

**UJI POTENSI BAKTERI SIMBION *Holothuria scabra* SEBAGAI AGEN ANTI BAKTERI *Escherichia coli* ESBL****POTENTIAL TEST OF BACTERIA SYMBIOTIC WITH *Holothuria scabra* AS *Escherichia coli* ESBL ANTIBACTERIAL AGENT**

Sugireng*, Suwarny

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

*Corresponding author: sugireng92@gmail.com

Abstrak

Bakteri *Escherichia coli* ESBL (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*) adalah bakteri yang memiliki enzim penyebab resistensi terhadap hampir seluruh antibiotik β laktam. Bakteri Simbion Teripang (*Holothuria scabra*) merupakan salah satu kandidat bakteri penghasil senyawa antibiotik yang dapat dijadikan sebagai agen antibakteri *Escherichia coli* ESBL terbaru karena bakteri simbion tersebut memiliki metabolit sekunder berupa 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 antibakteri *Escherichia coli* penghasil ESBL. Pada penelitian ini dilakukan peremajaan isolat bakteri simbion Teripang yang sudah diperoleh pada penelitian sebelumnya dan diuji potensinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ESBL dengan menggunakan metode *paper disc* untuk mengetahui aktivitas daya hambat. Berdasarkan pengujian daya hambat kelima isolat bakteri simbion yaitu isolat HS2, HS3, HS4, HS8 dan HS9 memiliki kemampuan daya hambat lebih besar dibandingkan kontrol positif dan bersifat sensitif dalam menghambat bakteri *Escherichia coli* ESBL. Isolat bakteri HS4 memiliki daya hambat yang lebih besar dibandingkan dengan isolat lainnya yaitu sebesar 65 mm dan berpotensi untuk dijadikan sebagai agen antibakteri *Escherichia coli* ESBL.

Kata kunci: *Bakteri Simbion Holothuria scabra*, *Antibakteri*, *Escherichia coli* ESBL.

Abstract

Escherichia coli ESBL (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*) bacteria are bacteria that have enzymes that cause resistance to almost all β -lactam antibiotics. The sea cucumber symbiont bacteria (*Holothuria scabra*) is one of the candidates for bacteria producing antibiotic compounds which can be used as the newest *Escherichia coli* ESBL antibacterial agent because these symbionts have secondary metabolites in the form of bioactive compounds such as their hosts which have been widely used as antibiotics. The purpose of the study was to explore the potential of bacteria in symbiosis with *Holothuria scabra* from Tanjung Tiram beach to be used as *Escherichia coli* ESBL antibacterials. In this study, the isolates of the Sea Cucumber symbiont bacteria were re-isolated that had been obtained in previous studies and tested for their potential in inhibiting the growth of *Escherichia coli* ESBL with using a paper disc method to determine the activity of the inhibitory power. Based on the inhibition test of the five symbiont bacteria isolates, namely the HS2, HS3, HS4, HS8 and HS9 isolates, they had a greater inhibitory ability than the positive control and were sensitive in inhibiting *Escherichia coli* ESBL. The HS4 bacterial isolate has a greater inhibitory power compared to other isolates, which is 65 mm and has the potential to be used as *Escherichia coli* ESBL antibacterial agent.

Keywords: *Holothuria scabra* symbiont bacteria, *Antibacterial*, *Escherichia coli* ESBL

Pendahuluan

Bakteri penghasil ESBL (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*) adalah salah satu bakteri yang dapat menyebabkan sejumlah penyakit infeksi pada berbagai jaringan tubuh. ESBL adalah enzim yang menyebabkan resistensi terhadap hampir seluruh antibiotik β laktam termasuk penisilin, sefalosporin dan monobaktam. Resistensi suatu bakteri dapat terjadi karena pemberian antibiotik yang tidak tepat dosis, diagnosis yang salah, dan tidak tepat sasaran bakteri penyebabnya (Mieke, 2008). Bakteri penghasil ESBL dapat menghidrolisis penisilin, cephalosporin generasi I, II, III dan aztreonam (kecuali cephameycin dan carbapenem). ESBL berasal dari β -laktamase yang termutasi. Mutasi ini menyebabkan peningkatan aktivitas enzimatis β -laktamase sehingga enzim menghidrolisis cephalosporin generasi III dan aztreonam (Pajariu, 2010). Bakteri ESBL mengalami resistensi beberapa antibiotik yang disebabkan terjadinya mutasi atau perubahan genetik yang disebabkan terapi antibiotik yang berlebihan. Selain penggunaan antibiotik secara berlebihan, pasien dengan penyakit berat dan dirawat dengan peralatan medis yang sifatnya invasif untuk waktu yang lama merupakan salah satu faktor penyebab terinfeksi bakteri penghasil ESBL. Sejak munculnya kasus resistensi terhadap antibiotik β laktam, bakteri ESBL dikenal secara luas sebagai penyebab bakteremia, pneumonia, infeksi pasca operasi serta infeksi nosokomial lainnya. Salah satu bakteri yang telah diketahui banyak menghasilkan ESBL yaitu bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi saluran kemih dan infeksi nosokomial yang sering terjadi di rumah sakit. Berdasarkan penelitian Nazmi dkk. (2017) dihasilkan bahwa unit perawatan intensif di Rumah sakit yang paling banyak ditemukan kasus infeksi bakteri *Escherichia coli* ESBL. Kemudian, ditemukan juga sebanyak empat isolat merupakan *Escherichia coli* penghasil ESBL dari delapan isolat *Escherichia coli* yang diisolasi dari sampel makanan di Krian Sidoarjo (Prasetya dkk., 2019).

Bakteri ESBL dapat menyebabkan infeksi pada kulit, tulang, paru-paru, jantung atau infeksi sistemik. Infeksi ESBL hanya dapat diobati dengan antibiotik tertentu. Namun, apabila antibiotik yang diberikan tidak mampu membunuh bakteri ESBL, infeksi tidak teratasi dan menyebar luas serta membahayakan nyawa penderitanya (Mieke, 2008). Infeksi oleh bakteri ESBL juga sudah mulai meluas di rumah sakit seperti infeksi bakteri pada luka bekas operasi. Dengan meluasnya infeksi bakteri ESBL dan terbatasnya antibiotik yang dapat menghambat infeksi ini, maka alternatif antibiotik yang spesifik terhadap bakteri ESBL (agen Antibakteri ESBL) sangat dibutuhkan. Salah satu antibiotik yang banyak ditemukan yaitu antibakteri yang bersumber dari sumber daya laut seperti dari ekstrak Teripang laut (*Holothuria scabra*). Teripang mengandung senyawa antibakteri yang cukup potensial (Roihanah dkk., 2012). Ekstrak Teripang laut sangat berpotensi dalam menghambat bakteri jenis *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Manoppo dkk., 2017). Selama ini kebutuhan antibakteri banyak diperoleh dari sumber daya laut. Hal tersebut dapat mengurangi biodiversitas hewan yang ada di Laut. Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk memanfaatkan senyawa metabolit bakteri simbiosis Teripang laut yang sudah diketahui berpotensi dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan pada penelitian sebelumnya. Penelitian sebelumnya telah diperoleh 9 isolat bakteri yang bersimbiosis dengan Teripang (Sugireng dan Lio, 2020). Sehingga, peneliti tertarik untuk mengetahui potensi lainnya dari bakteri simbiosis tersebut sebagai agen antibakteri *Escherichia coli* ESBL.

Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksploratif yaitu *mengeksplorasi* potensi bakteri simbion *Holothuria scabra* sebagai agen Antibakteri *Escherichia coli*ESBL. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu:

Kultur Bakteri Simbion

Bakteri simbion yang telah diperoleh pada penelitian sebelumnya dan yang telah diketahui aktivitasnya yaitu isolat HS2, HS3, HS4, HS8 dan HS9 direisolasi atau diremajakan kembali dengan cara ditumbuhkan pada media NA (*Nutrient Agar*) dengan metode gores (*Streak plate*) dan diinkubasi selama 24 jam untuk digunakan pada pengujian selanjutnya

Produksi dan Ekstraksi Senyawa Bioaktif Bakteri

Senyawa bioaktif bakteri diproduksi berdasarkan pengamatan fase pertumbuhan bakteri sebelumnya yaitu pada fase stationer. Proses ini dilakukan dengan mengambil sebanyak 10 % (10^7 sel/mL) kultur bakteri untuk diinokulasikan ke dalam 1000 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 bioaktif berupa supernatan.

Pengujian Senyawa Metabolit Bakteri Terhadap Bakteri ESBL

Uji kualitatif pengujian daya hambat senyawa bioaktif bakteri dilakukan dengan mengujikan ekstrak kasar senyawa metabolit bakteri yang berupa supernatan. Kertas cakram yang berdiameter 6 mm yang telah diinokulasikan supernatan bakteri sebanyak 20 μ l diletakkan di atas permukaan media agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri *Escherichia coli*ESBL 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

Uji daya hambat bakteri dilakukan terhadap 5isolat (HS2, HS3, HS4, HS8 dan HS9) yang telah berhasil direisolasi. Seluruh isolat diuji aktivitasnya terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* ESBL dengan menggunakan metabolit sekunder dengan metode cakram (*paper disc*). Kemampuan daya hambat terhadap ESBL secara kualitatif dapat dilihat pada Tabel 1.

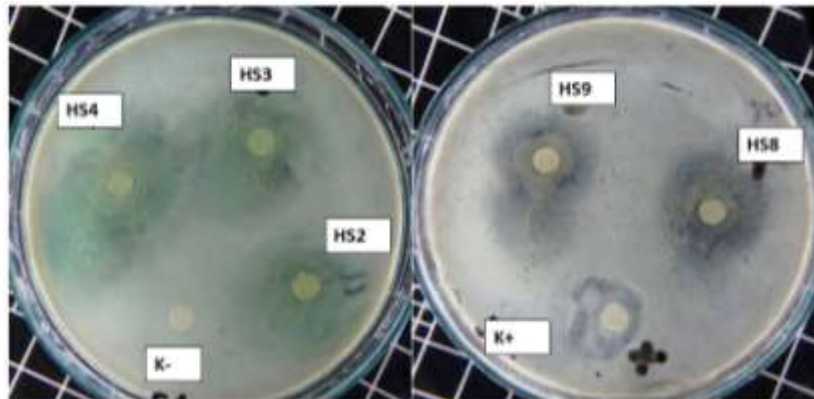
Tabel 1. Kemampuan Daya Hambat Bakteri Simbion *Holothuria scabra* dalam Menghambat Bakteri *Escherichia coli*ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) secara kualitatif

No	Kode Isolat	Luas Zona Hambat (mm)	Keterangan*
1	HS2	50	Sensitive
2	HS3	35	Sensitive
3	HS4	65	Sensitive
4	HS8	45	Sensitive
5	HS9	40	Sensitive
6	Kontrol +	25	Sensitive
7	Kontrol -	-	-

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

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh bahwa kelima isolat memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* penghasil ESBL yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening oleh kelima isolat HS2 (50 mm), HS3 (35 mm), HS4 (65 mm), HS8 (45) dan HS9 (40 mm). Semua isolat bakteri simbiosis *Holothuria scabra* memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL dikarenakan mengandung metabolit sekunder berupa senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini luas zona hambat yang dihasilkan oleh kelima isolat adalah ≥ 17 mm dan bersifat sensitif. Menurut CLSI (2015) dinyatakan resisten apabila luas zona hambat sebesar ≤ 13 mm, Intermediet apabila luas zona hambat sebesar 14-16 mm dan sensitif apabila luas zona hambat sebesar ≥ 17 mm).

Bakteri *Escherichia coli* ESBL mempunyai enzim beta-laktamase yang dapat memutus cincin amida pada cincin beta-laktamase sehingga menyebabkan antibiotik tidak aktif. Enzim beta-laktamase adalah enzim yang dihasilkan oleh beberapa bakteri, enzim ini dapat berfungsi untuk mempertahankan bakteri terhadap antibiotik golongan β -laktam (Farmer *et al.*, 2017). Senyawa metabolit yang terdapat pada bakteri simbiosis *Holothuria scabra* cukup kuat untuk menghambat atau membunuh bakteri *Escherichia coli* ESBL.



Gambar 1. Hasil uji zona hambat isolat Bakteri Simbiosis terhadap bakteri ESBL (*Escherichia coli*). K+ (Kontrol +), K- (Kontrol -/Aquadest steril)

Berdasarkan hasil pada Gambar 1 terlihat bahwa ada dua isolat bakteri yaitu HS2 dan HS4 yang memiliki daya hambat lebih besar dibandingkan dengan HS3, HS8 dan HS9. Perbedaan kemampuan menghambat 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*, streptomisin 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 Nimah dkk. (2012) 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.

Pengamatan dan pengukuran terhadap aktivitas antibakteri dilakukan pada 24 jam dan 48 jam. Berdasarkan pengamatan dihasilkan bahwa zona hambat yang terbentuk tidak berubah dan tidak terlihat bahwa intensitas zona bening berkurang. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa antibakteri dari kelima isolat yang

tersebut bersifat bakteriosidal. Senyawa dengan aktivitas antibakteri terbagi menjadi bakteriostatik dan bakteriosidal. Menurut (Adzitey, 2015) menyatakan bahwa bakteriostatik yaitu suatu agen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri untuk sementara waktu dan akan tumbuh kembali ketika kadar obat sudah berkurang atau habis. Sedangkan, bakteriosidal yaitu suatu agen antibakteri yang menyebabkan kematian terhadap bakteri tersebut.

Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu berdasarkan hasil uji daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* ESBL diperoleh bahwa kelima isolat sediaan *Holothuria scabra* (HS2, HS3, HS4, HS8 dan HS9) memiliki kemampuan daya hambat yang lebih besar dibandingkan kontrol positif dan bersifat sensitive. Isolat bakteri HS2 dan HS4 memiliki luas zona yang luas dibandingkan dengan isolat lainnya sehingga isolat sediaan tersebut memiliki potensi untuk dijadikan sebagai agen antibakteri *Escherichia coli* ESBL.

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

- Adzitey, F. 2015. Antibiotic Classes and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates from Selected Poultry; A Mini Review. *World Vet J*, 5(3): 36-41.
- Farmer III, J. J., Boatwright, K.D., Micheal Janda, J. 2017. Enterobacteriaceae; Introduction and Identification, p. 649-669.
- Manoppo, E.S., Wewengkang, D.S., Kojong, N. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang. *Holothuria Edulis* yang Diperoleh Dari Teluk Manado. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6 (4).
- Mieke, H.S. 2008. *Multidrug resistance (MDR) bakteri terhadap antibiotik*. FKG Universitas Padjajaran.
- Nazmi, M., Mahardik, N.M.A., dan Gunardi, W.D. 2017. Kejadian Infeksi Saluran Kemih oleh Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* Extended Spectrum Beta Lactamase: Studi Kasus di Rumah Sakit Swasta Periode 2012-2015. *J. Kedokt Meditek*, 23 (62): 54-62.
- Nimah, S., Ma'ruf, W.F., Trianto, A. 2012. Uji Aktivitas Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Perikanan*, 1 (2): 1-9.
- Pajariu, A. 2010. *Infection by Extended-spectrum beta lactamase (ESBL) producing bacteria in Dr. Kariadi Hospital Semarang: risk factor related to the usage of antibiotic*, Artikel Ilmiah Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran universitas Diponegoro. Semarang.
- Prasetya, Y.A., Winarsih, I.Y., Pratiwi, K.A., Hartono, M.C. dan Rochimah, D.N. 2019. Deteksi Fenotipik *Escherichia Coli* Penghasil Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) Pada Sampel Makanan Di Krian Sidoarjo. *Life Science*, 8 (1):75-85.

- Sethi, S, Kumar, R dan Gupta, S. 2013. Antibiotic Production By Microbes Isolated From Soil. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(8): 2967-2973.
- Sugireng dan Lio, T.M.P. 2020. Skrining Bakteri Penghasil Senyawa Metabolit Anti-MRSA Yang Bersimbiosis dengan *Holothuria scabra* Asal Perairan Tanjung Tiram. *Bioma : Jurnal Biologi Makassar*, 5 (1) : 34-39.
- Roihanah S., Sukoso dan Aandayani, S. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria* sp. Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara Invitro. *J.Exp Sci* 2(1):1-5.
- Yuliana, N. 2014. *Isolasi Bakteri Symbion dari Teripang Actinopyga iecanora Jaeger sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba*. Tesis Unhas. Makassar.