



**MODUL BIOINDUSTRI
(IBL 610)**

**MODUL SESI KE-10
INDUSTRI ANTIBIOTIK**

DISUSUN OLEH

Dr. Henny Saraswati, S.Si, M.Biomed

Universitas
Esa Unggul

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2020

INDUSTRI ANTIBIOTIK

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

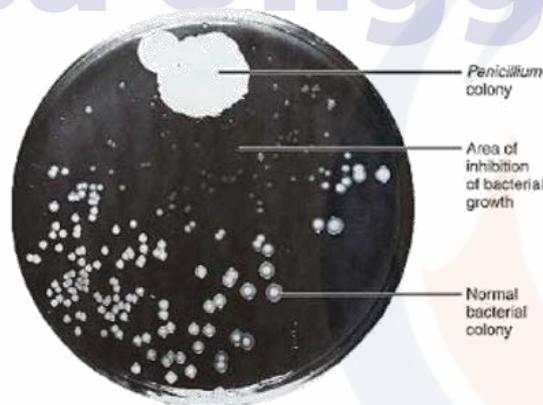
1. Menjelaskan mengenai antibiotik.
2. Menjelaskan jenis-jenis antibiotik.
3. Menjelaskan mikroba penghasil antibiotik.
4. Menjelaskan teknologi yang digunakan dalam produksi antibiotik.

B. Uraian dan Contoh

1. Kebutuhan antibiotik.

Pada pertemuan sebelumnya kita mengenal adanya industri vaksin dan biofarmasetika yang sangat dibutuhkan baik untuk pencegahan maupun untuk terapi terhadap penyakit-penyakit berbahaya pada manusia. Selain vaksin dan biofarmasetika terdapat juga industri antibiotik yang juga dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri.

Antibiotik secara tidak disengaja ditemukan oleh Alexander Flemming pada tahun 1929 ketika menumbuhkan jamur *Penicillium notatum*. Pada saat itu diketahui bahwa jamur ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri di sekitarnya. Penelitian kemudian dilanjutkan untuk mengetahui zat penghambat ini. Diketahui kemudian bahwa zat ini adalah antibiotik yang kemudian dinamakan dengan penisilin.



Gambar 1. Kultur *Penicillium notatum* yang dilakukan Alexander Flemming tahun 1928 (sumber: www.aimed.net.au).

Antibiotik didefinisikan sebagai zat penghambat pertumbuhan bakteri yang dapat dihasilkan oleh mikroba (bakteri, jamur). Cara kerja antibiotik ini bisa membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghambat pertumbuhan bakteri (bakterostatik). Cara kerja antibiotik bakterisidal adalah dengan merusak dinding sel bakteri, sedangkan antibiotik bakteristatik bekerja dengan cara menghambat pembentukan protein pada sel bakteri, juga mengganggu transkripsi dan replikasi DNA dan menghambat sintesis RNA pada bakteri.

Penggolongan antibiotik secara umum kemudian didasarkan pada cara kerjanya yaitu sebagai penghambat pembentukan dinding sel, penghambat fungsi membran sel, penghambat sintesis protein dan penghambat sintesis asam nukleat.

Tabel 1. Mekanisme kerja antibiotik dan contohnya.

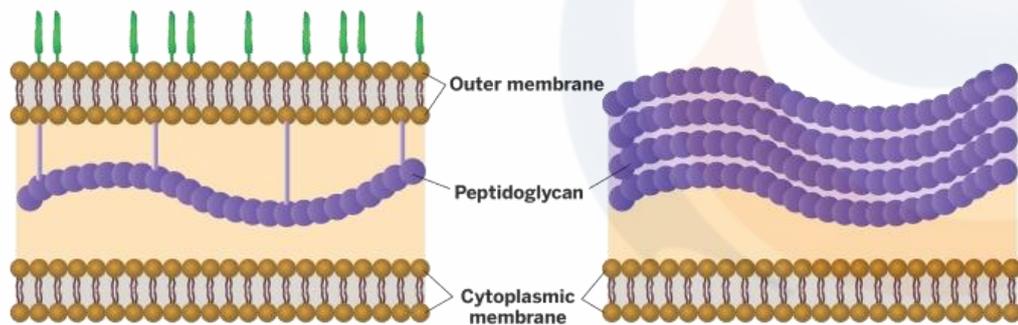
Mekanisme Kerja Antibiotik	Kelompok Antibiotik
Menghambat sintesis dinding sel	Beta-lactams (contoh: amoxicillin) Glycopeptides (contoh: vancomycin)
Menghambat sintesis protein	Tetracyclines (contoh: doxycycline) Aminoglycosides (contoh: gentamicin) Macrolides (contoh: erythromycin)
Menghambat fungsi membran sel	Polymixins (contoh: colistin)
Menghambat sintesis asam nukleat	Quinolones (contoh: ciprofloxacin)

(sumber: <https://simplemed.co.uk/>)

Bakteri dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu bakteri gram negatif dan gram positif berdasarkan struktur dinding selnya. Pembagian kelompok ini ternyata dapat digunakan juga untuk mengetahui pengelompokan antibiotik berdasarkan kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri. Antibiotik yang dapat menghambat bakteri gram negatif dan positif disebut sebagai antibiotik dengan spektrum luas (*broad spectrum*), sedangkan antibiotik yang hanya dapat membunuh bakteri gram negatif atau positif saja disebut sebagai antibiotik spektrum terbatas (*narrow spectrum*).

GRAM-NEGATIVE

GRAM-POSITIVE



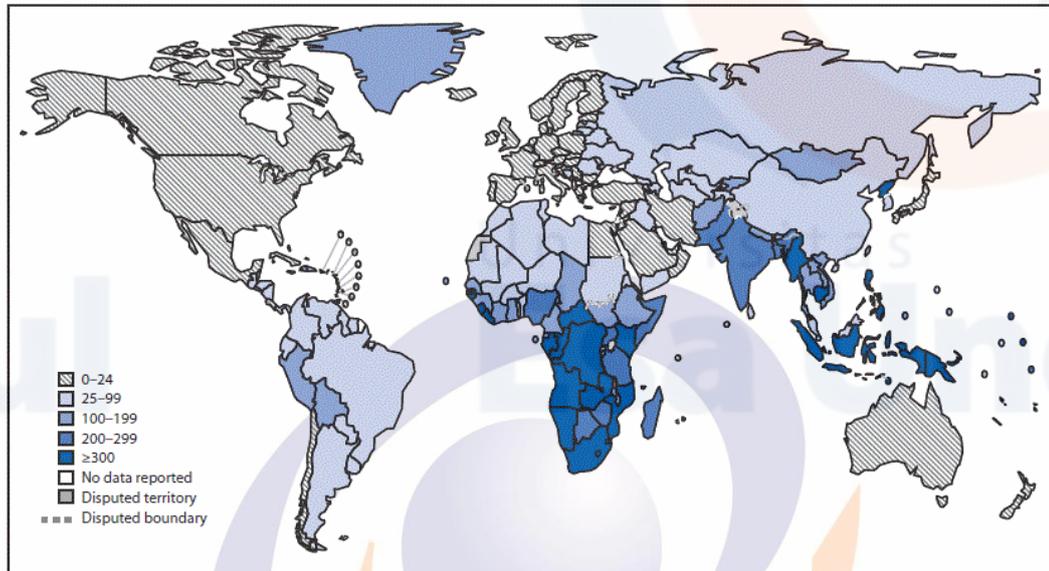
Gambar 2. Perbedaan struktur dinding sel pada bakteri gram positif dan gram negatif (sumber: <https://cen.acs.org/>).

Antibiotik saat ini digunakan di seluruh dunia sebagai terapi terhadap berbagai penyakit yang diakibatkan oleh bakteri. Beberapa penggunaan yang salah pada infeksi selain bakteri telah menyebabkan beberapa resistensi terhadap antibiotik. Resistensi antibiotik ini menjadi perhatian tersendiri dikarenakan antibiotik yang tersedia saat ini menjadi tidak efektif pada pengobatan penyakit-penyakit yang berbahaya seperti pneumonia, tuberkulosis dan lain-lain. Sedangkan produksi antibiotik memerlukan waktu yang lama mulai dari penelitian hingga dipasarkan. Kekhawatiran mengenai resistensi antibiotik ini adalah semakin meluasnya resistensi di seluruh dunia. Oleh karena itu, para peneliti terus menggali potensi sumber daya alam yang berpotensi sebagai antibiotik baru (Shin et al 2020, Capello et al, 2020).

Resistensi antibiotik merupakan salah satu masalah pengobatan dan mengancam kesehatan manusia. Fenomena resistensi antibiotik ini menyebabkan beberapa penyakit berbahaya dan mematikan seperti tuberkulosis, pneumonia, gonorea dan salmonellosis menjadi semakin susah untuk diobati. Lebih parahnya lagi fenomena ini dapat terjadi pada semua usia. Resistensi antibiotik juga dapat meningkatkan angka kematian dari penyakit-penyakit ini.

Tuberkulosis merupakan penyakit yang menyerang saluran pernafasan disebabkan infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Pada awal infeksi, gejala yang paling sering nampak adalah batuk yang terus menerus, berat badan menurun dan kurangnya nafsu makan. Tanpa terapi antibiotik, penyakit ini akan menjadi lebih

parah hingga menyebabkan gangguan nafas berat. Beberapa negara di dunia memiliki penderita tuberkulosis yang sangat tinggi, menyumbang angka kematian tertinggi akibat infeksi bakteri.



Gambar 3. Gambaran insiden tuberkulosis (per 100.000 penduduk) pada tahun 2017 (sumber: MacNeil et al, 2019).

Terapi untuk tuberkulosis menggunakan kombinasi antibiotik isoniazid (INH), rifampisin (RIF), ethambutol (EMB), pyrazinamide (PZA) yang harus dikonsumsi oleh penderitanya secara rutin. Dengan jumlah penderita yang banyak dan adanya penambahan kasus, maka antibiotik untuk terapi mutlak diperlukan. Masalah ini diperparah dengan adanya kasus resistensi antibiotik untuk terapi tuberkulosis sehingga memicu para peneliti dan industri antibiotik menghasilkan antibiotik baru.



Gambar 4. Antibiotik yang digunakan untuk pengobatan tuberkulosis

Meskipun telah tersedia antibiotik untuk pengobatan penyakit tuberkulosis (TB), namun penggunaan yang tidak tepat menyebabkan kejadian resistensi terhadap antibiotik yang ada. Resistensi ini bisa terjadi bukan hanya satu obat, tetapi lebih dari satu macam obat yang dinamakan *multidrug resistant-TB* (MDR-TB) (Kurtz et al, 2016). Badan kesehatan dunia (WHO) mencatat bahwa kasus resistensi antibiotik pada penderita tuberkulosis di seluruh dunia sebesar 558.000 hingga tahun 2017. Diperkirakan angka ini akan meningkat. Penderita MDR-TB memerlukan lini kedua antibiotik untuk pengobatan penyakitnya. Fakta-fakta ini menunjukkan perlunya produksi antibiotik yang cukup untuk membantu penghapusan penyakit tuberkulosis di seluruh dunia.

Tabel 2. Obat untuk tuberkulosis yang disarankan WHO.

Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
First line drug	Injectable drug	Floroquinolones	Oral bacteriostatic second-line drugs	Drug with unclear efficacy
Isoniazid, Rifampicin, pyrazinamide, ethambutol	kanamycin, amikacin, capreomycin, viomycin	Moxifloxacin, levofloxacin, gatifloxacin, ofloxacin	pro-lethionamide, cycloserine and terizidone, PAS, thiazetazone	Clofazimine, amoxicillin/clavulanate, clarithromycin, linezolid, imipenem

(sumber: Kurz et al, 2016)

Pneumonia adalah penyakit radang selaput paru-paru yang disebabkan oleh beberapa bakteri dan virus. Bakteri penyebab pneumonia antara lain *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* dan lain-lain. Infeksi bakteri ini akan menyebabkan gangguan saluran pernafasan, dapat menyebabkan kematian pada penderitanya. Pengobatan dengan antibiotik telah tersedia, namun saat ini mulai muncul strain-strain bakteri penyebab pneumonia yang bersifat resisten terhadap antibiotik. Contohnya adalah MRSA (*methicillin-resistance Staphylococcus aureus*) yang dapat menyebabkan peradangan akut pada saluran pernafasan setelah pasien mendapatkan pelayanan di pusat layanan kesehatan seperti klinik, puskesmas atau rumah sakit.

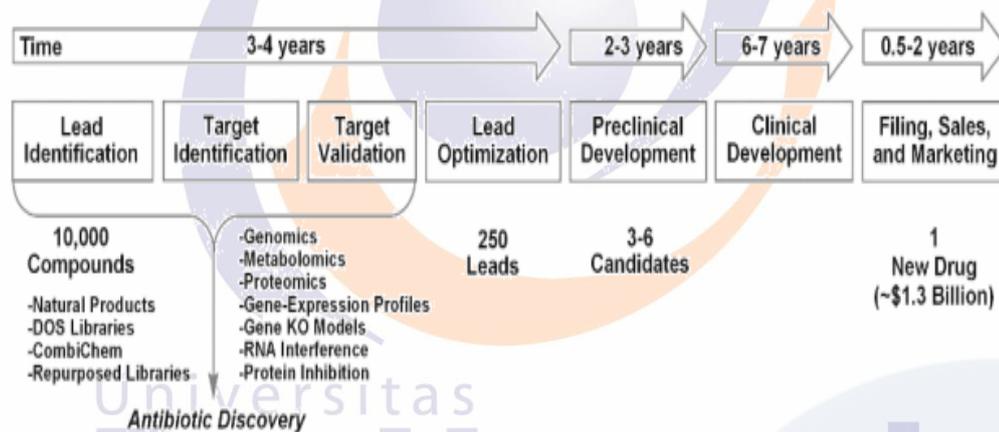
Menurut organisasi kesehatan dunia (WHO), penyakit pneumonia ini sangat rentan diderita oleh anak-anak dan orang dengan usia lanjut. Angka kematian anak-anak usia di bawah 5 tahun karena pneumonia sebesar 800 ribu lebih hingga tahun 2017. Pengobatan untuk pneumonia antara lain adalah fluoroquinolon, beta lactam, makrolid, vancomycin dan linezolid. Namun, semakin meningkatnya kasus resistensi antibiotik yang terjadi maka kebutuhan antibiotik baru tetap diperlukan. Pihak industri dapat melakukan riset yang intensif terkait hal ini.

2. Produksi Antibiotik di Industri

Untuk menjawab beberapa kebutuhan dunia akan antibiotik, maka industri untuk produksi antibiotik berlomba-lomba untuk menghasilkan antibiotik. Pembuatan antibiotik ini juga melalui proses yang panjang, dari hulu hingga ke hilir. Penelitian tentang bahan aktif antibiotik, sumber daya alam yang dapat menghasilkannya, optimasi produksi dan modifikasi hasil produksi untuk meningkatkan efikasi antibiotik. Proses produksi antibiotik didahului dengan proses isolasi mikroba atau bahan alam lain yang dapat menghasilkan antibiotik, proses fermentasi hingga produk dipasarkan. Gambar 3 menunjukkan alur proses yang digunakan untuk menghasilkan antibiotik baru dan pengembangannya. Mikroba dan bahan yang diisolasi dari alam kemudian mengalami identifikasi bahan aktif (*lead*), identifikasi target bakteri yang akan disasar kemudian dilanjutkan dengan validasinya dan kemudian optimasi senyawa aktif. Waktu yang diperlukan untuk proses ini berkisar 3-4 tahun. Dalam proses ini bisa didapatkan 10.000 senyawa kandidat antibiotik yang sangat berpotensi sebagai antimikroba. Metode yang digunakan dalam proses identifikasi bahan aktif hingga identifikasi target bakteri dilakukan menggunakan metode *-omics* (*genomics*, *proteomics*, *metabolomics*), *gene-expression profiles*, *gene KO models*, *RNA interference* dan *protein inhibition*. Dari sekian banyak bahan aktif kandidat antibiotik, pada proses optimasi senyawa akhirnya hanya dihasilkan sekitar 250 bahan aktif kandidat antibiotik.

Kandidat antibiotik ini kemudian mengalami uji preklinis dan klinis untuk mengetahui efektivitasnya untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan juga

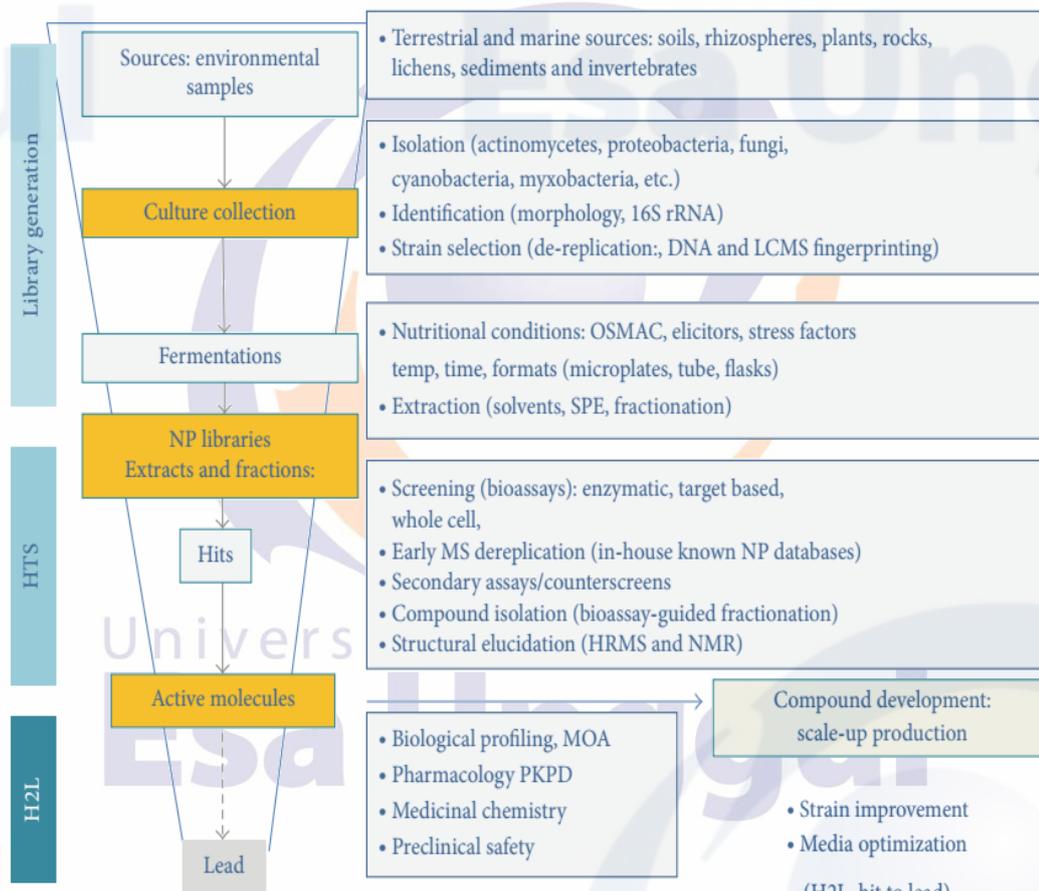
keamanannya ketika dikonsumsi oleh individu. Uji preklinis menggunakan hewan coba untuk mengetahui kemampuan kandidat antibiotik untuk melawan infeksi bakteri. Uji preklinis dilakukan secara ketat dan membutuhkan waktu 2-3 tahun. Oleh karena itu, dari sekian banyak kandidat yang didapatkan, hanya tersisa 3-6 kandidat. Uji selanjutnya adalah uji klinis dengan mengujicobakan kandidat antibiotik pada manusia. Hal ini dilakukan untuk mengetahui keamanan kandidat antibiotik. Waktu yang dibutuhkan untuk uji ini cukup lama yaitu 6-7 tahun dan berlangsung secara ketat. Hasilnya ada lebih sedikit lagi kandidat antibiotik yang lolos dalam uji ini, mungkin hanya 1 kandidat yang berhasil. Proses selanjutnya adalah proses pencatatan dan penjualan antibiotik baru ini. Waktu yang dibutuhkan sekitar 2 tahun. Sehingga dari keseluruhan proses produksi antibiotik baru ini membutuhkan waktu lebih dari 15 tahun. Untuk pengembangan antibiotik yang sudah ada, proses yang diperlukan bisa lebih pendek.



Gambar 3. Proses penemuan antibiotik hingga dapat diproduksi (sumber: Walsh et al, 2014).

Proses identifikasi bahan aktif antibiotik ini sendiri memerlukan proses yang panjang. Sumber daya alam yang sangat kaya, berupa mikroba dan bahan lain, digunakan untuk mendapatkan beberapa bahan antibiotik baru. Sebagian besar antibiotik dihasilkan dari mikroba (bakteri atau fungi) namun terdapat pula beberapa sumber organisme lain yang berpotensi untuk menghasilkan antibiotik. Proses isolasi mikroba dilakukan dengan mengambilnya dari habitatnya untuk kemudian ditumbuhkan di dalam laboratorium. Hasil metabolit sekunder dari pertumbuhan di dalam laboratorium kemudian diuji dengan beberapa metode untuk mengetahui

kemampuannya dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Tentu saja dilakukan proses pemilihan strain mikroba yang dapat digunakan untuk produksi bakteri. Identifikasi mikroba penghasil kandidat antibiotik bisa dilakukan dengan identifikasi morfologi atau juga menggunakan identifikasi 16S rRNA. setelah itu dilakukan pemilihan strain mikroba potensial menggunakan DNA dan LCMS fingerprinting. Setelah proses pemilihan strain dilakukan, maka dilanjutkan dengan dilakukan proses kultivasi mikroba dengan skala kecil untuk mendapatkan bahan aktif yang akan diidentifikasi.

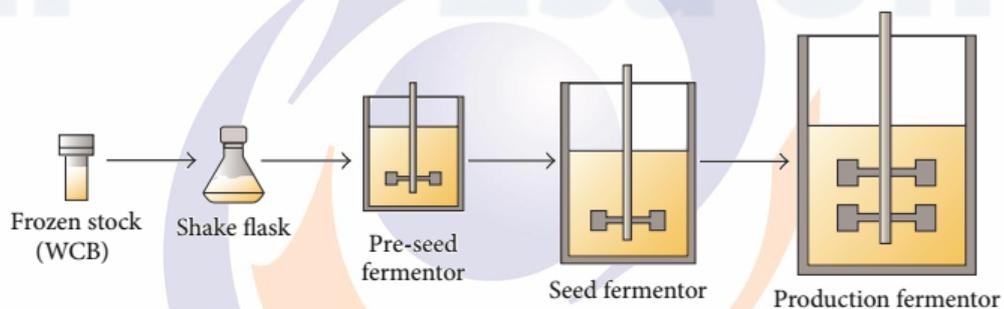


Gambar 4. Proses tahap awal penemuan antibiotik dari pustaka produk mikroba (sumber: Fedorenko, 2015).

Setelah uji klinis dan preklinis telah dilalui, maka kandidat antibiotik dapat diproduksi dalam skala industri. Proses produksi antibiotik dilakukan melalui

proses fermentasi dengan medium yang sesuai. Seperti pada umumnya, kondisi nutrisi pada medium mutlak diperhatikan, baik makronutrisi maupun mikronutrisi.

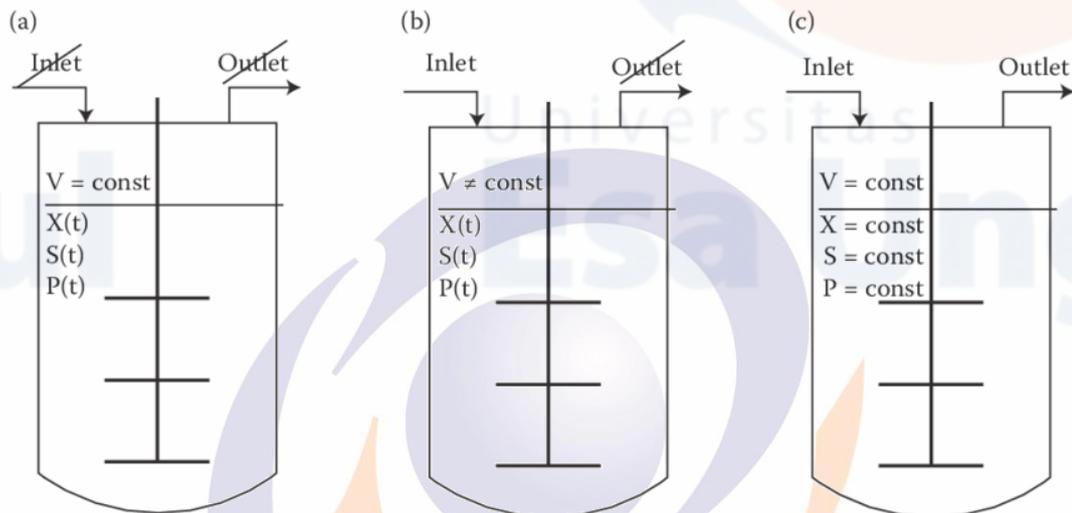
Mikroba potensial yang disimpan dalam bentuk beku (*frozen stock/working cell bank* (WCB)) disegarkan kembali dalam medium padat dan cair (*shake flask*). Pemandahan mikroba ke kultur padat dan cair ini bertujuan agar mikroba dapat tumbuh kembali setelah disimpan lama dalam keadaan beku. Setelah itu dilakukan proses fermentasi bertahap pada fermentor (*pre-seed*, *seed* dan *production*). *Pre-seed fermentor* adalah fermentor dalam skala kecil yang digunakan untuk memperbanyak mikroba penghasil kandidat antibiotik. Pada fermentor ini terdapat medium yang berisi sumber nitrogen, karbon, vitamin, asam amino dan faktor pertumbuhan lain.



Gambar 5. Proses fermentasi mikroba untuk produksi antibiotik (sumber: Fedorenko, 2015).

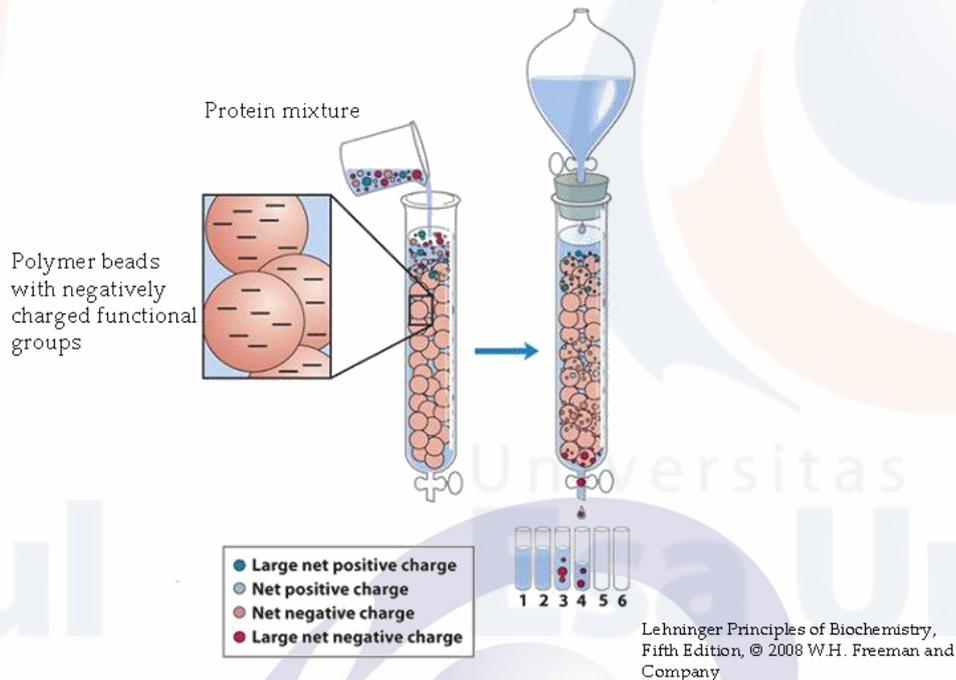
Setelah dapat tumbuh di pre-seed fermentor, mikroba kemudian dipindahkan ke fermentor yang lebih besar dinamakan *seed fermentor* untuk mendapatkan jumlah mikroba yang cukup untuk produksi antibiotik. Setelah itu barulah mikroba ini dipindahkan ke fermentor produksi yang berukuran lebih besar dari *seed fermentor*. Medium pada fermentor produksi sama dengan di *seed fermentor* dan *pre-seed fermentor* yang berisi nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba. Dilakukan agitasi/pengadukan secara teratur pada medium di fermentor untuk meratakan oksigen pada seluruh bagian medium. Oleh karena itu diberikan anti busa secara teratur pada medium untuk mencegah pembentukan busa. Nilai pH dan suhu medium diatur pada kondisi optimum sehingga mikroba dapat tumbuh secara optimal dan menghasilkan antibiotik yang diperlukan. Jenis Fermentasi yang dilakukan adalah fermentasi terendam (*submerged fermentation*), baik *fed-batch*

dan *batch fermentation*. Meskipun demikian *fed-batch* fermentation merupakan jenis fermentasi yang sering digunakan untuk produksi antibiotik karena kondisi medium mudah untuk dikontrol. Antibiotik yang paling sering di produksi menggunakan *fed-batch fermentation* adalah teicoplanin, daptomycin, tylosin dan β -lactam. Fermentasi kontinu tidak digunakan dalam produksi antibiotik disebabkan karena adanya potensi mutasi dan kontaminasi medium

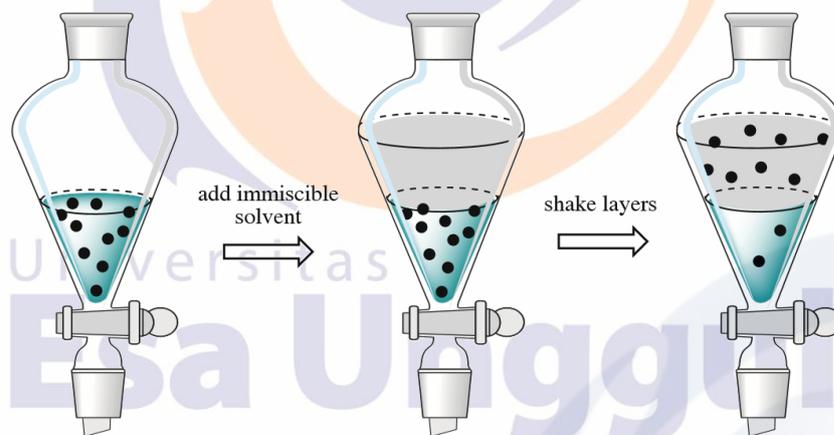


Gambar 6. Ketiga jenis fermentasi terendam yaitu (a) *batch*, (b) *fed batch* dan (c) kontinu (sumber: Paulova et al, 2013)

Setelah 3 sampai 5 hari proses fermentasi maka antibiotik mengalami purifikasi. Terdapat beberapa metode purifikasi yang bisa digunakan, yaitu metode *ion exchange* dan *solvent extraction*. Purifikasi *ion-exchange* dapat digunakan untuk antibiotik yang larut dalam air sedangkan *solvent extraction* dapat digunakan untuk antibiotik yang larut pada lemak. Penelitian oleh Singh et al (2018) menyebutkan penggunaan *normal phase silica gel* yang dapat digunakan untuk purifikasi antimikroba yang dihasilkan oleh *Streptomyces levis* yang diisolasi dari tanah (Singh et al, 2018). Penelitian lain oleh Kumar et al (2014) menggunakan *colum chromatography* untuk purifikasi senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp SCA 7* yang juga diisolasi dari tanah. Metode yang sama juga digunakan pada penelitian oleh Attamarad et al (2012). Menariknya dari penelitian ini adalah sumber antibiotiknya merupakan *Actinomycetes* yang diambil dari laut.

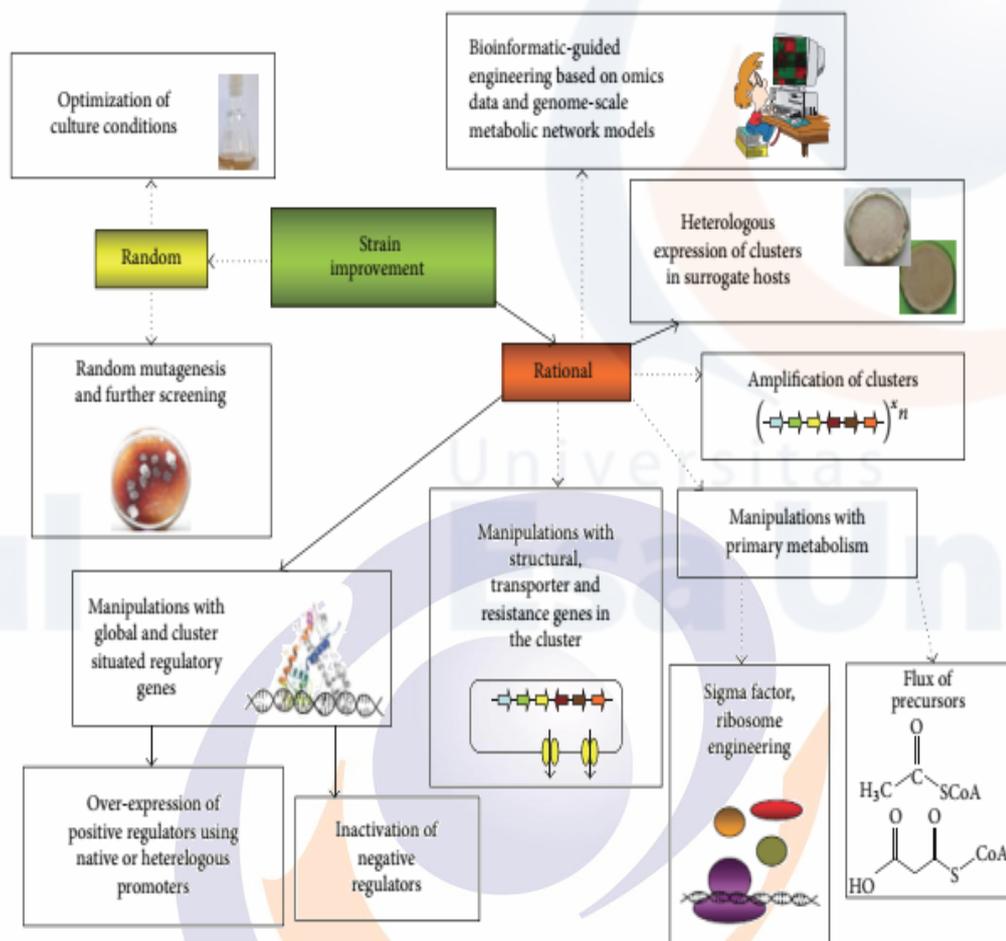


Gambar 7. Proses ion-exchange chromatography yang dapat digunakan untuk purifikasi protein. Prinsip yang sama dapat digunakan untuk purifikasi antibiotik.



Gambar 8. Proses *solvent extraction* yang prinsipnya digunakan untuk purifikasi antibiotik (sumber: <https://chem.libretexts.org/>).

Untuk meningkatkan hasil antibiotik dari mikroba yang digunakan, maka dilakukan perbaikan strain dengan metode mutagenesis. Industri antibiotik sering menggunakan metode ini karena kelebihannya. Tetapi dengan adanya perkembangan ilmu biologi, bioteknologi, bioinformatika, sequencing technology yang akhirnya membuat metode perbaikan strain berubah.



Gambar 9. Strategi peningkatan strain mikroba penghasil antibiotik (sumber: Fedorenko et al, 2015).

C. Latihan

- Apa peran antibiotik?
- Mengapa antibiotik perlu diproduksi dalam skala industri?
- Apa saja langkah-langkah produksi antibiotik?

D. Kunci Jawaban

- Antibiotik merupakan senyawa hasil metabolisme mikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa ini kemudian digunakan untuk melawan infeksi bakteri.

- b. Karena adanya peningkatan jumlah penyakit infeksi bakteri yang terjadi di seluruh dunia. Selain itu adanya fenomena resistensi antibiotik menjadikan industri harus berupaya untuk menghasilkan antibiotik baru.
- c. Isolasi dari alam, identifikasi bahan aktif, identifikasi target dan validasinya, produksi melalui fermentasi, uji pre klinis, uji klinis, pendaftaran, dan pemasaran antibiotik.

E. Daftar Pustaka

1. Smith, E.E. (2009). *Biotechnology*. Cambridge. Cambridge University Press.
2. Paulova, L. et al. 2013. Advanced Fermentation Process. In book: Engineering Aspects of Food Biotechnology. Editor: Teixeira J and Vincente A.A. Taylor & Francis Group. pp.89-105.
3. Singh V, Haque S, Khare S, Tiwari AK, Katiyar D, et al. 2018. Isolation and Purification of Antibacterial Compound from *Streptomyces levis* collected from Soil Sample of North India. PLOS ONE. 13(7): e0200500.
4. Fedorenko, V., O. Genilloud, L. Horbal, G.L. Marcone, F. Marinelli, Y. Paitan, E.Z. Ron. 2015. Antibacterial Discovery and Development: from Gene to Product and Back. *BioMed Res Int*.
5. Walsh, C.T, T.A. Wencewicz. 2014. Prospects for New Antibiotics: a Molecule-centered Perspective. *J. Antibiot*. 67. 7-22.
6. Attimarad, S.L, Gaviraj E.N, Nagesh C, Kugaji M.S, Sutar R.S. 2012. Screening, Isolation and Purification of Antibiotic(s) from Marine Actinomycetes. *IJRAP* 3(3): 447-453.
7. Watkins, R.R., D.V Duin. 2019. Current Trends in The Treatment of Pneumonia due to Multidrug-resistant Gram-negative bacteria [version 2; peer review: 2 approved]. *F1000Research*. 8(F1000 Faculty Rev):121.
8. Kurz, S.G, J.J. Furin, C.M. Bark. 2016. Drug Resistant Tuberculosis: Challenges and Progress. *Infect Dis Clin Nort Am*. 30(2): 509-522.
9. Seung, K.J, S. Keshavjee, M.L. Rich. 2015. Multidrug-Resistant Tuberculosis and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 5: a017863.

10. Prestinaci, F., P. Pezzotti, A. Pantosti. 2015. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathob Glob Health*. 109(7): 309-318.
11. MacNeil, A, P. Glaziou, C. Sismanidis, S. Maloney, K. Floyd. 2019. Global Epidemiology of Tuberculosis and Progress Toward Achieving Global Targets-2017. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 68(11): 263-266.



Universitas
Esa Unggul