

POTENSI *Lactobacillus* sp. YANG DIISOLASI DARI SUSU KUDA SUMBAWA DALAM MENGONTROL *Candida albicans* PENYEBAB KANDIDIASIS

Sasmitha, I. M. A¹, Ramona, Y², Yustiantara, P. S¹.

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

²UPT. Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana

Korespondensi: I Made Arya Sasmitha

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837

Email : aryasasmitha90@gmail.com

ABSTRAK

Kandidiasis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Sampai saat ini, pengobatan kandidiasis bergantung pada penggunaan antibiotik yang diperlakukan per oral atau topikal. Sebagai alternatif terapi, beberapa peneliti menyarankan penggunaan probiotik, sehingga penggunaan antibiotik dapat dikurangi. Penelitian ini dimulai dengan pengamatan aktivitas antagonis BAL (Bakteri asam laktat) terhadap *C. albicans* (agen penyebab Kandidiasis) secara *in vitro* diikuti oleh elusidasi mekanisme yang dilakukan oleh BAL dalam menghambat *C. albicans*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiga isolat BAL (*Lactobacillus* SMM 33, SMM 44, dan SMM 49) menghambat pertumbuhan *C. albicans* dalam *dual culture assay* dengan berbagai tingkat hambatan. Dalam uji-uji lebih lanjut, isolat *Lactobacillus* SMM 44, dan SMM 49 diketahui menghambat *C. albicans* melalui produksi bakteriosin. Uji *susceptibility* menunjukkan kedua isolat ini resisten terhadap metronidazol, Hal ini mengindikasikan bahwa kedua isolat tersebut dapat digunakan secara sinergis dengan antibiotik untuk terapi infeksi yang disebabkan oleh *C. albicans*.

Kata kunci : Probiotik, *Candida albicans*, bakteriosin, metronidazol

1. PENDAHULUAN

Kandidiasis merupakan infeksi yang disebabkan oleh jamur dari genus *Candida albicans* (Wahyuningsih 2012). Timbulnya infeksi dapat bervariasi seperti akut, subakut atau kronis ke episodik akibat tingkat kekambuhannya yang tinggi. Infeksi kandida dapat terjadi pada sebagian besar tubuh antara lain mulut, tenggorokan, kulit, kepala, vagina, jari-jari tangan, kuku, saluran pernafasan, saluran pencernaan, dan mungkin menjadi infeksi sistemik seperti septikemia, endokarditis dan meningitis (Suyoso, 2011). Saat ini terapi terhadap penderita kandidiasis umumnya masih mengandalkan antibiotik yang diaplikasikan per oral atau topikal. KV umumnya diterapi dengan metronidazol, itrakonazol dan flukonazol (golongan azol) atau nistatin (golongan polien) sebagai *Evidence Based Medicine* (terapi dengan bukti ilmiah) yang dianjurkan oleh tenaga medis di Indonesia pada penderita kandidiasis (Price dan Wilson, 2002; Tjay dan Rahardja, 2007; Depkes RI, 2007).

Pendekatan lain untuk terapi KV yang mulai banyak dipelajari adalah pemanfaatan probiotik. Probiotik merupakan mikroba yang bermanfaat dapat memperbaiki keseimbangan mikrobial pada tubuh manusia (BPOM, 2002). Probiotik dapat membantu mengurangi infeksi kandidiasis sebagai upaya pencegahan atau pengobatan yang bersinergi dengan pemanfaatan antibiotik. Salah satu genus bakteri asam laktat yang banyak digunakan sebagai probiotik adalah *Lactobacillus*. Kelompok bakteri ini merupakan bakteri asam laktat (BAL) yang memiliki populasi tinggi sebagai flora normal vagina (Masood, *et al.* 2009). Bakteri ini berperan dalam menghasilkan asam laktat yang bermanfaat dalam mempertahankan keasaman (pH) vagina, sehingga keseimbangan flora dalam vagina dapat terjaga. Untuk menjaga populasi BAL di dalam vagina pemberian yogurt per oral sering dilakukan. Pemberian yogurt per oral setiap hari dilaporkan dapat membantu mengurangi insiden infeksi KV pada pasien yang sedang diterapi (Price dan Wilson, 2002).

Lactobacillus juga menunjukkan aktivitas antimikroba melalui produksi asam organik atau

Potensi *Lactobacillus* sp. yang Diisolasi dari Susu Kuda Sumbawa dalam Mengontrol *Candida albicans* Penyebab Kandidiasis (Sasmitha, I. M. A, Ramona, Y, Yustiantara, P. S)

produksi senyawa lain seperti bakteriosin atau peptida antijamur. Senyawa-senyawa tersebut dapat mencegah atau menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur yang bersifat patogen yang terdapat dalam vagina (Ahmadova, *et al.* 2013). Berdasarkan latar belakang diatas tersebut maka dilakukan uji untuk mengetahui potensi *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dari susu kuda Sumbawa sebagai terapi pendukung untuk mengendalikan kandidiasis.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Bahan hidup

Isolat BAL yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus* spp. yang diperoleh dari susu kuda Sumbawa. Isolat-isolat tersebut merupakan koleksi dari UPT Laboratorium Biosains dan Teknologi Universitas Udayana (UnudCC). Sementara itu isolat jamur *C. albicans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Nikki Medika Denpasar.

2.2 Metode

2.2.1 Uji Konfirmasi Isolat

Uji konfirmasi pada isolat *Lactobacillus* sp. dan *C. albicans* dilakukan untuk mengetahui kemurnian isolate-isolat tersebut. Pada *Lactobacillus* sp. dilakukan uji pewarnaan gram, uji mikroskopik, produksi gas dan uji katalase. Sedangkan pada *C. albicans* dilakukan uji mikroskopik dan *Germ Tube test*.

2.2.2 Uji Antagonisme *Lactobacillus* sp. terhadap *C. albicans*

Uji antagonisme dilakukan dengan cara membuat apusan *C. albicans* pada media MRS agar, kemudian, suspensi *Lactobacillus* sp. ditetaskan pada permukaan media MRS agar yang telah berisi apusan *C. albicans*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan diamati zona hambatan yang terbentuk.

2.2.3 Uji Aktivitas Supernatan *Lactobacillus* terhadap *C. albicans*

Sebanyak 5 mL suspensi *Lactobacillus* sp. disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm, supernatan bebas selnya (SBS) diambil, dibagi ke dalam 3 tabung *Eppendorf* untuk dibuat variasi perlakuan, sebagai berikut, (1) SBS dibiarkan dalam keadaan asam (tanpa perlakuan), (2) SBS dinetralkan dengan NaOH 0,1 N. dan (3) SBS dinetralkan dan dilakukan pemanasan 100°C selama 15 menit.

Masing-masing perlakuan diujikan aktivitas antifungalnya dengan metode sumur difusi terhadap *C. albicans* yang ditumbuhkan pada

media SDA, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati serta dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong.

2.2.4 Isolasi Bakteriosin

Bakteriosin diisolasi dengan metode adsorpsi desorpsi. Kultur *Lactobacillus* sp. dipanaskan selama 10 menit untuk menginaktifkan atau merusak aktivitas enzim proteolitiknya. Selanjutnya dilakukan pengaturan pH sampai 6,5 untuk mendapatkan bakteriosin yang dibantu dengan pengadukan pada 4°C selama 24 jam, setelah 24 jam, kultur disentrifugasi untuk mendapatkan endapan (mengandung sel dan bakteriosin). Endapannya diresuspensi dengan 0,1M NaCl (20 ml), pH nya diatur kembali sampai 2,0 yang dilakukan dengan pengadukan pada suhu 4°C selama 24 jam untuk memisahkan bakteriosin yang menempel pada sel, disentrifugasi selama 30 menit padarpm hingga diperoleh supernatan yang mengandung bakteriosin.

2.2.5 Uji Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus* sp. terhadap *C. albicans*

Uji aktivitas bakteriosin dilakukan dengan metode sumur difusi. Bakteriosin *Lactobacillus* sp. didepositkan kedalam sumur yang dibuat pada *lawn C. albicans* pada media SDA, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong.

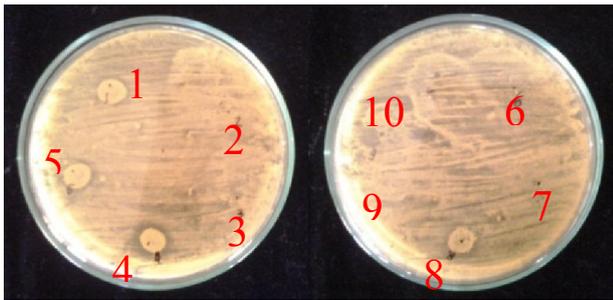
2.2.6 Uji ketahanan *Lactobacillus* sp. Terhadap Antibiotik

Ketahanan *Lactobacillus* sp. diuji dengan metode difusi kertas cakram yang berisi metronidazol 5 mcg (Oxoid® MTZ5 pada media MRS dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ketahanan *Lactobacillus* diukur dari diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh metronidazol.

3. HASIL

Hasil pewarnaan Gram yang diamati dibawah mikroskop menunjukkan bahwa semua (10) isolat *Lactobacillus* sp. berbentuk batang dan berwarna ungu. Isolat *Lactobacillus* sp juga menunjukkan hasil negatif pada uji katalase dan uji produksi gas. Uji mikroskopik pada *C. albicans* menunjukkan bentuk lonjong (oval seperti bentuk yeast pada umumnya), berukuran kecil, berdinding tipis, berukuran 2-3 x 4-6 µm dan terbentuknya *pseudohifa* pada *Germ tube test*.

Potensi *Lactobacillus* sp. yang Diisolasi dari Susu Kuda Sumbawa dalam Mengontrol *Candida albicans* Penyebab Kandidiasis (Sasmitha, I. M. A, Ramona, Y, Yustiantara, P. S)



Gambar 1. *Dual culture assay* antara bakteri *Lactobacillus* sp. dengan *C. albicans*.

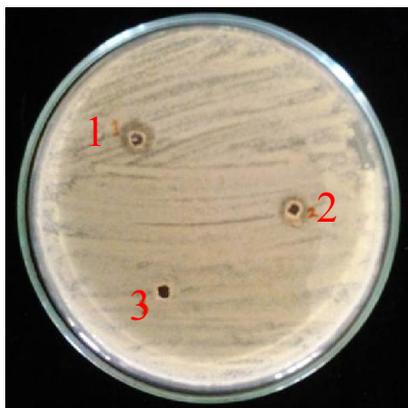
Ket: (1) SMM 33, (2) SMM 34, (3) SMM 41, (4) SMM 44, (5) SMM 49, (6) SMM 53, (7) SMM 55, (8) SMM 57, (9) SKG 34, (10) SKG 49

Uji antagonisme, *Dual Culture Assay*, menunjukkan bahwa *Lactobacillus* sp. SMM 33, SMM 44 dan SMM 49 mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans* dengan diameter zona hambatan berturut-turut sebesar 12, 7 mm, 12,0 mm dan 12,9 mm (Gambar 1). Isolat lainnya tidak memperlihatkan aktivitas sehingga diduga tidak memiliki hasil metabolit yang cukup untuk menghambat pertumbuhan *C. albicans*

Dalam uji lanjutan, produk ketiga isolat BAL uji (*Lactobacillus* sp. SMM 33, SMM 44, dan SMM 49) menunjukkan aktivitas anti *C. albicans* dengan diameter zona hambatan yang bervariasi pada kisaran antara 9,20 mm dan 21,07 mm (Tabel 1).

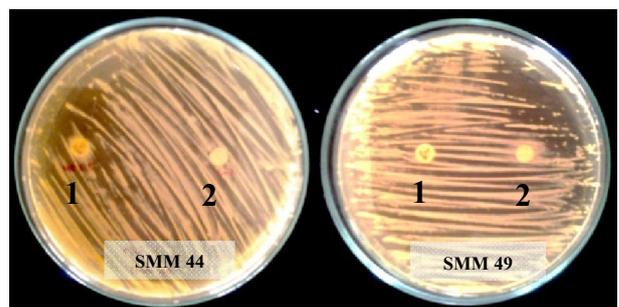
Tabel 1. Diameter zona hambat SBS (berbagai perlakuan) Isolat *Lactobacillus* spp. Terhadap *C. albicans*

Isolat BAL	Zona Hambat (mm)			Kontrol Negatif
	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3	
<i>Lactobacillus</i> SMM 33	10,10 ± 0,26	11,03 ± 0,90	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Lactobacillus</i> SMM 44	12,35 ± 1,2	9,90 ± 0,28	9,20 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Lactobacillus</i> SMM 49	11,73 ± 0,50	16,93 ± 2,51	21,07 ± 0,51	0,00 ± 0,00



Gambar 2. Bakteriosin *Lactobacillus* sp. (1) Bakteriosin SMM 44, (2) Bakteriosin SMM 49, (3) Kontrol Negatif (air steril).

Bakteriosin yang diisolasi dari isolat *Lactobacillus* SMM 44 dan SMM 49 menghambat pertumbuhan *C. albicans* dengan diameter hambatan rata-rata sebesar 9,24 mm dan 8,31 mm (Gambar 2). Dalam uji *susceptibility*, kedua isolat BAL ini tidak dihambat pertumbuhannya oleh metronidazole 5 mcg.



Gambar 3. Uji *susceptibility* *Lactobacillus* sp. terhadap Metronidazol 5 mcg (Oxoid® MTZ5). (1) Metronidazol, (2) Kontrol Negatif (air steril)

4. PEMBAHASAN

Warna ungu yang tampak pada preparat setelah pewarnaan Gram menunjukkan bahwa dinding sel BAL mengandung peptidoglikan dalam jumlah besar, sehingga mengikat warna Krista violet dengan sangat kuat (Pelczar, 2007). Dalam uji konfirmasi, informasi karakteristik minimal *Lactobacillus* spp. uji, seperti tidak memproduksi enzim katalase dan (Dickson *et al.*,

Potensi *Lactobacillus* sp. yang Diisolasi dari Susu Kuda Sumbawa dalam Mengontrol *Candida albicans* Penyebab Kandidiasis (Sasmitha, I. M. A, Ramona, Y, Yustiantara, P. S)

2005), bersifat homofermentatif terpenuhi oleh BAL yang disimpan di Lab. Biosain dan Bioteknologi tersebut (sesuai dengan karakteristik yang tercatat pada katalog isolat).

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 1 hampir dapat dipastikan bahwa zona hambat yang terbentuk bukan disebabkan oleh asam yang dihasilkan oleh isolat BAL uji, karena setelah dinetralkan SBS ini masih menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Sifat resistan *C. albicans* terhadap asam sangat rasional dapat terjadi karena patogen ini diisolasi dari lingkungan asam. Hal serupa juga pernah dilaporkan oleh Tadesse, *et al.*, (2000) yang melakukan bioassay *C. albicans* pada kondisi pH rendah.

Hasil pada uji aktivitiis bakteriosin menunjukkan daya hambat bakteiosin relatif rendah (*low*), karena zona hambat yang dihasilkan pada lawn *C. Albicans* sangat rendah (9,24 mm dan 8,31 mm) jika dibandingkan dengan metronidazol yang menghasilkan zona hambat rata-rata sebesar 18,4 mm. Menurut Yulinery *et al.* (2009) mekanisme kerja bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri diawali dengan menempelnya molekul protein pada reseptor yang terdapat pada permukaan sel bakteri. Selanjutnya, bakteriosin akan masuk melalui dinding sel dan kontak dengan membran. Hal ini akan menyebabkan membran sitoplasma menjadi tidak stabil dan menyebabkan keluarnya material yang terdapat dalam sitoplasma, sehingga sel mengalami kematian.

Isolat-isolat *Lactobacillus* sp. SMM 44 dan SMM 49 menunjukkan sifat resisten terhadap metronidazol 5 mcg, dan hasil ini mengindikasikan bahwa kedua isolat ini dapat digunakan secara sinergis dengan metronidazol (dengan dosis yang dikurangi) untuk terapi kandidiasis, sehingga flora normal vagina dapat lebih cepat direstorasi. Hasil penelitian serupa juga dilaporkan oleh Ocana and Nader-Macias (2006) mendapatkan *Lactobacillus* menunjukkan sifat resisten terhadap metronidazol dosis tinggi (>1000 mcg/mL).

5. KESIMPULAN

Tiga dari 10 isolat *Lactobacillus* spp. yang diujikan diketahui menunjukkan aktivitas anti *C.albicans*. Dalam uji-uji lanjutan, isolat *Lactobacillus* sp. SMM 44 dan SMM 49 berpotensi dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* melalui produksi bakteriosin. Kedua isolat ini menunjukkan sifat resisten terhadap metronidazole 5 mcg, sehingga berpeluang untuk

dapat digunakan sebagai pendukung dalam terapi kandidiasis.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Ni Wayan Nursini, S.TP., M.P., yang telah membantu penulis selama melakukan penelitian di Laboratorium UPT. Biosains dan Bioteknologi Unud.

7. DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadova, A., S. D. Todorov, I. Hadji-Sfaxi, Y. Choiset, H. Rabesona, S. Messaoudi, A. Kuliye, B. D. G. de Melo Franco, J. Chobert, and T. Heartle. (2013). Antimicrobial and Antifungal Activities of *Lactobacillus curvatus* Strain Isolated from Homade Azerbaijani Cheese. *Molecular Biology, Genetics and Biotechnology*. 20:42-49
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2002). InfoPOM. 3(10). Jakarta. Badan POM RI.
- Depkes RI. (2007). *Pedoman Pengobatan Dasar di Puskesmas*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dickson, E. M., M. P. Riggio and L. Macpherson. (2005). A Novel Species-Specific PCR Assay for Identifying *Lactobacillus fermentum*. *Journal of Medical Microbiology*. 299-303.
- Kirby, W. M. M, A. W. Bauer, J. C. Sherris, and M. Turck. (1966). Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal Clinical an Pathology*. 45:493-496.
- Masood, S. N., S. Mumtaz, M. Jahan. (2009). Pattern of Normal Vaginal Flora in Healthy Married Non-Pregnant Women. *Pakistan Journal of Surgery*. 25(2):128-131.
- Ocana, V., C. Silva., and M. E. Nader-Macias. (2006). Antibiotic Susceptibility of Potentially Probiotic Vaginal *Lactobacilli*. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. (2007). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Price, S. A. dan L. M. Wilson. (2002). *Patofisiologi – Konsep Klinis Proses-proses Penyakit Ed.6 Vol.2*. Penerbit Buku Kedokteran (EGC) : Jakarta.
- Sujaya, I. N., N. M. U. Dwipayanti, N. L. P. Suarini, N. P. Widarini, K. A. Nociantri, N. W. Nursini. (2008). Potensi *Lactobacillus*

Potensi *Lactobacillus* sp. yang Diisolasi dari Susu Kuda Sumbawa dalam Mengontrol *Candida albicans* Penyebab Kandidiasis (Sasmitha, I. M. A, Ramona, Y, Yustiantara, P. S)

- spp. Isolat Susu Kuda Sumbawa Sebagai Probiotik. *Jurnal Veteriner*. 9 : 33-40.
- Suyoso, Sunarso. (2011). Kandidiasis Mukosa. *SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo*. Surabaya.
- Tadesse, G., Eden E., and Mogessie A. (2000). Assesment of The Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Borde and Shamita, Traditional Ethiopian Fermented Beverages, on Some Foodborne Pathogens and Effect of Growth Medium on The Inhibitory Activity. *Internet Journal of Food Safety*, 5(5): 13-20.
- Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja. (2007). *Obat – Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek – Efek Sampingnya Edisi Keenam*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Yulinery, T. I. Y. Petria dan N. Nurhidayat. (2009). Penggunaan Antimikroba dari Isolat *Lactobacillus* Terseleksi sebagai Bahan Pengawet Alami untuk Menghambat Pertumbuhan *Vibrio* sp. dan *Staphylococcus aureus* pada Fillet Ikan Kakap. *Berk. Penelitian Hayati*. 15: 85-92
- Wahyuningsih, R., S. M. Eljannah, Mulyati. (2012). Identifikasi *Candida* spp. dengan Medium Kromogenik. *Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*. 62(3): 83-89.