Antibiotik tersebut juga dipilih karena merupakan antibiotik yang telah banyak digunakan. Selain itu, resistensi *L. mesenteroides* dan *W. confusa* yang signifikan terhadap vankomisin telah dilaporkan^(11,12), sehingga pada penelitian ini diuji untuk mengetahui apakah ada perubahan respon jika dikondisikan pada medium yang dimanipulasi.

Cakram antibiotik yang digunakan mempunyai konsentrasi yang berbeda-beda, yang merupakan konsentrasi standar pada uji kepekaan terhadap antibiotik dengan metode Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), yaitu amoksisilin (25 µg/

cakram), kloramfenikol (30 µg/cakram), vankomisin (30 µg/cakram), siprofloksasin (5 µg/cakram), sulfametoksazol-trimetoprim (25 µg/cakram) dan polimiksin B (300 IU).

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah MRS standar dan MRS modifikasi. MRS modifikasi merupakan medium MRS yang dimodifikasi dengan mengurangi konsentrasi dekstrosa sebanyak 50 %. Dengan pengurangan sumber karbon tampak respon adaptif menjadi lebih signifikan (Tabel 3).

Dari hasil analisis statistik dengan uji T sampel berpasangan, respon *L. mesenteroides* dan *W. confusa* terhadap amoksisilin berupa perluasan diameter zona hambat secara signifikan pada medium MRS standar pH asam ($\alpha = 4,09 \times 10^{-5}$), sedangkan pada medium MRS standar pH basa tidak berbeda secara signifikan ($\alpha = 0,7453$). Pada medium MRS modifikasi pH asam dan basa, respon *L. mesenteroides* dan *W. confusa* terhadap amoksisilin tidak berbeda secara signifikan dibandingkan pada medium MRS modifikasi pH standar ($\alpha = 0,2351$ dan $0,2343$). Respon *L. mesenteroides* dan *W. confusa* pada medium MRS standar pH asam dibandingkan dengan respon pada medium MRS modifikasi pH asam tidak berbeda secara signifikan ($\alpha = 0,5762$), sedangkan respon pada MRS standar pH standar dan basa dibandingkan dengan MRS modifikasi pH standar dan basa menunjukkan perbedaan yang signifikan berupa perluasan diameter zona hambat ($\alpha = 1,15 \times 10^{-6}$ dan $0,0062$).

Respon terhadap kloramfenikol pada medium MRS standar dan MRS modifikasi pH asam menunjukkan perluasan diameter zona hambat dan pada pH basa

Tabel 3. Hasil analisis data respon galur *L. mesenteroides* dan *W. confusa* terhadap antibiotik pada medium modifikasi.

Antibiotik	Asam ¹ (signifikansi ²)	Standar ¹ (signifikansi ²)	Basa ¹ (signifikansi ²)
Amoksisilin	+ (0,5762)	+ (1,15x10 ⁻⁶)	+ (0,0062)
Kloramfenikol	- (0,7927)	+ (9,66x10 ⁻⁵)	+ (0,0900)
Vankomisin	*	*	*
Siprofloksasin	*	+ (1,92x10 ⁻⁵)	+ (0,0081)
Polimiksin B	*	+ (2,74x10 ⁻⁴)	+ (0,0019)
SMX-TMP	*	*	*

Keterangan: 1. Ukuran zona hambat, + = bertambah; - = berkurang; 2. Signifikansi sebagai hasil analisis uji T sampel berpasangan dengan level signifikansi < 0,025; *: tidak dilakukan analisis statistik; SMX-TMP: Sulfametoksazol-Trimetoprim.

menunjukkan pengurangan diameter zona hambat, namun tidak berbeda secara signifikan. Respon *L. mesenteroides* dan *W. confusa* pada medium MRS standar pH standar dibandingkan dengan medium MRS modifikasi pH standar menunjukkan perbedaan yang signifikan ($\alpha = 9,66 \times 10^{-5}$), sedangkan pada pH asam dan basa tidak berbeda secara signifikan. Sebagian besar spesies *Leuconostoc* diketahui peka terhadap kloramfenikol⁽¹³⁾, namun pada kondisi pertumbuhan yang dimanipulasi terjadi respon adaptif yang menyebabkan bakteri menjadi lebih sensitif terhadap kloramfenikol.

L. mesenteroides dan *W. confusa* menunjukkan respon terhadap siprofloksasin berupa perluasan diameter zona hambat yang signifikan ($\alpha = 0,0227$) pada medium MRS standar pH basa dibandingkan dengan MRS standar pH standar, sedangkan pada MRS standar pH asam menunjukkan pengurangan diameter zona hambat yang tidak berbeda secara signifikan ($\alpha = 0,0291$). Pada medium MRS modifikasi pH basa, *L. mesenteroides* dan *W. confusa* memberikan respon berupa perluasan zona hambat namun tidak berbeda secara signifikan ($\alpha = 0,0499$). Sedangkan pada pH asam tidak terbentuk zona hambat, sehingga tidak dapat dilakukan analisis secara statistik.

Hampir sama dengan pada siprofloksasin, *L. mesenteroides* dan *W. confusa* menunjukkan respon terhadap polimiksin B berupa perluasan diameter zona hambat yang signifikan ($\alpha = 0,0064$) pada medium MRS standar pH basa dibandingkan dengan MRS standar pH standar, sedangkan pada MRS standar pH asam perluasan diameter zona hambat tidak berbeda secara signifikan ($\alpha = 0,4366$). Pada medium MRS modifikasi, *L. mesenteroides* dan *W. confusa* memberikan respon yang berbeda secara signifikan pada basa dibandingkan dengan pH standar ($\alpha = 0,0083$), sedangkan pada pH asam tidak terbentuk zona hambat, sehingga tidak dapat dilakukan analisis secara statistik.

Sebagian besar spesies *Leuconostoc* diketahui mempunyai potensi resisten terhadap asam nalidixat⁽¹³⁾, yaitu suatu prototip golongan quinolon yang kemudian menghasilkan berbagai senyawa turunan lainnya, salah satunya adalah siprofloksasin⁽¹⁴⁾. Respon *L. mesenteroides* dan *W. confusa* terhadap siprofloksasin dan polimiksin B pada MRS standar dibandingkan dengan MRS modifikasi menunjukkan perbedaan yang signifikan pada pH standar dan basa. Pada medium MRS modifikasi pH asam, respon *L. mesenteroides* dan *W. confusa* terhadap siprofloksasin dan polimiksin B menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat. Hal ini mungkin karena adanya regulasi respon dari bakteri tersebut yang menyebabkan bakteri mempunyai pertahanan diri melawan kondisi stress terhadap lingkungan asam.

Respon *L. mesenteroides* dan *W. confusa* terhadap sulfametoksazol-trimetoprim menunjukkan tidak terbentuknya zona hambat pada MRS standar dan MRS modifikasi, baik pH standar maupun asam. Sedangkan pada MRS standar pH basa dan MRS modifikasi pH basa terbentuk zona hambat parsial. Oleh karena itu tidak dilakukan analisis secara statistik. Sebagian besar spesies *Leuconostoc* diketahui mempunyai potensi resisten terhadap trimetoprim⁽¹³⁾.

Dari keenam antibiotik yang diuji, terdapat satu antibiotik yang tidak menghasilkan zona hambat baik pada kondisi medium pertumbuhan standar maupun yang dimanipulasi, yaitu vankomisin. Sebagian besar spesies *Leuconostoc* diketahui resisten secara intrinsik terhadap antibiotik golongan glikopeptida, namun mekanisme resistensinya belum secara jelas diketahui. Selain *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan beberapa spesies *Lactobacillus* juga resisten secara intrinsik terhadap senyawa glikopeptida⁽¹²⁾. Karena tidak ada zona hambat yang terbentuk dari antibiotik vankomisin, maka tidak diperoleh data untuk dilakukan analisis secara statistik.

Galur *L. mesenteroides* dan *W.confusa* ketika ditumbuhkan pada medium MRS standar pH asam menunjukkan respon menjadi lebih sensitif terhadap amoksisilin, kloramfenikol dan polimiksin B namun menjadi lebih resisten terhadap siprofloksasin. Ketika ditumbuhkan pada medium MRS standar pH basa, *L. mesenteroides* dan *W. confusa* menunjukkan respon menjadi lebih sensitif terhadap amoksisilin, siprofloksasin dan polimiksin B namun menjadi lebih resisten terhadap kloramfenikol. Galur *L. mesenteroides* dan *W.confusa* ketika ditumbuhkan pada medium MRS modifikasi pH asam menunjukkan respon menjadi lebih resisten terhadap amoksisilin, kloramfenikol, siprofloksasin dan polimiksin B. Ketika ditumbuhkan pada medium MRS modifikasi pH basa, *L. mesenteroides* dan *W. confusa* menunjukkan respon menjadi lebih resisten terhadap amoksisilin dan kloramfenikol, namun menjadi lebih sensitif terhadap siprofloksasin dan polimiksin B.

Pada penelitian pendahuluan telah pula dilakukan pengujian respons BAL *L. mesenteroides* terhadap manipulasi medium pertumbuhannya menggunakan indikator antibiotik dengan membandingkan medium MRS dan CMG. Namun medium CMG kurang dapat memberikan gambaran kecenderungan respon adaptif sebagaimana MRS.

Galur *L. mesenteroides* dan *W. confusa* memberikan respon yang beragam pada kondisi medium yang berbeda-beda. Respon berupa perluasan atau pengurangan diameter zona hambat dapat disebabkan karena adanya hambatan pertumbuhan bakteri akibat perubahan kondisi lingkungan yang cenderung ekstrim berupa perubahan pH dan kurangnya sumber karbon dari gula.

Faktor pH pada medium dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Pada umumnya mikroorganisme sensitif terhadap perubahan keasaman karena ion hidrogen dan ion hidroksil merusak ikatan hidrogen dalam molekul protein dan asam nukleat. Oleh karena itu, setiap mikroorganisme mempunyai kisaran keasaman yang dapat ditoleransi⁽¹⁰⁾.

Kondisi asam yang ekstrim dapat menurunkan aktivitas beberapa transporter sehingga mengurangi ketersediaan substrat yang esensial. Oleh karena itu, kondisi stress secara tidak langsung dapat memicu malnutrisi atau kekurangan energi. Kondisi kekurangan energi atau elemen esensial ini dapat membahayakan viabilitas sel dalam jangka panjang⁽²⁾. *Lactobacilli* memiliki toleransi terhadap lingkungan basa yang berbeda-beda. Keanekaragaman ini bergantung pada toleransi metabolisme selular terhadap lingkungan basa⁽¹⁵⁾. Keasaman dan kebasaan medium tidak hanya mempengaruhi kemampuan bakteri untuk tumbuh, tapi juga berpengaruh terhadap aktivitas antibiotik.

Pengaruh pH terhadap antibiotik bisa berdampak pada penurunan aktivitas antibiotik. Hal ini disebabkan karena asam dan basa dapat berperan sebagai katalis dalam reaksi degradasi senyawa antibiotik⁽¹⁶⁾.

Galur bakteri pada penelitian ini berasal dari sumber yang berbeda-beda, sehingga gen yang terlibat dalam regulasi respon terhadap stress pun berbeda. Peranan gen yang terlibat dalam mekanisme stress respon di mikroba dan khususnya di kelompok BAL serta regulasinya secara aktual amat sangat berbeda antar spesiesnya. Selain itu, proteksi silang yang seringkali diinduksi oleh ekspresi respon adaptif tertentu juga memberi manfaat saat sel terpapar oleh berbagai kombinasi stress⁽³⁾. Saat ini penelitian lanjutan menggunakan teknologi *RNA-sequencing* terhadap RNA total BAL acuan *L. mesenteroides* JCM 6124 (turunan dari ATCC 8293) sedang dilakukan dan dalam tahap penyelesaian, sehingga penjelasan dari aspek molekular dapat didiskusikan.

SIMPULAN

Galur *L. mesenteroides* dan *W.confusa* menunjukkan respon pertumbuhan berupa adanya perubahan kepekaan terhadap antibiotik pada kondisi tumbuh yang berbeda, yaitu perubahan pH dan sumber karbon dekstroza. Respon yang terjadi berupa respon menjadi lebih sensitif terhadap antibiotik, namun ada yang menjadi lebih resisten dengan parameter perluasan/ pengecilan zona hambat. Hasil penelitian ini menunjukkan pentingnya penelitian lebih lanjut mengenai penyebab perbedaan respon secara molekular dengan analisis ekspresi gen secara transkriptomik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Riset Berbasis Laboratorium Universitas Indonesia Tahun Anggaran 2009 Nomor: 928 I/DRPM-UI/C/N1.4/2009 kepada AM. Terima kasih disampaikan kepada Profesor N. Ogasawara dan Dr. S. Ishikawa, *Division of Bioinformatics and Genomics, Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology (NAIST)*, Jepang, atas saran, ide dan diskusi ilmiah yang sangat bermanfaat. Terima kasih kepada Prof. M. Radji atas masukan yang sangat bermanfaat dan kepada C. A. Lianti atas bantuan teknisnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soomro AH, Masud T, Anwar K. Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human

- health—A review. Pakistan Journal of Nutrition. 2002: 20-42.
2. Mathur S, Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—A review. International Journal of Food Microbiology. 2005.105:281-95.
 3. Van de Guchte M, Serror P, Chervaux C, Smokvina T, Ehrlich S, Maguin E. Stress responses in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek. 2002. 82: 187-216.
 4. Malik A, Felicia, Radji M, Oetari A. Identifikasi bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida asal sumber lokal menggunakan gen penyandi 16S rRNA. Sains Indonesia. 2007.12:1-6.
 5. Malik A, Radji M, Kralj S, Dijkhuizen L. Screening of lactic acid bacteria from Indonesia reveals glucansucrase and fructansucrase genes in two different *Weissella confusa* strains from soya. FEMS Microbiol Lett; 2009. 300:131-8.
 6. Malik A, Hermawati AK, Hestiningtyas M, Soemiati A, Radji M. Isolasi dan skrining molekuler bakteri asam laktat pembawa gen glukansukrase dari makanan dan minuman mengandung gula. Makara (Sains). 2010.14:57-62.
 7. De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. J Appl Bacteriol.1960. 23:130-5.
 8. Trihendradi C. Step by step SPSS 16 analisis data statistik. Yogyakarta: Penerbit Andi; 2009.
 9. Hutkins RW, Nannen NL. pH homeostasis in lactic acid bacteria. Journal of Dairy Sciences. 1993.76: 2354-65.
 10. Bauman RW. Microbiology. San Fransisco: Pearson Benjamin Cummings; 2004. 168, 174, 188-9.
 11. Vela AI, Porrero C, Goyache J, Nieto A, Sanchez B, Briones V, Moreno MA, Dominguez L, Fernandez-Garayzabal JF. *Weissella confusa* infection in primate (*Cercopithecus mona*). Emerging Infectious Diseases. 2003.9:1307-9.
 12. Handwerker S, Pucci M, Volk K, Liu J, Lee M. Vancomycin-resistant *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus casei* synthesize cytoplasmic peptidoglycan precursors that terminate in lactate. Journal of Bacteriology. 1994.176:260-4.
 13. Ammor MS, Florez AB, Mayo B. Antibiotic resistance in non-Enterococcal lactic acid bacteria and Bifidobacteria. Food Microbiology. 2007.24: 559-70.
 14. Setiabudy R. Golongan kuinolon dan fluorokuinolon. In: Gunawan SG, Setiabudy R, editors. Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik; 2007. 718-22.
 15. Sawatari Y, Yokota A. Diversity and mechanisms of alkali tolerance in *Lactobacilli*. Applied and Environmental Microbiology; 2007.73:3909-15.
 16. Yoshiok S, Stella VJ. Stability of drugs and dosage forms. New York: Kluwer Academic; 2002.