

Potensi Metabolit Sekunder Isolat Aktinomyces Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Dari Tanah Mangrove Wonorejo Surabaya

Anita Dwi Anggraini¹, Ayu Puspitasari¹, Christ Kartika Rahayuningsih¹

¹) Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Surabaya
Correspondence to: Anitadwi676@gmail.com

ABSTRACT

Tanggal Submit:
15 Maret 2021

Tanggal Review:
23 Oktober 2021

Tanggal Publish
Online:
3 Desember 2021

Infectious diseases are estimated to be the cause of half of all deaths worldwide. About 50-75% of deaths in hospital are reported to be due to infection. This number continues to increase rapidly in line with the development of bacterial resistance to certain antibiotics. One of the causes of resistance due to antibiotic abuse. The number of resistance events that occur encourages new discoveries in order to overcome the problem of resistance. Actinomyces are Gram-positive microscopic bacteria that are widespread in nature. These bacteria can live in various environmental conditions that contain lots of nutrients. Actinomyces population increases in the presence of organic matter that undergoes decomposition. Actinomyces have the ability to produce antimicrobial compounds. The need for antibiotic compounds and chemotherapy compounds that are effective with low toxicity to the host, and the resulting waste can be degraded by the environment, is a problem that needs serious attention. The existence of resistance to antibiotics causes the need to develop new types of antibiotics from natural ingredients and microorganisms that can control microorganisms. Compounds obtained from natural materials, especially plants and microbes, provide promising results in the development of new antibiotic compounds, among the existing types of microorganisms, Actinomyces are the most potential source of producing antibiotics. Apart from antibiotics, actinomyces also produce bioactive compounds of high economic value in the health sector as antiviral and anti-cancer, while in agriculture as herbicides, insecticides, and anti-parasitic compounds. This causes the need to explore actinomyces which have the potential to produce antibiotic compounds against bacteria. This study aims to determine the antibacterial activity of secondary metabolites of actinomyces isolates against cuts infected with *Staphylococcus aureus* resistant methicillin (MRSA) in winstar rats (*rattus norvegicus*). This type of research is carried out in an experimental laboratory. The results showed that the potential for secondary metabolites of actinomyces isolates against MRSA bacteria was classified as strong with an inhibitory index of 10.1.

Keywords : *Actinomyces, Antibacterial, MRSA*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi diperkirakan menjadi penyebab setengah dari kematian di seluruh dunia. Sekitar 50-75% kematian di rumah sakit dilaporkan disebabkan oleh infeksi. Angka ini terus meningkat pesat seiring dengan perkembangan resistensi bakteri terhadap antibiotik tertentu. Salah satu penyebab terjadinya resistensi karena penyalahgunaan antibiotik. Banyaknya kejadian resistensi yang terjadi mendorong penemuan-penemuan baru dalam rangka mengatasi masalah resistensi ini (Tandon dkk, 2015)

Aktinomisetes merupakan bakteri Gram positif bermiselium yang tersebar luas di alam. Bakteri tersebut dapat hidup di berbagai kondisi lingkungan yang banyak mengandung unsur hara (Nurkanto et al., 2008). Populasi aktinomisetes meningkat dengan adanya bahan organik yang mengalami dekomposisi (Oskay, 2004). Beberapa spesies aktinomisetes dapat diisolasi dari lingkungan laut seperti pada ekosistem mangrove. Lingkungan payau pada ekosistem mangrove yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut merupakan tempat terjadinya akumulasi bahan organik dan nutrisi (Arunachalam et al., 2010). Habitat lain Aktinomycetes selain di dalam tanah adalah pada tempat-tempat

ekstrem seperti daerah bekas letusan gunung berapi dan tanah lembab pada ekosistem mangrove.

Aktinomycetes mempunyai kemampuan memproduksi senyawa antimikrobia yang bermanfaat sebagai contoh streptomisin dihasilkan dari *Streptomyces griseus* untuk penyembuhan tuberkulosis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. *Streptomyces violaceusniger* berperan antagonistik terhadap beberapa fungi yang patogen terhadap tanaman (Rabah et al. 2007). Penelitian yang dilakukan Rahayu, dkk (2007) telah berhasil menguji antibiotik yang dihasilkan oleh aktinomycetes yang diambil dari tanah berbagai tumbuhan tingkat tinggi pada *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Trichophyton mentagrophytes*, dan *Candida albicans*. Kebutuhan senyawa antibiotik yang efektif dengan toksisitas terhadap inang rendah, dan limbah yang dihasilkan dapat didegradasi oleh lingkungan, merupakan masalah yang perlu dicermati dengan serius. Adanya resistensi terhadap antibiotik (seperti *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, dan *Streptococcus*) menyebabkan perlu dikembangkan antibiotik jenis baru dari bahan alami dan mikroorganisme yang dapat

mengontrol bakteri patogen (Oskay,2004).

Senyawa-senyawa yang diperoleh dari bahan alam terutama tanaman dan mikroba memberikan hasil yang menjanjikan dalam pengembangan senyawa-senyawa antibiotik baru, diantara jenis mikroorganisme yang ada, actinomycetes merupakan sumber yang paling potensial penghasil antibiotik. Selain antibiotik, actinomycetes juga menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang sangat bernilai ekonomi tinggi dalam bidang kesehatan sebagai antivirus dan anti kanker, sedangkan dalam bidang pertanian sebagai herbisida, insektisida, dan senyawa antiparasit. Hal ini menyebabkan perlu dilakukan eksplorasi aktinomicetes yang berpotensi menghasilkan senyawa antibiotik terhadap bakteri. Isolat aktinomicetes yang digunakan berasal dari isolasi dan karakterisasi dari lingkungan payau hutan mangrove Wonorejo Surabaya dan dalam penelitian ini hanya mengetahui aktivitas antibakteri metabolit sekunder isolat aktinomycetes terhadap penyembuhan luka sayat yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* resistant methicillin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur winstar. Sehingga perlu dilakukan penelitian potensi

metabolit sekunder isolat aktinomycetes sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dari tanah mangrove Wonorejo Surabaya

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu alat gelas, pot sampel saringan hotplate, timbangan analitik, pengaduk kandang tikus, gunting, caution bud, kamera digital.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sedimen mangrove, bakteri uji MRSA, media kultivasi *Starch Casein Nitrate* (SCN) agar, SCN cair, medium Maltosa Yeast Broth (MYB), air steril, akuades, bakteri *Staphylococcus aureus* resistant methicillin, butanol, etil asetat, isolat Actinomycetes asal tanah Mangrove Surabaya, media SNA (Starch Nitrate Agar), media SNB (Starch Nitrate Broth), medium NA (Nutrient Agar), metanol, NaCl 0,9, alkohol 70%, vaselin. Isolat aktinomycetes yang digunakan adalah 3 isolat hasil dari penelitian sebelumnya.

Preparasi metabolit sekunder

Antibakteri Aktinomycetes

1. Preparasi metabolit sekunder
Sebanyak 50 mL media SNB yang sudah ditanami Actinomycetes 2 plug

diinokulasi dalam Erlenmeyer 250 mL, diinkubasi dalam rotary shaker pada suhu kamar dengan kecepatan 200-250 rpm selama 5 hari. Kultur ini disebut kultur starter. Selanjutnya, dilakukan optimasi produksi metabolit sekunder dengan cara membuat kultur lanjutan dari kultur starter sebanyak 20 mL dalam 200 mL SNB. Campuran diinkubasi dalam rotary shaker selama 14 hari pada suhu kamar. Kultur kemudian disentrifus pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh disebut sebagai sumber metabolit sekunder.

2. Penyiapan suspensi bakteri MRSA satu ose bakteri disuspensikan dalam 1 mL media cair BHI, lalu diinkubasi selama 4-8 jam sampai kekeruhannya sebanding dengan standar Mac Farlan 0.5 (108 CFU/mL).
3. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi, metabolit sekunder diinfasikan kedalam kertas disk, untuk ditanamkan pada petridisk yang telah ditanami bakteri MRSA sesuai dengan standar Mac Farlan 0.5
4. Diameter dari zona bening yang terbentuk diukur dan dikategorikan.

Analisis Data

Hasil pengukuran pada zona bening yang terbentuk dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$(d1+d2/2)-x$$

Keterangan :

D1: diameter vertical

D2: diameter horizontal

X : diameter kertas disc

Kategori index hambat

>20 : sangat kuat

11-20 : kuat

6-10 : sedang

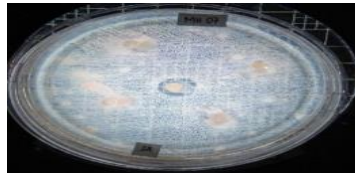
<5 : lemah

HASIL PENELITIAN

Potensi Metabolit Sekunder Aktinomisetes yang Bersifat Antagonis terhadap MRSA

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA terhadap 3 isolat aktinomisetes dilakukan pada media Mueller Hinton agar (MHA) dengan masa inkubasi selama 1x24 jam. Metode yang digunakan adalah difusi keeping agar, sebelum diberikan kepingan agar dari metabolit sekunder isolat aktinomisetes sebelumnya MHA telah ditanami biakan murni bakteri MRSA setara dengan 0,5 standar mac farland atau setara 108 kuman MRSA. Dari 3 isolat terdapat 1 isolat yang mampu

menghambat pertumbuhan bakteri MRSA dengan diameter 16.1 mm.



Gambar 1. Terdapat daya hambat zona bening aktinomisetes terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona bening 16.1 mm

PEMBAHASAN

Hasil menunjukkan bahwa isolat aktinomisetes yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA yaitu dengan index daya hambat sebesar 11,1 yang artinya potensi metabolit sekunder dari isolate aktinomisetes dalam kategori kuat sehingga berpeluang untuk menjadi alternative dalam mengendalikan pertumbuhan dari bakteri MRSA. Pada penelitian sebelumnya dengan analisis tingkat moleculer didapatkan spesies dari aktinomisetes adalah *Streptomyses cinamoneus*, spesies ini didapatkan dari kriteria tanah pada lokasi yang terletak diantara perakaran mangrove dan kurang terkena cahaya matahari, pada pH 6,5, suhu 29°C dengan tekstur tanah berada pada kelembapan yang tinggi dan berada pada perakaran besar pohon mangrove Wonorejo Surabaya.

Penelitian dari Nur tahun 2018 menyatakan bahwa hasil skrining

fitokimia dengan metode KLT dapat disimpulkan bahwa metabolit sekunder dari aktinomisetes memiliki kandungan flavonoid dan alkaloid. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein pada dinding sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil karena struktur protein sel bakteri menjadi rusak karena adanya ikatan hidrogen dengan flavonoid, sehingga protein sel bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologisnya. Akibatnya, fungsi permeabilitas sel bakteri terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri (Harborne, 2003). Menurut Farida dkk (2010) keaktifan biologis dari senyawa alkaloid disebabkan karena adanya gugus basa yang mengandung nitrogen. Adanya gugus basa ini apabila mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan senyawa-senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan juga DNA bakteri yang merupakan penyusun utama inti sel yang merupakan pusat pengaturan segala kegiatan sel.

Penelitian Jannah, dkk., (2013) sebanyak 3 dari 43 isolat aktinomisetes mampu menghasilkan zona bening

terhadap *Staphylococcus aureus*. Ambarwati dan Gama (2009) mengisolasi aktinomisetes dari tanah sawah, sebanyak 3 dari 35 isolat aktinomisetes mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan kode isolat SR13, SR1 dan SR6, masing-masing membentuk zona bening sebesar 14,66 mm, 24,66 mm, dan 5 mm. Pada penelitian Ratnakomala (2018) mengisolasi aktinomisetes dari aktinomisetes laut di mangrove pulau Enggano didapatkan hasil diantara 23 isolat aktinomisetes laut dari pulau Enggano yang berhasil diidentifikasi, 3 isolat (13%) menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi pada *B. subtilis*, 4 isolat (17,4%) dan 1 isolat (0,04%) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E.coli*. Terhambatnya pertumbuhan bakteri oleh isolate aktinomisetes membentuk zona bening disekitar koloni aktinomisetes hal ini dikarenakan adanya senyawa metabolit sekunder aktinomisetes yang bersifat antibakteri, metabolit tersebut berdifusi ke dalam media dan mencegah pertumbuhan bakteri.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa potensi metabolit sekunder isolat aktinomisetes lingkungan payau dari sedimen

mangrove daerah Wonorejo Surabaya dalam menghambat MRSA tergolong kuat.

Saran dalam penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jenis senyawa metabolit sekunder dari isolate aktinomisetes dan uji antibakteri terhadap mikroorganisme lain seperti fungi dan bakteri patogen lain selain MRSA.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali Hassoun, Peter K. Linden and Bruce Friedman, Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations—a review of recent developments in MRSA management and treatment, *Critical Care*, 21, 1, (2017), 211 <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1801-3>
- A. Asnani, D. Ryandini and Suwandri, Screening of Marine Actinomycetes from Segara Anakan for Natural Pigment and Hydrolytic Activities, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 107, (2016), 012056 <https://doi.org/10.1088/1757-899x/107/1/012056>
- Binod Lekhak, Anjana Singh and Dwij Raj Bhatta, Antibacterial and Antifungal Property of Actinomycetes Isolates from Soil and Water of Nepal, *Journal of Nepal Health Research Council*, 16, 2, (2018), 136-139 <https://doi.org/10.3126/jnhrc.v16i2.20298>

- C. J. Chen and Y. C. Huang, New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia, *Clinical Microbiology and Infection*, 20, 7, (2014), 605-623 <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12705>
- Daniel J. Diekema, Michael A. Pfaller, Dee Shortridge, Marcus Zervos and Ronald N. Jones, Twenty-Year Trends in Antimicrobial Susceptibilities Among *Staphylococcus aureus* From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, *Open Forum Infectious Diseases*, 6, Supplement_1, (2019), S47-S53 <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy270>
- Dilip,C.V., Hamman,M.T,S.S., Mohalkar,R.Y.2013 A review on Aktinomisetes and Their Biotechnological Application. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 4 (5) :1730-1742
- Istiant, Y., Koesoemowidodo, R.S.A., wantanabe, Y., Pranamuda,H., and Marwoto,B.2012. Application of phenol treatment for the Isolation of rare aktinomisetes fro Indonesia soil. *Microbiology Indonesia* 6(1) : 42
- Kelly M. Craft, Johny M. Nguyen, Lawrence J. Berg and Steven D. Townsend, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype, *MedChemComm*, 10, 8, (2019), 1231-1241 <https://doi.org/10.1039/C9MD00044E>
- Li,Q., Chen,X., Jiang,C.2016 *Actinobacteria-Basics and Biothenological Applications Morphological Identification of Actinobacteria* : 59-86
- Olga Genilloud, *Actinomycetes: still a source of novel antibiotics*, *Natural Product Reports*, 34, 10, (2017), 1203-1232 <https://doi.org/10.1039/C7NP00026J>
- Pandey, B. Ghimire, P. Agrawal, V.P. "Studies on The Antibacterial of The Actinomycetes Isolated From The Khumbu Region of Nepal". (<http://www.aehms.org/pdf/panday%20F.pdf>, diakses 12 Desember 2018).
- Sutejda, E., Suwarsa, O., and Sudigdoadi,S. 2013. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* pada penderita Dermatitis Atopik dan Sensitifitasnya terhadap mupirosin dibandingkan dengan Gentamisin. *Majalah Kedokteran Bandung* 45(1) :35-43
- Tandon, Chandni, Priti Mathur, dan Manoo Deep Sen. 2015. *Andrographis paniculata* Nees (Kalmegh): A Review on Its Antibacterial Activities and Phytocompounds. *European Journal of Medicinal Plants*. 8(1) : 1-10