

## Bioprospeksi Bakteri Simbion Dari Gastropoda *Conus miles* Terhadap Strain Bakteri MDR(Multi Drug Resistant)

Delianis Pringgenies

Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Diponegoro, Kampus Tembalang Semarang  
E-mail:pringgeies@yahoo.com

### Abstrak

Keberadaan bakteri yang berasosiasi dengan moluska laut telah memungkinkan penggunaan mikro-organisme tersebut sebagai sumber senyawa bioaktif yang baru termasuk senyawa antimikroba khususnya dalam menangani strain strain yang resisten terutama multi-drugs resistant (MDR). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri dari gastropoda *Conus miles*, menskrining bakteri simbiotiknya yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap strain bakteri MDR. Sampling moluska dilakukan di perairan pulau Ternate, Maluku. Selanjutnya dilakukan isolasi bakteri, skrining bakteri penghasil senyawa anti-MDR, uji antibakteri moluska, isolasi bakteri patogen klinik (MDR), uji sensitifitas antibakteri dan analisis sekuen 16S rDNA. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri simbion *Conus miles* yang dapat menghambat bakteri MDR berjumlah 16 isolat. Sebanyak 9 isolat memiliki kemampuan menghambat beberapa jenis bakteri MDR, sedangkan sebanyak 7 isolat hanya dapat menghambat satu jenis bakteri MDR. Berdasarkan besarnya zona hambatan yang dibentuk dan kemampuan daya hambatan maka dipilih satu isolat terbaik untuk uji lanjutan, yaitu isolat TCM 6.1. Hasil identifikasi 16S rDNA menunjukkan bahwa isolat TCM 6.1 memiliki kekerabatan terdekat dengan bakteri *Pseudoalteromonas sp.* dengan tingkat homologi 99 %.

**Kata kunci :** screening, bakteri simbiotik, *Conus miles*, Antibacterial, Multi-drug resistant

### Abstrak

The occurrence of marine bacteria associated with marine molluscs has made it possible to use these bacteria as new bacteria sources of bioactive substances including anti-bacterial especially in handling the strains of multi-drugs resistant (MDR). The research aimed at isolating novel bacteria from molluscs (bivalvia) and screening these bacterial symbionts as well as estimating their potency to produce a new anti-bacterial compound for controlling of MDR. The result showed that there are 16 isolates of bacterial symbiont with inhibitory activities against the multi-drug resistant bacteria. There are 9 isolates were found to be active against some multi-drug resistant strains, and 7 isolates were active against one multidrug resistant-strain. Based on the diameter of inhibitory zone and ability, isolate TCM 6.1 was chosen for further analysis. The results of 16S rDNA identification shows that TCM 6.1 is closely related to *Pseudoalteromonas sp.* with 99 % homology.

**Key words :** screening, symbiotic bacteria, *Conus miles*, antibacterial, multi-drug resistant

### Pendahuluan

Resistensi bakteri patogen diketahui tidak hanya terhadap satu jenis antibakteri saja, melainkan terhadap beberapa jenis antibakteri. Hal ini dapat dilihat pada bakteri *Salmonella typhi* penyebab demam tifoid yang sudah resisten terhadap ampisilin, kloramfenikol, dan kotrimoksazol. Bakteri yang resisten terhadap beberapa jenis antibakteri ini dikenal dengan bakteri *Multi Drug Resistant* (Hadinegoro, 1999).

Sumber bahan alam laut merupakan potensi besar bangsa kita karena secara geografis negara Indonesia dikelilingi sebagian besar oleh wilayah laut. Salah satu potensi senyawa bioaktif dari biota laut ditemukan pada hewan invertebrata

(Sudiro & Padmawinata, 1993), yang meliputi biota sponge, tunicate, bryozoa dan moluska.

Moluska dari Gastropoda *Conus* berpotensi memiliki senyawa bioaktif karena mengandung racun yang disebut *conotoxin*, yang memiliki efek mematikan terhadap biota lain termasuk manusia (Islami, 2008). Namun daya racun senyawa bioaktif tersebut diduga memiliki potensi dalam bidang farmasi bahari. Namun masalah yang timbul dalam penggunaan hewan laut adalah ketersediaan suplai biota yang terbatas. Oleh karena itu, untuk mengatasi masalah ini, strategi yang digunakan adalah dengan memanfaatkan mikroorganisme simbion yang dapat menghasilkan

metabolit sekunder yang sama dengan inangnya (Proksch et al., 2003).

Di sisi lain, metabolit dari mikroorganisme mengalami perkembangan pesat karena adanya dugaan bahwa sejumlah senyawa bioaktif yang diperoleh dari hewan invertebrata juga dihasilkan oleh mikroorganisme yang berasosiasi dengannya. Diperkirakan kurang dari 2% mikrobial baru berhasil diisolasi dari lingkungan laut sebagai kultur murni. Dilaporkan bahwa terdapat asosiasi mikroorganisme dengan organisme laut yang juga mensintesa metabolit sekunder seperti organisme inangnya (Watermann, 1999 ; Burgess, et al. 2003).

Berdasarkan hal tersebut, tujuan dari penelitian adalah untuk mengisolasi bakteri dari moluska, menskrining moluska dan bakteri simbiotiknya yang berpotensi menghasilkan senyawa antibakteri terhadap strain MDR (*Multi Drug Resistant*) serta analisis filogenik dari isolat bakteri yang mempunyai potensial untuk dikembangkan sebagai bahan farmasi bahari.

Diharapkan bahwa bakteri yang berasosiasi dengan invertebrata dapat memberikan kontribusi sebagai sumber alternatif baru metabolit sekunder dari bahan farmasi bahari dalam menghasilkan antibiotik untuk pengelolaan pasien dengan penyakit infeksi.

## Materi dan Metode

Moluska diambil dari perairan pulau Ternate, Maluku dengan pengambilan langsung (*hand picking*) pada kedalaman sekitar 3 meter. Sampel kemudian dimasukkan dalam tas plastik polietilen (Whir-pak, Nasco, USA) dan ditempatkan dalam cool box. Selanjutnya dilakukan *Isolasi bakteri*, Skrining bakteri penghasil senyawa anti-MDR, Uji antibakteri Gastropoda *Conus miles*.

### Skrining bakteri penghasil senyawa anti-MDR

Tes uji hambatan pertumbuhan dilakukan antar isolat bakteri dari moluska terhadap bakteri MDR dengan menggunakan metoda *overlay*. Setiap isolat dari moluska diinokulasikan ke permukaan medium agar. Sebanyak 12 isolat ditempatkan dalam 1 cawan petri. Petri tersebut diinkubasikan selama 4 hari pada suhu ruangan. Satu persen kultur (v/v) dari setiap target bakteri MDR pada fase logaritma (ca.  $10^9$  sel ml<sup>-1</sup>) dicampur dengan soft agar yang kemudian dituangkan pada agar media yang telah diinokulasi isolat dari moluska sebelumnya. Petri diinkubasikan pada suhu ruang selama 48 jam. Aktivitas Anti-bakteri ditentukan oleh adanya formation zona hambatan di sekeliling isolat moluska.

### Uji Antibakteri Moluska

Jaringan moluska dihancurkan dengan blender dan selanjutnya diekstraksi dengan cara homogenisasi dengan pelarut Hexane (non polar) dan 10% methanol dalam khloroform (polar) dengan menggunakan blender. Campuran organik yang diperoleh kemudian difiltrasi dengan menggunakan vacuum filter. Filtrat kemudian dipisahkan dari pelarut dengan menggunakan rotary evaporator. Selanjutnya ekstrak diujikan dengan strain MDR dengan metode difusi agar. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan adanya zona hambatan yang terbentuk di sekeliling paper disk.

### Isolasi Bakteri Patogen Klinik (MDR)

Berbagai spesimen klinis (darah, feses, urine dll) didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik, Rumah Sakit Kariadi/FK UNDIP Semarang, dikultur pada medium Nutrient Agar, Mac Conkey dan medium Blood agar, CHROM agar *S. aureus* dan CHROM agar MRSA (ITK Diagnostic). Setelah 18-24 jam inkubasi pada suhu 37°C. Identifikasi bakteri dilakukan dengan berbagai uji yakni: morfologi koloni bakteri, uji katalase, uji coagulase, gram stain, haemolisis dalam Blood agar, pink colony dalam CHROM agar *S. aureus* dan CHROM agar MRSA media (gram positive bacteria), Mac Conkey agar plate (gram negative bacteria).

### Pelaksanaan Inokulasi

Isolasi bakteri disuspensi dalam air garam steril, sehingga turbiditas tampak mencapai 0.5 standar McFarland standard. Suspensi bakteri langsung digunakan untuk uji difusi.

### Uji Sensitifitas Antibakteri

Isolat bakteri dalam cawan petri dipurifikasi dengan metode goresan hingga diperoleh biakan murni (Brooks et al., 2001). Selanjutnya, skrining bakteri penghasil antibakteri MDR dilakukan dengan menggunakan metode *overlay* untuk uji kualitatif (Isnansetyo dan Kamei, 2003) dan metode difusi agar Kirby-Bauer untuk uji kuantitatif antibakteri MDR (Brooks et al., 2001). Inkubasi dilakukan selama 2x24 jam kemudian diamati dan diukur zona hambatan yang terbentuk. Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui terbentuk atau tidaknya zona hambatan sedangkan pengukuran zona hambatan dilakukan pada uji kuantitatif.

### Ekstraksi DNA

Isolat bakteri terpilih dikultur pada 50 ml medium cair ZoBel I 2216E pada suhu 20°C selama 24 jam,

kemudian dipanen dengan sentrifugasi, dan selanjutnya dicuci dan disuspensi dengan akuades steril. Ekstraksi DNA dilakukan dengan mencampurkan 40 µl suspensi bakteri, 10 µl Proteinase K (1 mg/ml) (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA) dan 50 µl 2 X buffer. Campuran dipanaskan pada suhu 60°C selama 20 menit dan 100 °C selama 10 menit. Setelah itu didinginkan secara cepat dalam es selama 10 menit dan disentrifugasi selama 5 menit pada 8000 rpm (Sabdono, 2000).

**Amplifikasi DNA**

Amplifikasi DNA dilakukan dengan metode PCR berdasarkan metode yang dilakukan oleh Radjasa *et al.* (2001). Primer yang digunakan adalah (Forward: 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' ; posisi 8-27 dan 1500 Reverse primer: 5'-GGTTACCTTGTTAC GACTT-3' ; posisi 1510-1492 berdasarkan penomoran 16S rRNA *E. coli*) menurut Weisburg *et al.* (1991).

Amplifikasi DNA dengan PCR dilakukan dengan DNA thermal cyler (Mini cyler TM, MJ Research Inc, Watertown, MA, USA) dengan perlakuan temperatur sebagai berikut: Denaturasi awal pada 94 °C selama 2 menit, kemudian 30 siklus denaturasi (94 °C selama 2 menit), annealing (45 °C selama 2 menit), dan ekstensi

(72 °C selama 2 menit), serta ekstensi terakhir pada 72 °C selama 3 menit. Elektroforesis dilakukan dengan cara memasukkan 1 µl alikuot produk PCR ke dalam sumur gel 1% gel agarosa yang diletakkan pada buffer 50X TAE, kemudian diamati apakah DNA telah teramplifikasi dengan baik.

**Sekuensing DNA**

Hasil amplifikasi dengan PCR dipurifikasi dan dikonsentrasikan dengan menggunakan Microcon-100 microconcentrator (Amicon, Beverly, MA, USA) menurut instruksi dari pabrik. Reaksi sekuen gen 16S rDNA disiapkan dengan menggunakan dengan menggunakan *SequiTherm Long-Read Sequencing Kit* (Epicentre Technologies, Madison, WI, USA).

**Analisis Sekuen 16S rDNA**

Hasil sekuen 16S rDNA selanjutnya dianalisis dan diedit dengan menggunakan program GENETYX (Sabdono *dkk.*, 2000). Selanjutnya sekuen lengkap dari tiap isolat yang dipilih dibandingkan dengan sekuen DNA pada DNA database bank. Penelusuran dilakukan dengan sistem internet untuk memperoleh presentasi homologi dan untuk mengidentifikasi isolat. Selanjutnya studi filogenetik isolat dilakukan dengan

**Tabel 1.** Hasil uji kualitatif bakteri moluska terhadap beberapa spesies bakteri MDR

Kode Isolat	Aktivitas Antibakteri MDR					
	<i>Klebsiella</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>E. coli</i>	CNS	<i>Enterobacter 5</i>	<i>Enterobacter 10</i>
TCM 6.1	+	-	+	+	+	-
TCM 6.2	-	-	+	+	+	-
TCM 6.3	-	-	+	+	-	-
TCM 6.4	-	-	+	+	-	-
TCM 6.5	-	-	+	+	-	-
TCM 6.6	-	-	+	+	+	-
TCM 6.15	-	-	-	-	+	-
TCM 6.16	-	-	+	-	-	-
TCM 6.18	-	-	+	+	-	-
TCM 6.19	-	-	-	+	-	-
TCM 6.20	-	-	-	+	-	-
TCM 6.22	-	-	-	-	-	+
TCM 6.24	-	+	-	-	-	-
TCM 6.25	-	+	-	-	-	-
TCM 6.27	-	-	-	+	+	-
TCM 6.28	-	-	-	+	+	-
TCM 6.29	-	-	-	+	-	-
TCM 6.30	-	-	-	+	-	-

Keterangan: (+) = aktif  
(-) = tidak aktif

menggunakan program CLUSTAL W (ver. 1.60) program (Thompson *dkk.*, 1994). Pohon filogenetik selanjutnya akan dikonstruksi dengan menggunakan program PHYLIP.

## Hasil dan Pembahasan

### Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan moluska

Hasil isolasi bakteri yang berasosiasi dengan Gastropoda *Conus miles* memperlihatkan jumlah isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari jaringannya sejumlah 35 isolat.

### Skrining bakteri penghasil senyawa anti-MDR

Hasil uji bakteri yang berasosiasi dengan moluska terhadap bakteri MDR dapat dilihat pada Tabel 1. *Skrining* dilakukan dengan metode *overlay* dimana bakteri simbiosis moluska ditanam sebanyak 10-12 isolat bakteri dalam 1 cawan petri yang diujikan terhadap strain bakteri MDR jenis *Klebsiella*, *E. coli*, *Coagulase Negatif Staphylococcus* (CNS), *Enterobacter* 5, *Enterobacter* 10 dan *Pseudomonas*. Hasil aktivitas MDR diketahui bahwa dari 35 isolat yang diuji ada 18 isolat (51,43%) yang potensi memiliki aktivitas anti MDR

### Uji sensitivitas bakteri moluska terseleksi terhadap bakteri MDR

Berdasarkan hasil skrining bakteri yang berasosiasi dengan moluska terhadap beberapa spesies bakteri MDR, maka diperoleh 12 isolat bakteri moluska yang memiliki potensi terbaik dalam menghambat

pertumbuhan bakteri MDR. Hasil seleksi bakteri potensi anti MDR dapat dilihat pada Tabel 2. Selanjutnya Uji sensitivitas terhadap ke-12 isolat bakteri tersebut dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar berdasarkan prinsip Kirby-Bauer dan menggunakan kertas cakram yang berdiameter 8 m. Selanjutnya dilakukan seleksi bakteri yang dianggap paling berpotensi untuk dijadikan sebagai sumber antibiotik baru berdasarkan konsistensi hasil skrining, besar kecilnya zona hambat yang dihasilkan dan sifat penghambatannya terhadap beberapa jenis bakteri uji. Maka isolat bakteri TCM6.1 Gastropoda jenis *Conus miles* yang memiliki potensi terbaik dan digunakan untuk studi selanjutnya.

### Studi Filogenetik Molekuler

#### Amplifikasi DNA

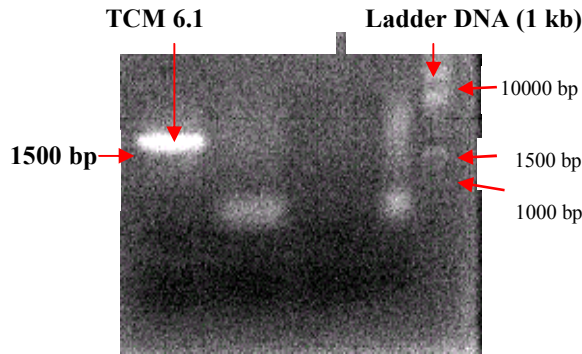
Hasil amplifikasi DNA memperlihatkan bahwa isolat bakteri TCM6.1 menghasilkan *single band* (pita tunggal) dengan ukuran sekitar 1500 bp sesuai dengan perbandingan menggunakan marker DNA seperti yang tertera Gambar 1. Besarnya ukuran ini sesuai dengan ukuran yang diharapkan dari gen-gen 16S rRNA bakteri yaitu sekitar 1500-1600 bp. Amplifikasi DNA dari isolat bakteri moluska anti MDR yang telah memperoleh pita tunggal menunjukkan bahwa primer yang digunakan merupakan primer yang spesifik untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA pada bakteri. Demikian pula dengan kondisi yang digunakan dalam reaksi amplifikasi sudah merupakan kondisi yang tepat.

**Tabel 2:** Hasil uji sensitivitas seleksi bakteri moluska yang memiliki potensi anti MDR

No.	Kode Isolat	Diameter zona hambatan (mm)					
		<i>Klebsiella</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>E.coli</i>	CNS	<i>Enterobacter</i> 5	<i>Enterobacter</i> 10
1.	TCM6.1	12.70	-	12.92	13.53	9.31	-
2.	TCM6.2	-	-	10.44	-	-	-
3.	TCM6.6	-	-	11.19	13.18	9.57	-
4.	TSA8.2	-	9.63	-	-	9.95	8.56
5.	TSA8.4	-	8.90	-	-	9.53	8.62
6.	TSA8.5	-	10.29	-	-	9.59	8.78
7.	TSA8.7	-	11.59	9.01	-	9.71	-
8.	TSA8.15	-	10.95	8.82	-	-	-
9.	TOV12.5	-	10.03	9.23	9.55	-	-
10.	TOV12.6	-	9.45	11.64	10.56	-	-
11.	TOV12.16	-	9.73	9.41	11.49	8.80	-
12.	TOV12.20	-	-	9.18	9.74	10.14	-

Keterangan: (+) = aktif

(-) = tidak aktif



Gambar 1. Hasil elektroforesis dari amplifikasi gen 16S rRNA (M: DNA marker)

**Analisis Filogenetik Molekuler**

Hasil sekuen gen 16S rRNA dari isolat aktif TCM6.1 dapat dilihat pada Gambar 2. Analisis homologi

menggunakan *BLAST searching* dapat dilihat pada Gambar 3. Homologi dari *BLAST searching* menunjukkan bahwa isolat TCM6.1 memiliki prosentase kesamaan tertinggi dengan *Pseudoalteromonas* sp. (99%).

**Isolat TCM6.1**

GAACGTGTGTTGACCAGGTGGCTGCCTTCGCCATCGGTATCCTTCAGATCTCTACGCATTTACCGCTACA  
 CCTGAAATTCTACCACCCTCTATCACACTCTAGTTTGCCAGTTGCAAATGCAGTTCCCAGGTTAAGCCCGG  
 GGCTTTCACATCTCGCTTAACAAACCGCCTGCGTACGCTTTACGCCAGTAATCCGATTAACGCTCGCAC  
 CCTCCGATTACCGCGGCTGCTGGCAGGGATTAGCCGGTGCTTCTTCTGTCAGTAACGTCACAGCTAGCA  
 GGTATTAATACTAAACCTTTCTCCTGACTGAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTTTCACACACGCGG  
 CATGGCTGCATCAGGCTTGCGCCCATTTGTGCAATATTCCTCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGT  
 GTCTCAGTTCAGTGTGGCTGATCCTCTCAAACAGCTAGGGATCGTTGCC

Gambar 2. Sekuen lengkap gen 16S rRNA bakteri Gastropoda *Conus miles* isolat TCM6.1

```
> gb|EU925608.1| Pseudoalteromonas sp. JSM 073054 16S ribosomal RNA gene,
partial
Sequence Length=800 Score = 861 bits (466), Expect = 0.0 Identities =
473/476 (99%), Gaps = 2/476 (0%) Strand=Plus/Minus

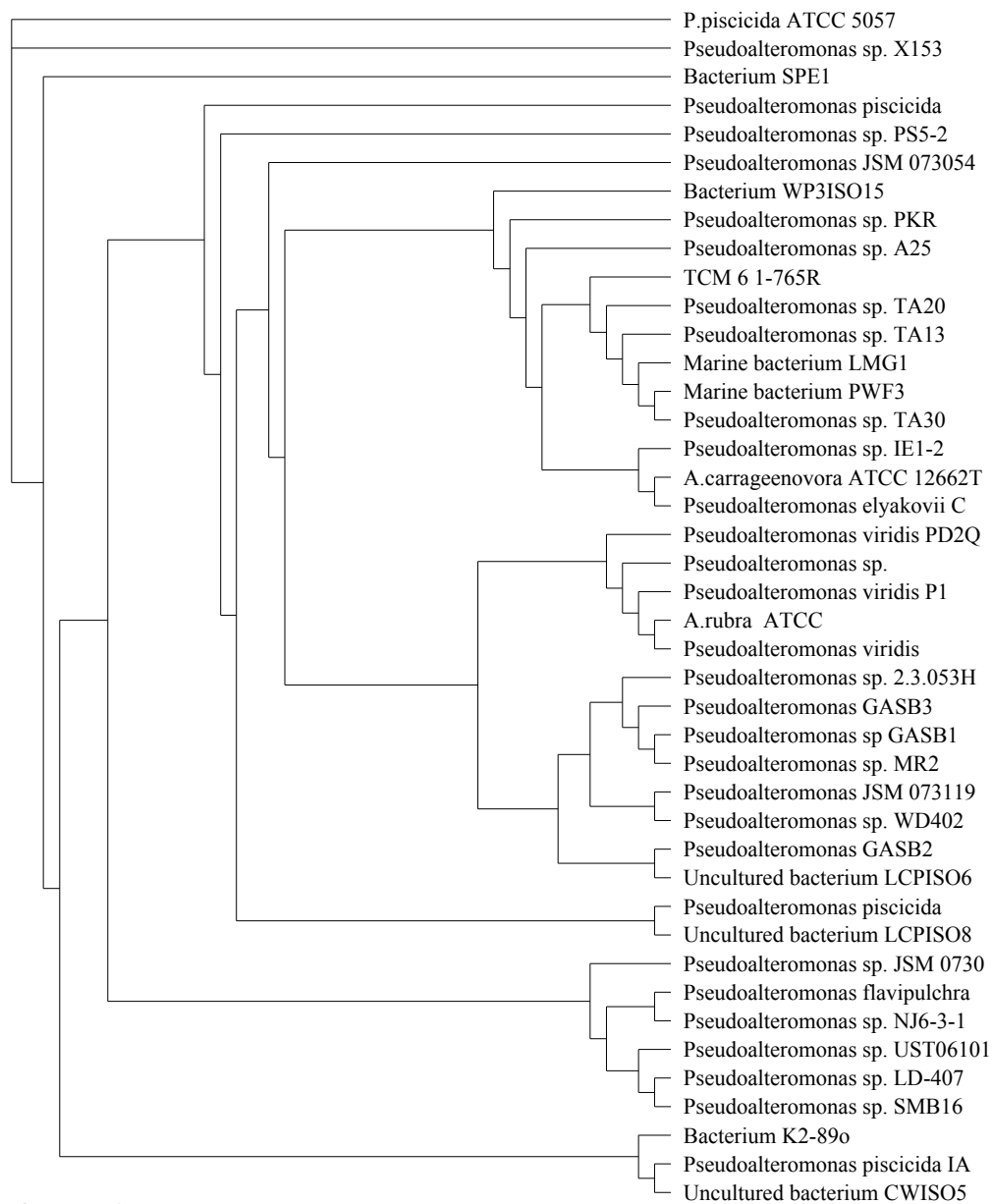
Query 7 GTGTTGA-CCAGTGGCTGCCTTCGCCATCGGTA-TCCTTCAGATCTCTACGCATTTAC 64
      |||
Sbjct 694 GTGTTGACCCAGTGGCTGCCTTCGCCATCGGTATTCCTTCAGATCTCTACGCATTTAC 635
Query 65 CGCTACACCTGAAATTCTACCACCCTCTATCACACTCTAGTTTGCCAGTTCGAAATGCAG 124
      |||
Sbjct 634 CGCTACACCTGAAATTCTACCACCCTCTATCACACTCTAGTTTGCCAGTTCGAAATGCAG 575
Query 125 TTCCCAGGTTAAGCCCGGGCTTTCACATCTCGCTTAACAAACCGCCTGCGTACGCTTTA 184
      |||
Sbjct 574 TTCCCAGGTTAAGCCCGGGCTTTCACATCTCGCTTAACAAACCGCCTGCGTACGCTTTA 515
Query 185 CGCCAGTAATTCGATTAACGCTCGCACCCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCAGGAG 244
      |||
Sbjct 514 CGCCAGTAATTCGATTAACGCTCGCACCCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCAGGAG 455
Query 245 TTAGCCGTGCTTCTTCTGTGTCAGTAACGTCACAGCTAGCAGGTATTAATACTACTAACCTTT 304
      |||
Sbjct 454 TTAGCCGTGCTTCTTCTGTGTCAGTAACGTCACAGCTAGCAGGTATTAATACTACTAACCTTT 395
Query 305 CCTCTGACTGAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATGGCTGC 364
      |||
Sbjct 394 CCTCTGACTGAAAGTGCTTTACAACCCGAAGGCCTTCTTCACACACGCGGCATGGCTGC 335
Query 365 ATCAGGCTTGCGCCCATTTGTGCAATATTCCTCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACC 424
      |||
Sbjct 334 ATCAGGCTTGCGCCCATTTGTGCAATATTCCTCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACC 275
Query 425 GTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCTGATCCTCTCAAACAGCTAGGGATCGTTGCC 480
      |||
Sbjct 274 GTGTCTCAGTTCAGTGTGGCTGATCCTCTCAAACAGCTAGGGATCGTCGCC 219
```

Gambar 3. Hasil analisis homologi sekuen isolat TCM6.1 dengan menggunakan *BLAST database*. Simbol : | (menunjukkan nukleotida yang identik)

Hasil analisis sekuen genotip dengan menggunakan *Clustal X. Neighbour-joining method* untuk mendapatkan konstruksi pohon filogenetik (Gambar 4) memperlihatkan bahwa sekuen DNA dari bakteri Gastropoda *Conus miles* dengan species yang memiliki kekerabatan yang dekat dari referensi strain pada data base dan species diluar kelompok *Rothia\_mucilaginoso X87758* sebagai *outgroup* organism, maka dapat diketahui bahwa isolat TCM6.1 memiliki kekerabatan terdekat dengan *Pseudoalteromonas*.

Isolat TCM6.1 secara filogenetik memiliki kekerabatan terdekat dengan genus *Pseudoalteromonas* seperti ditunjukkan pada Gambar. 4 dimana TCM6.1 berada dalam 1 klaster/grup dengan *Pseudoalteromonas*.

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen menjadi salah satu masalah kesehatan di Indonesia. Penanganan penyakit tersebut dengan penggunaan antibiotik yang tidak bijaksana telah menimbulkan masalah baru dengan berkembangnya strain yang resisten terhadap antibiotik.



**Gambar 4.** Pohon filogenetik bakteri moluska anti-MDR dan strain referensi yang didapat dari database 16S rDNA

Resistensi kuman terhadap antibiotik sudah merupakan problem diseluruh dunia baik di dalam rumah sakit atau di komunitas (Bax et al, 2001) yang membutuhkan keseriusan dalam pengelolaan pasien dengan penyakit infeksi. Hal ini disebabkan karena penggunaan antibiotik/antimikroba yang tidak rasional/bijaksana yang dilakukan oleh prescribers (para dokter penulis resep) atau pasien sendiri.

Berdasarkan fakta-fakta tersebut di atas, maka sangat perlu diupayakan usaha-usaha untuk mendapatkan sumber-sumber baru antibiotika yang mampu menangani bakteri-baktri MDR. Lebih lanjut Hunt dan Vincent (2006) melaporkan bahwa saat ini kelompok utama invertebrata laut yang mendominasi sebagai penghasil utama senyawa bioaktif adalah Porifera (sponge); Cnidaria (jellyfish, corals, sea anemones); and Urochordata (ascidians). Hal ini menunjukkan bahwa potensi moluska sebagai sumber senyawa bioaktif masih sangat terbatas dimanfaatkan, seperti yang dilaporkan oleh Olivera (2000) yang berhasil mengisolasi senyawa Prialt (ziconitide), senyawa pembunuh rasa sakit dari moluska *Conus magnus*.

Dari isolat yang paling aktif dan menjanjikan yang berasosiasi dengan Gastropoda *Conus miles* dalam penelitian ini, menunjukkan bahwa isolat-isolat tersebut termasuk genus *Pseudoalteromonas*. Radjasa dkk., (2007a), melaporkan aktivitas antibakteri dari bakteri *Pseudoalteromonas luteoviolacea* TAB4.2 yang berasosiasi dengan karang keras *Acropora* sp. aktif menghambat pertumbuhan bakteri karang dan pathogen. Bakteri *Pseudoalteromonas flavipulchra* BSP5.1 yang merupakan simbiosis sponge *Haliclona* sp. yang diperoleh dari perairan Bandengan, Jepara mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri pathogen *Alteromonas hydrophila* dan *Vibrio parahaemolyticus* (Radjasa et al, 2007c). Penelitian lain (Radjasa dkk., 2007d), melaporkan aktivitas antibakteri dari 3 isolat bakteri dari sponge *Aaptos* sp. termasuk *Pseudoalteromonas luteoviolacea* SPA21 yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri MDR *Escherichia coli* dan *Proteus* sp. Bakteri genus *Pseudoalteromonas* diketahui memiliki fragmen gen Non-ribosomal peptide synthetase (NRPS) yang diketahui menghasilkan siderophore Alterobactin (Deng dkk., 1995).

Isolat bakteri aktif yang diperoleh dalam bakteri simbiosis Gastropoda *Conus miles* menunjukkan hasil yang sangat menjanjikan karena isolat mampu menghambat bakteri MDR lebih dari satu jenis yang meliputi *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *E.coli* dan *Enterobacter*. Jelas ini merupakan potensi yang dapat ditindak lanjuti guna mendapatkan sumber

antibiotika baru yang potensial untuk mengontrol bakteri MDR.

## Kesimpulan

Gastropoda jenis *Conus murriculatus* memiliki bakteri simbiosis yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder untuk menghambat bakteri MDR dan dari 35 isolat, ada 16 isolat bakteri simbiosis yang aktif terhadap satu atau lebih bakteri uji MDR. Studi filogenetik menunjukkan bahwa isolat bakteri simbiosis TCM 6.1 memiliki tingkat kekerabatan yang dekat dengan genus *Pseudoalteromonas* sp.

## Ucapan Terima Kasih

Penelitian dibiayai oleh Program Insentif Riset Dasar-Dewan Riset Nasional-Kementerian Negara Riset, 2008. Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Ocky K Radjasa dan Dr. Adus Sabdonu MSc(Jur. Ilmu Kelautan FPIK UNDIP Semarang), Sukrasno, Ph D (Sekolah Farmasi ITB Bandung) dan Endang Sri Lestari, MD (Laboratorium Mikrobiologi Klinik, Fakultas Kedokteran UNDIP Semarang)

## Daftar Pustaka

- Bax R., R. Bywater., G. Cornaglia., H. Goossens., P Hunter., and V Isham. 2001. Surveillance of antimicrobial resistance-what, how and whiter?. *Clin. Microbiol. Infect.* 7: 316-325.
- Brooks, G. F., J. S. Butel, S.A. Morse, 2001. Mikrobiologi Kedokteran. Salemba Mendika. Jakarta, 528 hal.
- Burgess J.G., K.G. Boyd, E. Armstrong, Z. Jiang, L. Yan, M. Berggren, U. May, T. Pisacane, A. Granmo, and D.R. Adams, 2003. Development of a marine natural product-based antifouling paint. *Biofouling* 19:197-205
- Deng J.G, Y. Hamada, and T. Shioiri, 1995. Total synthesis of alterobactin-A, a super siderophore from an open-ocean bacterium. *J Am Chem Soc* 117 (29):7824-7825
- Hunt, B., and A.C.J. Vincent. 2006. Scale and sustainability of marine bioprospecting for pharmaceuticals. *Ambio.* 35(2):57-64.
- Islami, M.M. 2008. Conus-Conotoxin. <http://muhamaze.wordpress/tag/laut> (3 Nopember 2008).
- Olivera.,B.M .2000. Conotoxin MVIIA: From marine snail venom to analgesic drug. In: Fusetani N (ed) *Drugs from the sea*. Karger, pp 74-85

- Prokcs, P. RA, Edrata and R, Ebel, 2002. Drugs from the sea- current status and microbiological implication. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59: 125-134.
- Radjasa, OK, H Urakawa, K Kita-Tsukamoto, and K Ohwada. 2001. Characterization of psychrotrophic bacteria in the surface and deep-sea waters from northwestern Pacific Ocean based on 16S ribosomal DNA approach. *Mar. Biotechnol.* 3:454-462.
- Radjasa, O.K., T. Martens., H-P. Grossart., T. Brinkoff., A. Sabdono., and M. Simon. 2007a. Antagonistic activity of a marine bacterium *Pseudoalteromonas luteoviolacea* TAB4.2 associated with coral *Acropora* sp. *J. Biol. Sci.* 7(2):239-246
- Radjasa, OK., A. Sabdono., Junaidi, E. Zocchi. 2007c. Richness of secondary metabolite-producing marine bacteria associated with sponge *Haliclona* sp. *Int. J. Pharmacol.* 3:275-279.
- Radjasa, OK., D.S. Kencana., A. Sabdono., R.A. Hutagalung., and E.S. Lestari. 2007d. Antibacterial activity of marine bacteria associated with sponge *Aaptos* sp against Multi Drugs Resistant (MDR) strains. *J. Mat. Sains.* 12: 147-153.
- Sabdono. A, J. Sudarsono, H. Hartike, WT Artama, OK. Radjasa, K. Kita-Tsukamoto, K.Ohwada. 2000. Restriction Fragment Length Polymorphism Analyses of PCR Amplified 16S rDNA of 2,4-D-Degrading Bacteria isolated from Coral. Indonesian. *Jurnal. Biotechnology.* p. 407-412.
- Sudiro I. S. dan K. Padmawinata. 1993. Pemanfaatan dan Prospek Obat Bahan Alam Hayati Bahari. Makalah Seminar Sehari. Pemanfaatan Obat Bahan Alam. Kerjasama Jurusan Farmasi FMIPA-ITB dengan Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medica. p. 10
- Thompson, D.J., D.G. Higgins, and T.J. Gibson 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence weighing, Positive-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 76: 4350-4354.
- Watermann, B. 1999. Alternative antifoulant techniques present and future. *LimnoMar:* 1-6.
- Weisburg, W.G., S.M. Barns, D.A. Pelletier, and D.J. Lane 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* 173: 697-703 .