

Potensi Antibakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli* dari Ekstrak Kasar Bakteri Asosiasi Karang Batu yang Terinfeksi Penyakit *Brown Band* (Brb)

Funty Septiyawati*¹, Arniati Massinai², Abdul Haris², Murni Mursyid³

¹Prodi Ilmu Kelautan, FKPK Universitas Muhammadiyah Palopo

²Jurusan Ilmu Kelautan, FIKP Universitas Hasanuddin Makassar

³Prodi Farmasi, FKPK Universitas Muhammadiyah Palopo

Jln. Jenderal Sudirman KM. 3 Kota Palopo

*Email : Funtyseptiyawati@umpalopo.ac.id

Abstrak

Peningkatan jumlah kasus resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik akhir-akhir ini memicu peningkatan pencarian sumber senyawa antimikroba baru. Salah satu sumber potensial penghasil senyawa antimikroba adalah bakteri yang berasosiasi dengan karang yang terinfeksi penyakit. Tujuan penelitian ini adalah memperoleh ekstrak bakteri yang berasosiasi dengan karang yang memiliki aktivitas antimikroba *S. aureus* dan *E. coli*. Penelitian ini menggunakan 3 isolat bakteri asosiasi jenis *Pseudomonas* sp, *Flavobacterium* sp dan *Bacillus* sp. Hasil skrining awal dengan metode *High Throughput Screening* (HTS) hanya ekstrak isolat bakteri *Flavobacterium* sp yang memiliki aktivitas antibakteri, selanjutnya hasil uji difusi agar menunjukkan adanya potensi terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona bening 0,7 mm, sedangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* tidak memiliki aktivitas.

Kata kunci— Senyawa Antibakteri, Bakteri Asosiasi Karang Batu, Brown Band

Abstract

The increasing number of cases of pathogenic bacteria resistant to antibiotics has recently triggered an increasing search for sources of new antimicrobial compounds. One of the potential sources of producing antimicrobial compounds is bacteria associated with corals infected with the disease. This study aimed to obtain a bacterial extract associated with corals that have the antimicrobial activity of S. aureus and E. coli. This study used 3 isolates of association bacteria types Pseudomonas sp, Flavobacterium sp, and Bacillus sp. The results of initial screening with the High Throughput Screening (HTS) method only extracts of the bacteria isolate Flavobacterium sp which have antibacterial activity, then the results of diffusion tests show the potential for Staphylococcus aureus with a clear zone diameter of 0.7 mm, while the Escherichia coli bacteria have no activity.

Keywords— Antibacterial Compounds, Rock Coral Association Bacteria, Brown Band

1. PENDAHULUAN

Kasus resistensi dari beberapa bakteri pathogen terhadap antibiotic saat ini meningkat, untuk mencari senyawa antimikroba baru semakin banyak dilakukan. Resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik-antibiotik yang ditemukan telah menjadi masalah besar bagi dunia kesehatan. Pencarian suatu antibakteri sangat perlu dilakukan untuk menanggulangi patogen penyakit pada manusia. Pencarian sumber senyawa antimikroba telah dilakukan pada organisme laut seperti spons, lamun, rumput laut, teripang dan sebagainya.

Penelitian tentang penggunaan bahan aktif yang berasal dari laut telah banyak dilakukan. [1] melaporkan bahwa ekstrak kasar bakteri yang berasosiasi dengan spons jenis *Acanthostrongylophora* sp memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Vibrio cholera*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Selanjutnya [2] mendapatkan fraksi dari ekstrak lamun *Enhalus acoroides* yang berasal dari Kepulauan Spermonde Makassar dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Namun informasi tentang bahan aktif yang berasal dari karang masih sangat kurang. Karang merupakan hewan masif yang rentan terhadap predator dan perubahan parameter lingkungan yang ekstrim. Sehingga untuk mempertahankan diri karang menghasilkan metabolit sekunder.

Penelitian tentang penggunaan bahan aktif yang berasal dari karang sebagai antimikroba masih sangat terbatas. Penelitian [3] mengungkap bahwa ekstrak karang lunak *Sinularia* sp yang berasal dari Kepulauan Seribu memiliki potensi sebagai antikanker. [4] mendapatkan bakteri asosiasi pada lendir karang *Acropora palmata* yang berasal dari kanal Florida Keys dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dan Gram positif, yaitu *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium*, dan *Serratia marcescens* yang diisolasi dari karang yang terinfeksi penyakit *white pox*. Ekstrak yang diambil dari bakteri yang berasosiasi dengan organisme memiliki kelebihan dalam hal jumlah sampel. Untuk mengekstrak organisme dibutuhkan jumlah sampel yang lebih banyak dibanding dengan bakteri asosiasi organisme. [5] menyatakan bahwa bakteri yang berasosiasi menghasilkan zat bioaktif yang sama dengan inangnya.

Pengambilan senyawa aktif biasanya diambil dari bakteri asosiasi organisme sehat, tetapi untuk pengambilan dari organisme yang terinfeksi penyakit belum pernah dilakukan, padahal bakteri yang berasosiasi dengan organisme yang sakit untuk bertahan hidup dan berada pada lingkungannya akan mengeluarkan metabolit sekunder untuk melawan bakteri patogen. [6] melakukan Skrining bakteri yang berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp. sebagai penghasil senyawa antimikroba dengan hasil senyawa dari bakteri yang didapatkan dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen.

Peningkatan prevalensi resistensi bakteri patogen telah banyak dilaporkan selama bertahun-tahun di berbagai daerah di dunia termasuk negara-negara berkembang, dikaitkan dengan perubahan karakteristik mikroba, tekanan selektif penggunaan antimikroba, perubahan teknologi yang meningkatkan pengembangan dan transmisi yang resistan terhadap obat organisme [7]. [8] melaporkan bahwa jenis bakteri patogen *S. aureus* dan *Escherichia coli* telah menjadi kebal terhadap antibiotik, sehingga perlunya pengembangan suatu zat kimia yang memiliki kandungan sebagai antibakteri.

S. aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat yang tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur. *S. aureus* bersifat patogen yang menyebabkan hemolisis, membentuk koagulasi dan mampu meragikan manitol [9]. Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah.

Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat di antaranya pneumonia, mastitis, phlebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis dan endokarditis [10].

E. coli adalah bakteri yang secara normal hidup di saluran pencernaan manusia dan hewan. Bakteri ini berbentuk batang dan termasuk bakteri Gram negative. Meskipun bakteri *E. coli* secara normal hidup di saluran pencernaan, banyak kasus diare yang disebabkan oleh bakteri ini. Banyak terjadi kasus EHEC (*Enterohaemorrhagic Escherichia coli*) terutama disebabkan oleh *E. coli* O157:H7. Bakteri ini merupakan satu serotype *E. coli* yang bersifat patogen dan berbahaya bagi manusia.

Penemuan antimikroba baru sebagai antibakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli* dan lingkungan perairan laut, maka penelitian tentang uji antibakteri asosiasi karang batu yang terinfeksi penyakit BrB penting untuk dilakukan.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei hingga Oktober tahun 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Laut dan Laboratorium Penyakit dan Parasit Ikan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Stok Bakteri

Stok bakteri asosiasi karang yang terinfeksi penyakit BrB diambil di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Unhas. Sampel karang *Acropora formosa* berasal dari Pulau Barranglompo yang diambil pada bulan Mei 2014, titik koordinat pengambilan sampel 05° 3' 14" BT dan E 119° 19' 32" LS, Stok bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio harveii* dan *Aeromonas hydrophyla* diambil dari laboratorium Karantina Ikan Makassar.

2.2.2 Pembuatan Media

Media yang digunakan terdiri dari Tryptic Soy Broth (TSB) dan Tryptic Soy Agar (TSA)

2.2.3 Peremajaan Stok Bakteri

Peremajaan bakteri asosiasi penyakit BrB dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan ose bulat kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi Medium TSB, inkubasi dengan suhu 30°C selama 1 x 24 jam. Bakteri yang telah tumbuh ditandai dengan terjadinya perubahan medium dari jernih menjadi keruh.

2.2.4 Peremajaan Bakteri Patogen

Peremajaan bakteri patogen dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri dengan ose bulat kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi Medium TSB, inkubasi dengan suhu 30°C selama 1 x 24 jam. Bakteri yang telah tumbuh ditandai dengan terjadinya perubahan medium dari jernih menjadi keruh.

2.2.5 Skrining Awal Antibakteri

Bakteri uji diremajakan pada medium TSB, kemudian disiapkan Larutan H₂SO₄ 0,36 N sebanyak 99,5 ml dicampurkan dengan larutan BaCl₂.2H₂O 1,175% sebanyak 0,05 ml dalam tabung reaksi. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Victor,1980). Selanjutnya konsentrasi bakteri diukur menggunakan spektrofotometer. Nilai standar untuk uji Mc Farland dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Standar kekeruan Mcfarland

| Standar McFarland | CFU (x10 ⁶ /mL) | 1% BaCl ₂ / 1% H ₂ SO ₄ (mL) |
|-------------------|----------------------------|---|
| 0,5 | <300 | 0.05 / 9.95 |
| 1 | 300 | 0.1 / 9.9 |
| 2 | 600 | 0.2 / 9.8 |
| 3 | 900 | 0.3 / 9.7 |
| 4 | 1200 | 0.4 / 9.6 |
| 5 | 1500 | 0.5 / 9.5 |
| 6 | 1800 | 0.6 / 9.4 |
| 7 | 2100 | 0.7 / 9.3 |
| 8 | 2400 | 0.8 / 9.2 |
| 9 | 2700 | 0.9 / 9.1 |
| 10 | 3000 | 1.0 / 9.0 |

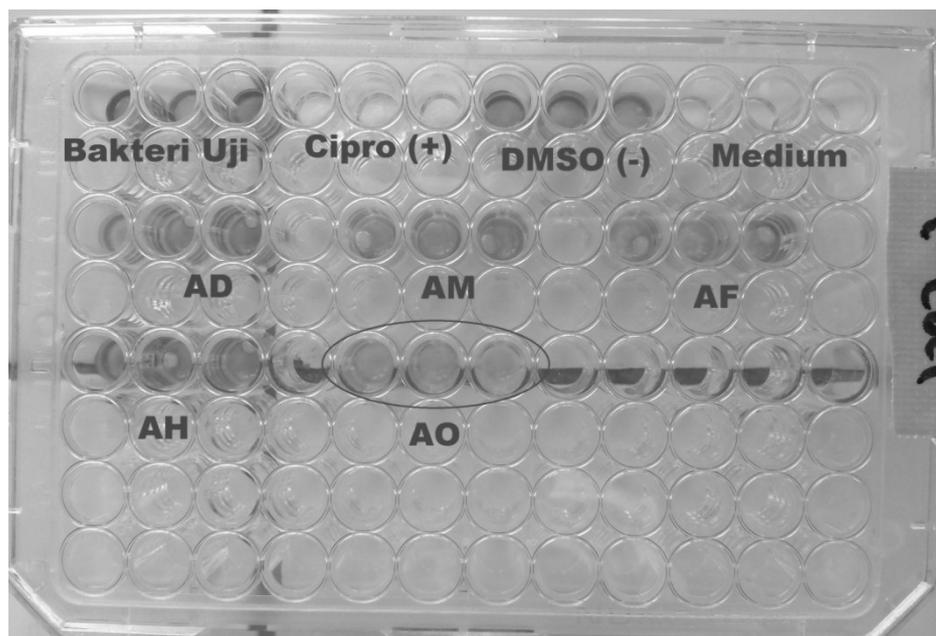
Sumber : Sutton, 2011

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Skrining Awal Aktivitas Antibakteri

Skrining awal aktivitas antibakteri dalam penelitian ini menggunakan metode *high throughput screening* (HTS). HTS merupakan salah satu alternatif cara yang paling efektif dan efisien untuk melakukan penapisan (seleksi) dan mengetahui potensi suatu mikroorganisme (bakteri, actinomycetes, fungi maupun yeast) dalam jumlah besar serta waktu yang singkat [11].

Stok Isolat bakteri asosiasi karang batu yang terinfeksi penyakit BrB yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri jenis *Pseudomonas* sp, *Flavobacterium* sp dan *Bacillus* sp. Hasil uji aktivitas antibakteri ke tiga ekstrak isolat bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio harvei* dan *Aeromonas Hydrophyla* dengan metode HTS disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil skrining awal aktifitas antibakteri ekstrak bakteri karang batu yang terinfeksi BrB dengan metode HTS (*High Throughput Screening*).

Gambar 1 memperlihatkan bahwa dari ketiga isolat yang diuji aktivitasnya hanya isolat bakteri jenis *Flavobacterium* yang memiliki aktivitas terhadap bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli*, sedangkan terhadap bakteri patogen *V. harvei* dan *A. Hydrophyla* tidak memiliki aktivitas. Adanya aktivitas ditandai dengan terjadinya perubahan warna terhadap ekstrak uji setelah pemberian indikator pertumbuhan bakteri MTT, sedangkan isolat lainnya tidak memiliki aktivitas yang ditandai terjadi perubahan warna menjadi biru-ungu setelah pemberian MTT. Hal ini didukung oleh pernyataan [12] bahwa penggunaan indikator pertumbuhan bakteri MTT dengan metode HTS, apabila terjadi perubahan warna sampel menjadi warna biru-ungu menandakan adanya pertumbuhan bakteri berarti bahan aktif yang diuji tidak memiliki aktivitas, sedangkan apabila tidak mengalami perubahan warna menandakan tidak ada pertumbuhan bakteri berarti bahan uji mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen (bakteri uji).

Hasil penelitian [13] mendapatkan bakteri asosiasi pada karang *Acropora* sp sehat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Aeromonas hydrophyla*.

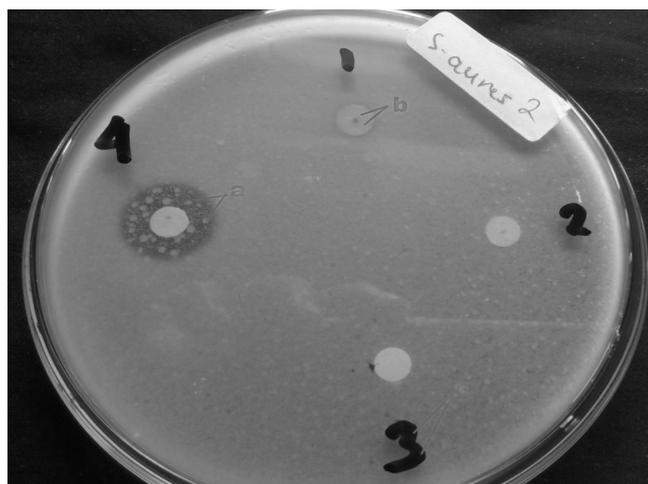
3.2 Karakteristik Bakteri Asosiasi Karang ang Terinfeksi Penyakit BrB

Karakteristik bakteri asosiasi karang batu yang terinfeksi penyakit BrB yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yaitu berwarna putih susu, bentuk koloninya bulat (*circular*), elevasi *convex* dengan tepi *entire*, Termasuk ke dalam Gram negatif, kebutuhan terhadap oksigen termasuk aerob, bersifat non motil, oksidasi positif dan katalase positif. Karakteristik *Flavobacterium* sp ini seperti yang dikemukakan oleh [14] bakteri *Flavobacterium* memiliki bentuk sel berupa batang, diameter koloni mulai dari 0,2-2 μ m, koloni berwarna kuning tua, termasuk ke dalam Gram negatif, kebutuhan terhadap oksigen termasuk aerob, bersifat non motil, oksidasi positif dan katalase positif. Hal ini sejalan dengan pernyataan [15].

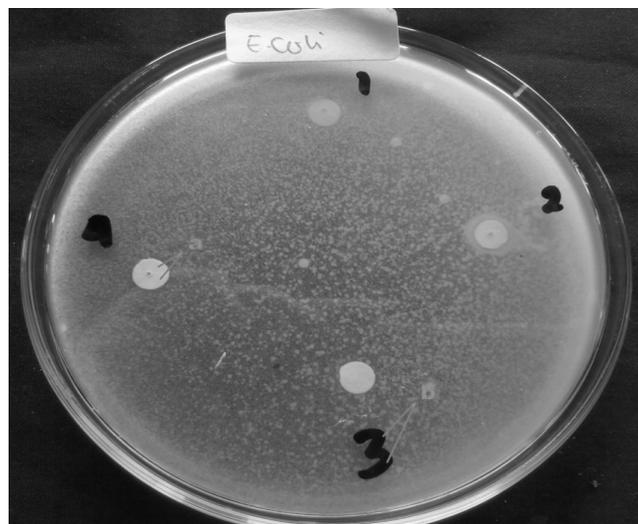
3.3 Potensi Antibakteri Ekstrak Bakteri Asosiasi Karang yang Terinfeksi BrB

Sebelum dilakukan uji potensi aktifitas antibakteri dari ekstrak bakteri *Flavobacterium* sp dilakukan fermentasi selama 3 hari untuk menentukan fase stationer. Namun berdasarkan hasil uji difusi tidak ditemukan adanya zona bening disekitaran paper disk, sehingga digunakan lama fermentasi selama 3 hari berdasarkan hasil pengamatan [13] mendapatkan fase stationer *Champbacterium* sp bakteri yang berasosiasi dengan karang *Acropora* sp sehat yaitu pada hari ketiga.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari bakteri asosiasi karang batu yang teinfeksi penyakit BrB terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ditunjukkan dengan terdapat zona bening disekitar paper disk (Gambar 2 dan 3). Dan diameter zona bening aktivitas antibakteri *Flavobacterium* sp terhadap *S. aureus* dan *E. coli* disajikan pada Tabel 2.



Gambar 2. Uji aktifitas terhadap bakteri *S. aureus* (a) Zona Bening (b) Paper Disk (c) Kode Sampel (1) Ekstrak (2&3) Kontrol negatif (4) Kontrol positif.



Gambar 3. Uji aktifitas terhadap bakteri *E. coli* (a) Paper Disk (b) Kode Sampel (1) Ekstrak (2&3) Kontrol negatif (4) Kontrol positif.

Gambar 2 dan 3 menunjukkan terdapat zona bening (0,7 mm) disekitar paper disk pada cawan petri yang mengandung bakteri *S. aureus*. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak *Flavobacterium* sp memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif., sedangkan cawan petri yang mengandung bakteri *E.coli* tidak terdapat zona bening disekitar paper disk, berarti ekstrak uji tidak memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram negatif. Hal ini didukung dengan pernyataan [16] bahwa bakteri yang menunjukkan aktifitas ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitaran koloni bakteri. [17] juga menemukan bakteri *Flavobacterium* sp dengan kode sampel NJ2-9-1 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Agrobacterium tumefaciens*. Sedangkan pada kode sampel NJ6-10-1, QD1-6 dan QD3-10 dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*.

Tabel 2. Diameter zona bening aktivitas antibakteri bakteri *Flavobacterium* sp terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

| Ulangan | Diameter zona bening (mm) | |
|------------------|---------------------------|------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> |
| 1 | - | 0,2 |
| 2 | - | 0,4 |
| 3 | - | 1,3 |
| Rata-rata | | 0,7 |

Tabel 3. Diameter zona bening aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

| Genus bakteri | Diameter zona bening (mm) | |
|--------------------------|---------------------------|----------------|
| | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> |
| <i>Pseudomonas</i> sp | 3-5 | - |
| <i>Flavobacterium</i> sp | 0-3 | - |
| <i>Bacillus</i> sp | ≥5 | 0-3 |

Sumber : Zheng (2005)

Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai rata-rata zona bening disekitar paper disk ekstrak uji, yaitu 0,7 mm. Hasil penelitian [17] mendapatkan ekstrak *Flavobacterium* sp diujikan terhadap *S. aureus* memiliki zona bening antara 0-3 mm dapat dilihat pada tabel 3.

Perbedaan aktivitas dari senyawa anti bakteri dari terhadap kedua bakteri tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan dinding selnya, *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang struktur dinding selnya terdiri dari tiga lapis, sedangkan bakteri *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang ber dinding sel berlapis tunggal. [18] menyatakan bahwa struktur dinding sel bakteri *S.aureus* yang berlapis tunggal dan relatif sederhana akan memudahkan masuknya zat-zat yang dapat merusak sel bakteri, sedangkan bakteri *E. coli* struktur dinding selnya berlapis tiga. Membran luar berfungsi sebagai penyaring molekul dan merupakan membran asimetrik yang terdiri dari lapisan fosfolipid, lipopolisakarida,

lipoprotein dan protein, sehingga molekul dari luar tidak mudah masuk. Selain itu, bakteri Gram negatif memiliki endotoksin berupa polisakarida yang pada keadaan tertentu bersifat toksik yang mampu mengeluarkan molekul yang akan masuk ke sel.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa ekstrak bakteri *Flavobacterium* sp yang merupakan bakteri asosiasi dengan *Acropora formosa* yang terinfeksi penyakit BrB memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ginting EL., Warouw V., Suleman RW., 2010. Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Kasar Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Sponge *Acanthostrongylophora Sp.* *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis.* 6(3).
- [2] Lisdayanti E., 2013. *Potensi Antibakteri Dari Bakteri Asosiasi Lamun (Seagrass) Dari Pulau Bonebatang Perairan Kota Makassar.* (Skripsi). Makassar: Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan UNHAS.
- [3] Priyatmoko W., 2008. *Aktivitas Antibakteri Karang Lunak Hasil Transplantasi (Sinularia Sp.) Pada Dua Kedalaman Berbeda Di Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu, Dki Jakarta.* (Skripsi). Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan FPIK Institut Pertanian Bogor.
- [4] Ritchie K., 2006. Regulation of microbial populations by coral surface mucus and mucus-associated bacteria. *Marine Ecology.* 322 : 1-14.
- [5] Sartika R., Melki, Purwiyanto AI., 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Eucheuma cottoni* terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* dan *Salmonella typhosa*. *Maspuri Journal.* 5(2): 103.
- [6] Abubakar H., Wahyudi AT., Yuhana M., 2020. Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons Jaspis sp. Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. *Indonesian Journal of Marine Sciences.* 16(1): 35-40.
- [7] Byarugaba D., 2009. Department of Veterinary Microbiology and Parasitology. Faculty of Veterinary Medicine. *Makerere University.*
- [8] Kumala S., Agustina E., Wahyudi P., 2007. Uji Aktifitas Antimikroba Metabolit Sekunder kapang Endofit Tanaman trengguli. *Bahan alam Indonesia.* 6(2) : 46-48.
- [9] Warsa U., 1994. *Staphylococcus dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran.* Edisi Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara. 103-110.

- [10] Ryan KJ., Champoux JJ., Falkow S., Plonde JJ., Drew WL., Neidhard FC., Roy CG., 1994. *Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases*.
- [11] Haryo R., 2014. Pemanfaatan Sistem High Throughput Screening (Hts) Untuk Penapisan Dan Mengungkap Potensi Mikroba Unggulan.
- [12] Haris A., Massinai A., Werolilangi S., 2013. Uji Antibakteri Patogen Ekstrak Sponge Menggunakan Metode HighTroughput Screening(HTS) dengan indikator MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyltetrazolium bromide. *Jurnal Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan*.
- [13] Massinai A., Yusuf S., Jalil A., 2013. Laju Infeksi Dan Kemampuan Invasi Penyakit Brown Band (BrB) Terhadap Beberapa Karang Bercabang Di Pulau Barranglompo. [Skripsi]. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan UNHAS.
- [14] Wahyuni P., 2011. Bioteknologi. [Makalah].
- [15] Jaelani I., 2014. Bakteri Asosiasi Pada Karang *Pachyseris Sp.* yang Terinfeksi [Skripsi]. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan UNHAS.
- [16] Nofiani R., Nurbetty, Sapar., 2009. Aktivitas Antimikroba EkstrakMetanol Bakteri Berasosiasi Spons Dari Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat, Pontianak. [Skripsi]. Universitas Tanjung Pura.
- [17] Zheng L., Xiaotian HAN., Halmin C., Wei L., Xiaojun Y., 2005. Marine bacteria associated with marine macroorganisms: the potential antimicrobial resources. *Annals of Microbiology*. 55(2): 119 – 124.
- [18] Pelczar M., Chan., 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 2.