

**SKRINING BAKTERI PENGHASIL SENYAWA METABOLIT ANTI- MRSA YANG BERSIMBIOSIS DENGAN *Holothuria scabra* ASAL PERAIRAN TANJUNG TIRAM****SCREENING OF ANTI-MRSA METABOLITES IN BACTERIA SYMBIOTIC WITH *Holothuria scabra* FROM TANJUNG TIRAM BEACH**

Sugireng, Tiara Mayang Pratiwi Lio

Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis STIKES Mandala Waluya, Kendari Sulawesi Tenggara

Corresponding author: sugireng92@gmail.com

Received 12 Desember 2019; Published 5 Januari 2020

Abstrak

MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengalami mutasi sehingga menjadi resisten terhadap antibiotik methisilin dan beberapa jenis antibiotik turunan β -lactam lainnya sehingga dibutuhkan alternatif antibiotik baru untuk mengatasi infeksi patogen MRSA. Bakteri Symbion Teripang merupakan salah satu kandidat mikroorganisme penghasil senyawa antibiotik yang dapat dijadikan sebagai anti MRSA terbaru karna bakteri symbion tersebut memiliki senyawa bioaktif seperti pada inangnya yang telah banyak digunakan sebagai antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi bakteri yang bersimbiosis dengan Teripang laut (*Holothuria scabra*) yang berasal dari perairan Tanjung Tiram untuk dijadikan sebagai anti-MRSA terbaru. Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi bakteri symbion Teripang yang berasal dari Perairan Tanjung Tiram untuk mendapatkan isolat murni. Isolat murni yang telah didapatkan diproduksi metabolit sekundernya (*free cell*) untuk diuji potensinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen MRSA. Uji potensi dilakukan secara kualitatif yaitu dengan menggunakan *paper disc* untuk mengetahui aktivitas daya hambat. Berdasarkan hasil isolasi bakteri dari *Holothuria scabra* diperoleh sebanyak 9 isolat bakteri (HS1, HS2, HS3, HS4, HS5, HS6, HS7, HS8 dan HS9) dengan karakteristik dan kemampuan daya hambat yang berbeda dalam menghambat bakteri MRSA dan berdasarkan uji daya hambat secara kualitatif diperoleh bahwa isolat bakteri HS2 dan HS3 memiliki potensi untuk dijadikan sebagai agen anti-MRSA dengan zona hambat sebesar 35 mm dan 36 mm.

Kata kunci: *Bakteri Symbion Holothuria scabra, Anti-MRSA, Tanjung Tiram*

Abstract

MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) is a *Staphylococcus aureus* bacterium that mutates so that it becomes resistant to methicillin antibiotics and several other types of β -lactam-derived antibiotics so that new antibiotic alternatives are needed to overcome MRSA pathogen infections. Sea cucumber symbiont bacteria is one of the candidate microorganisms producing antibiotic compounds that can be used as the latest anti-MRSA because the symbionts have bioactive compounds such as the host which has been widely used as an antibiotic. This study aims to explore the potential of bacteria that are symbiotic with sea cucumbers (*Holothuria scabra*) originating from the waters of Tanjung Tiram to be used as the latest anti-MRSA. In this research isolation of sea cucumber symbionts from the Tanjung Tiram waters will be carried out to obtain pure isolates. Pure isolates that have been obtained are produced secondary metabolites (free cells) to be tested for their potential to inhibit the growth of pathogenic MRSA. Potential test is done qualitatively using paper discs to determine the inhibitory activity. Based on the results of bacterial isolation from *Holothuria scabra*, 9 bacterial isolates were obtained (HS1, HS2, HS3, HS4, HS5, HS6, HS7, HS8 and HS9) with different characteristics and inhibitory abilities in inhibiting MRSA bacteria and based on qualitative inhibitory tests. Obtained that HS2 and HS3 bacterial isolates have the potential to be used as anti-MRSA agents with inhibition zones of 35 mm and 36 mm.

Keywords: *Holothuria scabra symbiont bacteria, Anti-MRSA, Tanjung Tiram*

Pendahuluan

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri yang dapat menyebabkan sejumlah penyakit infeksi pada berbagai jaringan tubuh. Infeksi *Staphylococcus* dapat ditularkan dari orang ke orang. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah menjadi resisten terhadap antibiotik dikenal dengan MRSA (*Methicilin-resistant Staphylococcus aureus*). Mieke (2008) mengatakan bahwa resistensi suatu bakteri dapat terjadi karena pemberian antibiotik yang tidak tepat dosis, diagnosis yang salah, dan tidak tepat sasaran bakteri penyebabnya. Bakteri MRSA akan membentuk protein transmembran yang dikenal dengan protein efluks dan plasmid yang mengkode gen resisten terhadap suatu antibiotik.

Bakteri MRSA mengalami resistensi antibiotik disebabkan oleh perubahan genetik yang disebabkan terapi antibiotik yang bersifat tidak rasional. Transmisi bakteri berpindah dari satu pasien ke pasien lainnya melalui alat medis yang tidak diperhatikan sterilitasnya, melalui udara maupun fasilitas rumah sakit. Infeksi MRSA telah menjadi suatu masalah yang besar bagi klinisi di rumah sakit selama bertahun-tahun sebagai penyebab infeksi nosokomial yang angka kejadiannya meningkat 10-20 % setiap tahunnya (Dudy, 2009). Sebelum adanya antibiotik, kasus infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* sering berakibat fatal. Pengenalan antibiotik penisilin menjadi salah satu solusi dalam menangani infeksi, namun setelah beberapa tahun resistensi mulai nampak sebagai akibat dihasilkannya betalaktamase. Kemudian antibiotik metisilin dirancang untuk mendegradasi betalaktamase, akan tetapi galur MRSA yang resisten terhadap antibiotik betalaktam mulai muncul. Sejak munculnya kasus resistensi terhadap antibiotik metisilin, bakteri MRSA dikenal secara luas sebagai penyebab bakterimia, pneumonia, infeksi pasca operasi serta infeksi nosokomial lainnya.

Bakteri MRSA dapat menyebabkan infeksi pada kulit, tulang, paru-paru, jantung atau infeksi sistemik. Infeksi MRSA hanya dapat diobati dengan antibiotik tertentu. Apabila antibiotik yang diberikan tidak mampu membunuh MRSA, infeksi tidak teratasi dan menyebar luas serta membahayakan nyawa penderitanya (Mieke, 2008). Infeksi oleh MRSA juga sudah mulai meluas di rumah sakit seperti infeksi MRSA pada luka bekas operasi. Dengan meluasnya infeksi MRSA dan terbatasnya antibiotik yang dapat menghambat infeksi ini, maka alternatif antibiotik yang spesifik MRSA (Anti-MRSA) sangat dibutuhkan. Salah satu antibiotik yang banyak ditemukan yaitu antibakteri yang bersumber dari alam seperti dari ekstrak Teripang laut (*Holothuria scabra*). Roihanah dkk. (2012) menyatakan bahwa Teripang mengandung senyawa antibakteri yang cukup potensial. Cayabo & Omar (2016) menyatakan bahwa ekstrak kasar Teripang laut sangat berpotensi dalam menghambat *Staphylococcus aureus*. Selama ini kebutuhan antibakteri banyak diperoleh dari alam. Hal tersebut dapat mengurangi biodiversitas hewan yang ada di Laut. Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk memanfaatkan senyawa metabolit bakteri yang bersimbiosis dengan Teripang laut sebagai anti MRSA. Yuliana (2014) menyatakan bahwa bakteri simbiosis dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam Teripang laut yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, steroid dan triterpenoid (Pringgengies dkk., 2010).

Mikroba yang tersebar di alam adalah produsen antibiotik yang banyak digunakan secara komersil. Meskipun dengan kemajuan yang pesat dalam bidang sintesis kimia dan biosintesis rekayasa senyawa antibakteri, alam tetap sumber yang utama untuk penemuan antibakteri baru. Penelitian dalam skrining mikroorganisme tersebut untuk senyawa bioaktif kini menjadi perhatian para peneliti. Oleh sebab itu, pada penelitian ini isolat bakteri anti MRSA akan diisolasi dari Teripang laut (*Holothuria scabra*) yang berasal dari perairan Tanjung Tiram, Kab.Konawe Selatan.

Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksploratif yaitu mencari dan mengidentifikasi bakteri simbion Teripang (*Holothuria scabra*) yang berpotensi sebagai anti MRSA. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu:

1. Pengambilan Sampel Teripang (*Holothuria scabra*)

Sumber isolat bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu Teripang yang berada di Perairan Tanjung Tiram Kec. Moramo Utara, Kab. Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara. Teripang diambil pada kedalaman sekitar 1,5 m. Teripang yang diambil adalah teripang dewasa dengan ukuran $\pm 20-30$ cm. Teripang kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril dan disimpan di dalam *cool box* untuk dibawa ke laboratorium.

2. Isolasi Bakteri Simbion

Bakteri simbion diisolasi dengan menggunakan metode *pour plate* pada media *Nutrient Agar*. Setelah masa inkubasi, dilakukan pengamatan morfologi koloni untuk menentukan isolat yang dimurnikan dengan metode *pour plate*. Isolat bakteri yang diperoleh dipurifikasi dengan cara reisolasi untuk memastikan kemurnian kultur. Isolat yang telah dimurnikan kemudian disimpan pada agar *slant* sebagai stok isolat untuk pengujian selanjutnya (Sugireng, 2016)

3. Produksi Senyawa Metabolit Sekunder Bakteri

Senyawa metabolit sekunder diproduksi berdasarkan fase pertumbuhan bakteri yaitu pada fase stationer. Proses ini dilakukan dengan mengambil sebanyak 10 % (10^7 sel/mL) kultur bakteri untuk diinokulasikan ke dalam 50 mL medium produksi, kemudian diinkubasi *shaker* sesuai waktu inkubasi optimum. Kemudian, dilakukan pemanenan metabolit dan disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh senyawa metabolit berupa supernatan (*free cell*).

4. Pengujian Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Bakteri MRSA

Uji kualitatif pengujian antagonis senyawa metabolit bakteri dilakukan dengan mengujikan metabolit sekunder bakteri yang berupa *free cell*. Kertas cakram yang berdiameter 6 mm yang telah diinokulasikan supernatant bakteri dengan densitas sel 10^7 cfu/ml diletakkan di atas permukaan media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri MRSA dengan densitas 10^7 cfu/ml, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Oskay, 2009). Diameter zona bening yang terbentuk di sekitar cakram diukur menggunakan jangka sorong digital.

Hasil dan Pembahasan

1) Hasil Isolasi Bakteri Simbion Teripang (*Holothuria scabra*)

Berdasarkan hasil isolasi menggunakan media *nutrient agar* dan pengamatan karakter morfologi koloni diperoleh sebanyak 9 isolat bakteri simbion yaitu isolat HS1, HS2, HS3, HS4, HS5, HS6, HS7, HS8 dan HS9 (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah Isolat Bakteri Symbion yang Diisolasi dari *Holothuria scabra* Berdasarkan Perbedaan Morfologi Koloni

No	Kode isolat	Warna	Bentuk koloni	Ukuran koloni	Tepi	Elevasi	Struktur dalam
1.	HS1	Krem	<i>Circulair</i>	0,37	<i>Undulate</i>	<i>Low convex</i>	<i>Trasnsparant</i>
2.	HS2	Krem	<i>Circulair</i>	0,21	<i>Entire</i>	<i>Low convex</i>	<i>Trasnsparant</i>
3.	HS3	Krem	<i>Circulair</i>	0,39	<i>Entire</i>	<i>Low convex</i>	<i>Trasnsparant</i>
4.	HS4	Krem	<i>Irregulair</i>	0,76	<i>Undulate</i>	<i>Low convex</i>	<i>Trasnsparant</i>
5.	HS5	Krem	<i>Circulair</i>	0,38	<i>Entire</i>	<i>Low convex</i>	<i>Trasnsparant</i>
6.	HS6	Krem	<i>Irregulair</i>	0,61	<i>Undulate</i>	<i>Low convex</i>	<i>Trasnsparant</i>
7.	HS7	Krem	<i>Filament</i>	0,69	<i>Undulate</i>	<i>Low convex</i>	<i>Trasnsparant</i>
8.	HS8	Putih	<i>Circulair</i>	0,27	<i>Entire</i>	<i>Low convex</i>	<i>Trasnsparant</i>
9.	HS9	Krem	<i>Circulair</i>	0.12	<i>Entire</i>	<i>Low convex</i>	<i>Trasnsparant</i>

Pengamatan makroskopis koloni 9 isolat bakteri diamati pada media NA setelah diinkubasi selama 24 jam. Karakter-karakter yang diamati meliputi bentuk, warna, elevasi, tepi, dan struktur dalam koloni. Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa morfologi koloni kesembilan isolat memperlihatkan karakter yang hampir sama. Secara umum karakter morfologi koloni belum dapat dijadikan dasar untuk identifikasi ketinggian genus, hanya dapat digunakan sebagai dasar dalam perbedaan antar isolat. Isolat bakteri dapat dikatakan berbeda apabila memiliki karakteristik koloni yang berbeda. Menurut Sabdaningsih dkk. (2013) mikroba yang ditumbuhkan pada media akan menunjukkan penampakan makroskopis yang berbeda-beda pada pertumbuhannya. Perbedaan ini disebut dengan karakteristik kultur, yang digunakan sebagai dasar untuk memisahkan mikroba dalam kelompok taksonomik.

2) Potensi Daya Hambat Isolat Bakteri Symbion terhadap Bakteri MRSA

Uji daya hambat bakteri dilakukan terhadap 9 isolat yang telah berhasil dimurnikan. Seluruh isolat diuji aktivitasnya terhadap patogen MRSA dengan menggunakan metabolit sekunder (*free cell*) dengan metode cakram (*paper disc*). Kemampuan daya hambat terhadap MRSA secara kualitatif dapat dilihat pada Tabel 2.

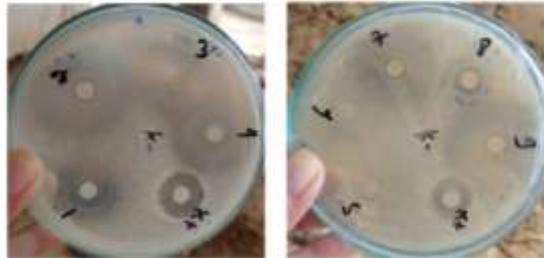
Tabel 2. Kemampuan Daya Hambat Bakteri Symbion *Holothuria scabra* dalam Menghambat Bakteri MRSA (*Methicilin Resistant Staphylococcus aureus*) secara kualitatif

No	Kode isolat	Luas Zona Hambat (mm)	Keterangan*
1.	HS1	17	Sensitive
2.	HS2	36	Sensitive
3.	HS3	35	Sensitive
4.	HS4	33	Sensitive
5.	HS5	11	Intermediet
6.	HS6	1	Resisten
7.	HS7	17	Intermediet
8.	HS8	15	Sensitive
9.	HS9	18	Sensitive
10.	Kontrol +	15	Sensitive
11.	Kontrol -	-	-

* Resisten (≤ 13 mm), Intermediet (14-16 mm), Sensitive (≥ 17 mm) (*Standar Clinical and Laboratory Standarts Institute(CLSI)*)

Berdasarkan hasil uji skrining secara kualitatif dihasilkan kesembilan isolat bakteri memiliki aktivitas daya hambat terhadap bakteri patogen MRSA dan dipilih lima isolat yang memiliki aktivitas penghambatan MRSA tinggi untuk tahap uji selanjutnya. Kelima isolat yang memiliki aktivitas daya hambat tertinggi yaitu isolat HS2 (36 mm), HS3(35 mm), HS4

(33mm), HS8 (18 mm) dan HS9 (17 mm). Isolat HS2 dan HS3 memiliki luas zona hambat dua kali lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif (penicillin). Penicillin merupakan salah satu antibiotik golongan methicillin yang sudah mengalami resisten terhadap *Staphylococcus aureus*. Menurut Rossolini dkk. (2014) salah satu bentuk dari resistensi antibiotik oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu resisten terhadap antibiotik golongan penisilin.



Gambar 1. Hasil uji zona hambat isolat Bakteri Symbion terhadap MRSA. 1 (Isolat HS1), 2 (Isolat HS2), 3 (Isolat HS3), 4 (Isolat HS4), 5 (Isolat HS5), 6 (Isolat HS6), 7 (Isolat HS7), 8 (Isolat HS8), 9 (Isolat HS9), K+ (Kontrol +/penicillin), K- (Kontrol -/Aquadest steril).

Berdasarkan hasil pada Gambar 1 terlihat bahwa ada dua isolat bakteri yaitu HS2 dan HS3 yang memiliki daya hambat lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif. Isolat HS2 memiliki aktivitas paling tinggi dibandingkan dengan isolat lainnya. Perbedaan tingkat aktivitas yang ditunjukkan oleh masing-masing isolat bakteri dapat disebabkan oleh berbedanya jenis metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing-masing isolat. Strain berbeda dari isolat bakteri memproduksi metabolit yang berbeda pula seperti antibiotik polymyxin and bacitracin yang diproduksi dari bakteri *Bacillus*, streptomycin dari *Streptomyces* dan cephalosporin dari *Cephalosporium* (Sethi dkk., 2017).

Metabolit sekunder (*free cell*) yang diproduksi oleh masing-masing isolat bakteri berupa senyawa bioaktif yang sama dengan bioaktif yang dihasilkan oleh inangnya (Yuliana, 2014). Berdasarkan penelitian Dhinakaran & Lipton (2014) menyatakan bahwa *Holothuria scabra* telah terbukti sebagai agen bakteri yang potensial. Potensi ekstrak antibakteri dari *Holothuria scabra* dapat berasal dari agen antibakteri yaitu senyawa saponin, alkaloid, steroid dan triterpenoid. Senyawa alkaloid dari ekstrak *Holothuria scabra* berpotensi dalam menghambat pertumbuhan gram positif *Staphylococcus aureus* (Yuliana dkk., 2017).

Berdasarkan uji daya hambat yang telah dilakukan maka didapatkan dua isolat yang berpotensi sebagai penghasil Anti-MRSA yaitu isolat HS2 dan HS3. Aktivitas kedua isolat menunjukkan aktivitas yang tinggi jika dibandingkan dengan kontrol penicillin. Berdasarkan standart zona hambat antibiotik, daya hambat isolat HS2 dan HS3 termasuk kategori sensitive. Menurut *Clinical and Laboratory Standarts Institute* (CLSI) untuk antibiotik penicillin yang menunjukkan resistensi memiliki zona hambat ≤ 13 mm, intermediet 14-16 mm dan sensitive ≥ 17 mm.

Metabolit sekunder dalam bentuk antibiotik yang dihasilkan oleh kedua isolat tergolong spesifik dalam menghambat bakteri Gram negatif. Salah satu permasalahan yang sedang dihadapi saat ini terkait antibiotik adalah ketidakspesifikan target antibiotik komersil yang sudah beredar. Hasil penelitian ini menunjukkan potensi antibiotik yang memiliki spesifikasi dalam menghambat bakteri target patogen MRSA yang ditunjukkan oleh isolat HS2 dan HS3 karena memiliki aktivitas yang tinggi dibandingkan dengan penicillin dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA.

Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu berdasarkan hasil isolasi bakteri dari *Holothuria scabra* diperoleh sebanyak 9 isolat bakteri (HS1, HS2, HS3, HS4, HS5, HS6, HS7, HS8 dan HS9) dengan karakteristik dan kemampuan daya hambat yang berbeda dalam menghambat bakteri MRSA dan berdasarkan uji daya hambat secara kualitatif diperoleh bahwa isolat bakteri HS2 dan HS3 memiliki potensi untuk dijadikan sebagai agen anti-MRSA (*Methicilin-resistant Staphylococcus aureus*). dengan zona hambat sebesar 35 mm dan 36 mm.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana hibah pada Penelitian Dosen Pemula ini serta kepada LPPM STIKES Mandala Waluya kendari yang telah memfasilitasi dalam pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Cayabo, G.D.B. and Omar, A.M., 2016, Antibacterial Potential of Crude Extrac from Sea Cucumber *Holothuria fuscoscineria* Jaeger, 1833, *The Palawan Scientist* 8: 47-61.
- Dhinakaran, D.I. dan Lipton, A.P., 2014, Bioactive compounds from *Holothuria atra* of Indian ocean, *SpringerPlus* 3:673.
- Dudy, D. 2009. *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) pada kasus infeksi luka Pasca Operasi di ruang perawatan bedah Rumah Sakit Kariadi Semarang*. Universitas Diponegoro Semarang. Semarang. Tesis.
- Mieke, H.S. 2008. *Multidrug resistance (MDR) bakteri terhadap antibiotik*. FKGUniversitasPadjajaran.
- Oskay, M. 2009. Antifungal and antibacterial compounds from streptomycetes strain. *African journal of biotechnology*. 8 (13) : 3007-3017.
- Pringgenies, D., 2010, Karakteristik Senyawa Bioaktif Bakteri Simbion Moluska dengan GCMS, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis* 2(2): 34-40.
- Roihanah S., Sukoso & Aandayani, S., 2012, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria* sp. Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara Invitro, *J.Exp Sci* 2(1):1-5.
- Rossolini, G.M., Arena, F., Pecile, P dan Pollini, S., 2014, Update on the antibiotic resistance crisis, *Current Opinion in Pharmacology* 2014, 18:56–60
- Sabdaningsih, A., Budiharjo, A., dan Kusdiyantini, E., 2013, Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (*rhodophyta*) dari Perairan Kutuh Bali, *Jurnal Biologi*, Vol 2 (2):11-17.
- Sethi, S, Kumar, R dan Gupta, S., 2013, Antibiotic Production By Microbes Isolated From Soil, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* Vol. 4(8): 2967-2973.
- Sugireng, 2016, Isolasi dan Seleksi Bakteri Proteolitik Lokal yang Berpotensi Dalam Ekstraksi Kolagen dari Sisik Ikan Gabus (*Channa striata*), *Biowallacea* Vol. 3 (2), Hal: 444-454.
- Yuliana, N., 2014, *Isolasi Bakteri Simbion dari Teripang Actinopyga iecanora Jaeger sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba*, Tesis Unhas. Makassar.