

ISSN 1858-1684

Vol. 4 No. 2 September 2020



**Journal Of
Coastal and Marine
Resources Management**
<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/pasirlaut>

PASIR LAUT

Journal of Coastal and Marine Resources Management



Scientific Journal published by
Magister Program in Aquatic Resources Management
Faculty of Fisheries and Marine Science
Universitas Diponegoro Semarang

DAFTAR ISI

Paper:	Halaman
1. ANALISIS SEBARAN HORIZONTAL DAN TEMPORAL KLOROFIL-A DAN FITOPLANKTON DI MUARA SUNGAI BANJIR KANAL BARAT, SEMARANG <i>Oleh: Falita Alfat'hani, Agus Hartoko, Nurul Latifah</i>	60 – 68
2. ANALISIS DENSITAS Emerita emeritus TERHADAP TEKSTUR DAN BAHAN ORGANIK SEDIMENT DI PANTAI GLAGAH, KULON PROGO, YOGYAKARTA <i>Oleh: Intan Via Nirmala, Bambang Sulardiono dan Agus Hartoko</i>	69 – 78
3. DISTRIBUSI DAN KELIMPAHAN LARVA IKAN DI PANTAI TELUK AWUR, KABUPATEN JEPARA <i>Oleh: Pingky Alya Elisa, Abdul Ghofar, Anhar Solichin</i>	79 – 85
4. ESTIMASI SERAPAN CO ₂ BERDASARKAN SIMPANAN KARBON PADA HUTAN MANGROVE DESA TAMBAKBULUSAN DEMAK JAWA TENGAH <i>Oleh: Mega Wahyu Susilowati, Pujiono Wahyu Purnomo, Anhar Solichin</i>	86 – 94
5. PENGARUH TOTAL SUSPENDED SOLID (TSS) TERHADAP DENSITAS <i>Zoothoxanthellae</i> PADA KARANG <i>Acropora</i> sp. DALAM SKALA LABORATORIUM <i>Oleh: Raema Farah Rizka, Pujiono Wahyu Purnomo, Aninditia Sabdaningsih</i>	95 – 101
6. POTENSI BAKTERI ASOSIASI TUNIKATA SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI GUNA MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI <i>MULTIDRUG RESISTANT</i> <i>Oleh: Diah Ayuningrum, Rhesi Kristiana, Meezan Ardhanu Asagabaldan</i>	102 – 107
7. ANALISIS KUALITAS PERAIRAN BERDASARKAN KONSENTRASI LOGAM BERAT DAN INDEKS PENCEMARAN DI SUNGAI BANJIR KANAL TIMUR SEMARANG <i>Oleh: Muhammad Khairul Ariki Harahap, Siti Rudiyanti, Niniek Widyorini</i>	108 – 115
8. KADAR LOGAM BERAT Pb, Fe, DAN Cd YANG TERKANDUNG DALAM JARINGAN LUNAK KERANG BATIK (<i>Paphia undulata</i>) DARI PERAIRAN TAMBAK LOROK, SEMARANG <i>Oleh: Sri Rahayu Prihati, Djoko Suprapto, Siti Rudiyanti</i>	116 – 123
9. VALUASI EKONOMI EKOSISTEM MANGROVE DI KAWASAN TAMAN PESISIR UJUNGNEGORO-ROBAN, KABUPATEN BATANG <i>Oleh: Adnan Arsani Hirmawan, Suradi Wijaya Saputra, Churun Ain</i>	124 – 133



POTENSI BAKTERI ASOSIASI TUNIKATA SEBAGAI PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI GUNA MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *MULTIDRUG RESISTANT*

The potency of Tunicate-Associated Bacteria as Source of Antibacterial Compounds to Combat Multidrug Resistant Bacteria

Diah Ayuningrum^{1*}, Rhesi Kristiana², Meezan Ardhanu Asagabaldan³

¹ Departemen Sumberdaya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro Jl. Prof. Soedarto SH, Tembalang, Semarang, Indonesia 50275; Telephone/Fax: 024-76480685

² MERO Foundation, Indonesian Marine Education & Research Organization, Banjar Dinas Muntig, Dsn. Tulamben, Kec. Kubu, Kab. Karangasem-Bali 80853

³ Departemen Sains Lingkungan Kelautan, Institut Teknologi Sumatera, Jalan Terusan Ryacudu, Way Hui, Kecamatan Jati Agung, Lampung Selatan 35365

Email: diahayuningrum21@lecturer.undip.ac.id, rhesikristiana@gmail.com, meezan.asagabaldan@sll.itera.ac.id

Diserahkan tanggal: 10 Agustus 2020, Revisi diterima tanggal: 15 September 2020

ABSTRAK

Tunikata atau *ascidian* merupakan invertebrata laut yang hidup di kedalaman lebih dari 2 meter, sessil, soliter maupun berkoloni dan hidup sebagai *filter feeder* seperti *sponge*. Cara hidup seperti ini memungkinkan masuknya mikroorganisme seperti bakteri ke dalam tubuh tunikata melalui *branchial siphon*-nya. Bakteri yang hidup bersama dengan tunikata ini disebut dengan bakteri asosiasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri asosiasi dari tunikata, mempurifikasi jumlah isolat bakteri asosiasi tunikata dan melakukan skrining antibakteri dari bakteri asosiasi tunikata terhadap bakteri *multidrug resistant (MDR)*. Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif eksploratif, dimana teknik sampling yang digunakan adalah *purposive random sampling*. Isolasi bakteri asosiasi tunikata menggunakan metode sebar (*spread plate*), sedangkan purifikasinya menggunakan metode gores (*streak plate*). Uji antibakteri menggunakan metode *overlay*. Hasil penelitian menunjukkan dari total dua sampel tunikata, diperoleh sebanyak 12 isolat murni bakteri asosiasi tunikata. Hasil skrining menunjukkan 33% persen isolat bakteri asosiasi tunikata berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri MDR *Acinetobacter baumannii*, MRSA, *Enterobacter cloacae complex* dan *Staphylococcus hemolyticus*. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa, bakteri asosiasi tunikata berpotensi untuk dijadikan sebagai sumber senyawa aktif antibakteri MDR.

Kata Kunci: Antibakteri, *Ascidian*, Bakteri MDR, Tunikata

ABSTRACT

Tunicates or ascidians are marine invertebrates that live at a depth of more than 2 meters, sessile, solitary or colonized and live as sponge-like filter feeders. This way of life allows the entry of microorganisms such as bacteria into the body of the tunicate through its branchial siphon. The bacteria that live together with these tunicates are called associated bacteria. The aims of this study were to isolate the associated bacteria from tunicates, purify the number of tunicate-associated bacterial isolates and conducted antibacterial screening of tunicate-associated bacteria against multidrug resistant bacteria (MDR). The research method used was descriptive exploratory research, where the sampling technique used was purposive random sampling. The isolation of tunicate-associated bacteria used the spread plate method, while the purification used the streak plate method. Antibacterial test using the overlay method. The results showed that from a total of two samples of tunicates, there were 12 pure isolates of tunicate-associated bacteria. Screening results showed 33% percent of tunicate-associated bacterial isolates had the potential to inhibit the growth of MDR bacteria Acinetobacter baumannii, MRSA, Enterobacter cloacae complex and Staphylococcus hemolyticus. Thus, it can be concluded that tunicate-associated bacteria have the potential to be used as a source of MDR antibacterial active compounds.

Key words: antibacterial, *ascidian*, MDR bacteria, tunicate

PENDAHULUAN

Tunikata termasuk golongan vertebrata yang seringkali teridentifikasi sebagai invertebrata. Padahal fase larva dalam hidup tunikata memiliki notokord di ekornya. Nama tunikata sendiri berasal dari kata *tunic*, semacam mantel yang menutupi tubuh dewasanya. Tunikata diklasifikasikan kedalam empat kelas yaitu Apendicularia (Larvacea), Ascidiacea, Thaliacea, dan Sorberacea (Margulis dan Schwartz, 1998).

Cara hidup tunikata atau ascidian adalah dengan mucus filter feeder yang dapat mengekstrak partikel sekecil $0,5 \mu\text{m}$ seukuran kerongkongannya (Bone et al., 2003). Aliran makanan diciptakan oleh silia yang ada di saluran yang terletak di kedua sisi stigmata di dinding kantung branchial (Jorgensen et al., 1984). Partikel makanan dikumpulkan pada lapisan mukus dan diarahkan ke lambung oleh silia. Jaring makan yang terbuat dari serat mukus ini mampu menjebak partikel berukuran $2\text{--}3 \mu\text{m}$ dengan efisiensi 100%. Tidak hanya partikel makanan yang masuk kedalam tubuhnya melalui cara hidup seperti ini, mikroorganisme pun banyak yang terperangkap didalam tubuhnya.

Tunikata dan bakteri asosiasinya merupakan *underexplored bioresource*, yakni sumberdaya yang kurang dieksplorasi/terlantar di Indonesia. Padahal di luar negeri, beberapa penelitian telah menemukan bahwa mikroorganisme asosiasi tunikata mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang memiliki berbagai macam fungsi. Tunikata dari jenis *Didemnum proliferum* memiliki simbion asli yakni *Micromonospora* sp. dan diketahui memproduksi diazepinomicin yang aktif melawan bakteri gram-positif (Charan et al., 2004). *Nocardia* sp., yang diisolasi dari tunikata *Trididemnum orbiculatum*, dilaporkan memproduksi lima senyawa baru lipopeptides yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) (Wyche et al., 2012). Penelitian Aasila et al. (2003) melaporkan bahwa bakteri asosiasi tunikata, *Enterococcus faecium*-bakteri terrestrial yang telah beradaptasi dan mampu hidup di lingkungan laut, memproduksi alkaloid Harman yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio anguillarum* (*ichthyopathogenic*).

Definisi Multi-drug resistant (MDR) menurut European Center for Disease Prevention (ECDC) dan Center for Disease Control and Prevention (CDC) adalah ketidak sensitifan suatu bakteri terhadap setidaknya satu agen dengan tiga atau lebih kategori antibiotik (Magiorakos et al., 2012). Secara lebih sederhana MDR dapat diartikan sebagai suatu kondisi dimana bakteri sudah tidak sensitif terhadap minimal tiga jenis antibiotik. menurut World Health Organization (WHO) penyebab resistensi antibiotik antara lain pemberian antibiotik yang berlebihan, pasien tidak menghabiskan obatnya pemberian

antibiotik yang berlebihan di peternakan dan perikanan, kurangnya pengawasan penggunaan antibiotik di klinik dan rumah sakit, sanitasi yang buruk dan tidak higienis serta kurangnya perkembangan antibiotik baru (WHO, 2014).

Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi dari bakteri asosiasi tunikata dalam menghambat pertumbuhan bakteri MDR yang berasal dari manusia.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif eksploratif. Sementara itu, teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling*.

Koleksi spesimen tunikata

Koleksi spesimen dilakukan di perairan Pulau Panjang pada tahun 2016 di kedalaman sekitar 3 – 5 meter menggunakan teknik *skin diving*. Spesimen diambil menggunakan pisau jika tubuhnya lunak dan menggunakan tatah serta palu jika tunikatanya menempel pada substrat keras seperti karang. Potongan tubuh spesimen yang telah diambil dimasukkan kedalam plastik ziplock steril saat di bawah air dengan ditambahkan air laut sampai menutupi tubuhnya. Tujuannya agar kondisinya tetap aerob. Kondisi dipertahankan sedemikian rupa agar spesimen dan mikrobioma didalamnya tidak mengalami banyak degradasi. Setelah sampai di atas kapal, spesimen harus segera dimasukkan ke dalam coolbox agar kondisi tetap dingin dan mikroba didalamnya tetap bisa bertahan sampai proses isolasi selanjutnya di laboratorium.

Isolasi dan purifikasi bakteri asosiasi tunikata

Isolasi bakteri asosiasi tunikata dilakukan dengan teknik sebar atau *spread plate* (Benson, 2001). Media yang digunakan adalah *pepton yeast agar* (PYA) dengan komposisi pepton 2,5 g; yeast 0,5 g; dan agar 15g untuk 1L air laut. Bahan-bahan tersebut disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media yang sudah steril dituang ke cawan petri steril sebanyak 20 ml tiap petri dalam kondisi aseptis.

Spesimen tunikata dipotong dan ditimbang sebanyak 1 g secara aseptis, kemudian digerus menggunakan mortar dan alu sampai terbentuk hasil gerusan yang homogen. Hasil gerusan dimasukkan kedalam 9ml air laut steril yang selanjutnya disebut pengenceran 10^0 . Dari pengenceran 10^0 , diambil 1 ml untuk dimasukkan ke tabung berikutnya untuk menjadi seri pengenceran 10^{-1} . Begitu seterusnya sampai seri pengenceran 10^{-4} . Teknik tersebut dikenal dengan istilah teknik pengenceran bertingkat atau *serial dilution*.

Ketiga seri pengenceran terakhir yakni 10^{-2} , 10^{-3} dan 10^{-4} diambil sebanyak 35 μL untuk disebar diatas media yang sudah dibuat sebelumnya dalam

cawan petri. Cairan diratakan menggunakan *spreader* ke seluruh permukaan agar, agar hasil isolasi nanti tumbuh merata dan tidak *swam* atau menggerombol. Cawan petri yang telah diinokulasikan hasil pengenceran dari spesimen tunikata, kemudian *sealed* menggunakan plastik wrap untuk menghindari kontaminasi dari bakteri udara. Selanjutnya cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu ruang ($29\pm2^{\circ}\text{C}$) selama 3 hari dan diamati pertumbuhan bakterinya tiap 24 jam. Selama proses isolasi disarankan menggunakan kontrol lingkungan yakni dengan cara membuka satu petri yang berisi media agar di sekitar tempat isolasi. Tujuannya adalah jika nantinya tumbuh bakteri di dalam petri tersebut, dapat dipastikan bakteri tersebut berasal dari udara. Bukan dari tunikata yang telah diisolasi bakterinya. Sehingga tidak perlu diambil untuk proses purifikasi.

Bakteri yang sudah tumbuh kemudian dimurnikan dengan teknik gores atau *streak plate method*. Tiap koloni yang tumbuh diidentifikasi dahulu secara morfologi yang meliputi bentuk (*shape*), margin, elevasi, ukuran dan warnanya (Benson, 2001). Tiap koloni yang berbeda dilihat dari segi morfologi, dipisahkan menjadi satu isolat bakteri. Masing-masing isolat bakteri dipurifikasi dan dikultur ulang sampai benar-benar murni. Isolat bakteri yang sudah murni kemudian disimpan dalam agar miring untuk selanjutnya disimpan dalam jangka waktu tertentu sebelum digunakan untuk uji antibakteri.

Metode penyimpanan isolat bakteri untuk jangka waktu lama menggunakan gliserol 50%. Isolat bakteri ditumbuhkan pada media cair *pepton yeast broth*, selama 2x24 jam. Selanjutnya ditambahkan 1:1(v/v) gliserol 50% dalam *cryotube*. Tube kemudian dimasukkan kedalam *deep freezer* pada suhu -80°C untuk preservasi jangka panjang.

Persiapan bakteri MDR

Bakteri MDR yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari RSUP Dr. Kariadi, Semarang. Jenis-jenis bakteri yang digunakan antara lain: bakteri MDR *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii*, MRSA, *Enterobacter cloacae complex* dan *Staphylococcus hemolyticus*. Bakteri-bakteri MDR tersebut ditumbuhkan sehari sebelum (H-1) uji antibakteri dilakukan. Bakteri MDR ditumbuhkan dalam media cair *nutrient broth* (NB), diinkubasi di suhu ruang ($29\pm2^{\circ}\text{C}$) di-shaker dengan kecepatan 120 rpm. Pada hari H uji antibakteri, bakteri-bakteri MDR disesuaikan dengan jumlah sebanyak 0,5 Mc Farland atau 1×10^8 CFU/ml dengan standar Mc Farland dari Himedia.

Skrining aktivitas antibakteri MDR

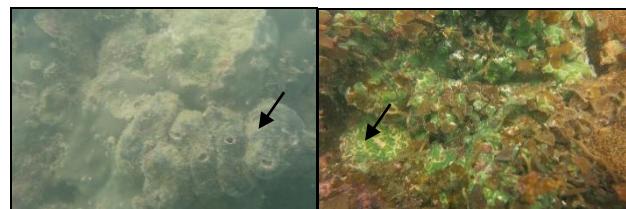
Pengujian aktivitas antibakteri dari bakteri asosiasi tunikata melawan bakteri MDR dilakukan menggunakan metode *overlay* (Radjasa et al, 2008).

Isolat bakteri asosiasi tunikata ditumbuhkan pada media PYA dalam bentuk bulatan kecil (*dotting*) dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang ($29\pm2^{\circ}\text{C}$). Pada hari H uji, bakteri MDR yang telah dikultur sebelumnya dan disesuaikan jumlahnya ditambahkan ke media *soft agar* (NB dan 1,125% agar) sebanyak 1% pada kondisi hangat, agar bakteri MDR tidak mati. Setelah dihomogenkan dengan cara digoyang beberapa saat, media *soft agar* dituangkan di atas hasil dotting isolat bakteri asosiasi tunikata. Uji dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Hasil overlay diinkubasi di inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Isolat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri, jika terdapat zona hambat atau zona bening disekelilingnya. Zona bening diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan mm pada tiga ulangan ($n=3$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Koleksi spesimen tunikata

Spesimen tunikata yang berhasil dikoleksi dari perairan Pulau Panjang Jepara ditunjukkan pada gambar 1a. Sementara itu untuk dokumentasi spesimen di atas permukaan laut ditunjukkan oleh gambar 1b.



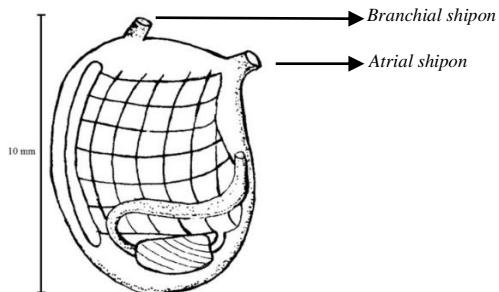
Gambar 1 a. Dokumentasi bawah air dua spesimen tunikata dari jenis yang berbeda. Individu tunikata ditunjukkan dengan anak panah hitam.



Gambar 1b. Dokumentasi di atas air dua spesimen tunikata dari jenis yang berbeda.

Morfologi tunikata sedikit mirip sponge jika dilihat didalam air. Meskipun demikian, tunikata dapat dibedakan dari sponge dilihat dari keberadaan *branchial siphon* dan *atrial siphon*. Kedua shpon ini mengarah ke atas seperti terlihat pada gambar 1a. *Branchial shpon* terletak tegak lurus, sementara *atrial shpon* ada di sisi lateral. Makanan masuk melalui *branchial shpon* kemudian didistribusikan ke seluruh tubuh dan akhirnya dikeluarkan melalui *atrial shpon* (Ali dan Tamilselvi, 2016). Secara skematis,

lokasi kedua *shipon* tersebut disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Bentuk tunikata dan lokasi kedua *shipon* secara skematis (Sumber: Ali dan Tamilselvi, 2016).

Masih menurut referensi yang sama (Ali dan Tamilselvi, 2016), tunikata dapat diidentifikasi melalui beberapa hal yaitu tunik, koloni, zooid, toraks, *gut loop*, gonad, larva dan spikula. Beberapa jenis tunikata yang sudah berhasil ditemukan di beberapa wilayah di Indonesia antara lain: *Ascidia*, *Atriolum*, *Clavelina*, *Didemnum*, *Lissoclinum*, *Rhopalaea*, *Polycarpa aurata* dan *Herdmania momus* (Ayuningrum et al, 2019 a,b,c). Tunikata-tunikata tersebut ditemukan di perairan Karimunjawa (Ayuningrum et al, 2019a), di perairan Kepulauan Lease, Maluku (Ayuningrum et al, 2019b) dan di perairan Nusa Laut, Maluku (Ayuningrum et al, 2019c). Tidak menutup kemungkinan akan ditemukan jenis-jenis baru tunikata bahkan jenis baru yang belum pernah dilaporkan sebelumnya, jika dilihat eksplorasi jenis tunikata ini masih sangat sedikit (*underexplored*). Padahal potensi tunikata ini sangat besar.

Isolasi dan purifikasi bakteri asosiasi tunikata

Total sebanyak 12 isolat bakteri telah berhasil diisolasi dari dua spesimen tunikata. Hasil isolasi disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Hasil isolasi bakteri asosiasi tunikata pada pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} .

Hasil identifikasi morfologi masing-masing isolat bakteri disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi morfologi isolat bakteri asosiasi tunikata

No	Kode Isolat	Warna	Ukuran	Bentuk	Elevasi	Margin
1	PT24/1	Putih	Besar	Bulat	Convex	Entire
2	PT24/2	Putih	Kecil	Bulat	Flat	Entire
3	PT24/3	Transparan	Besar	Filament	Flat	Filament
4	PT24/4	Putih	Pin point	Bulat	Convex	Entire
5	PT24/5	Putih	Kecil	Bulat	Convex	Entire

		kekuningan				
6	PT24/6	Putih	Besar	Filament	Flat	Entire
7	PT33/1	Kuning	Kecil	Bulat	Convex	Entire
8	PT33/2	Putih keruh	Besar	Bulat	Convex	Entire
9	PT33/3	Transparan	Sedang	Bulat	Convex	Entire
10	PT33/4	Putih	Sedang	Bulat	Convex	Entire
11	PT33/5	Putih kekuningan	Sedang	Bulat	Convex	Entire
12	PT33/6	Putih keruh	Pin point	Bulat	Convex	Entire

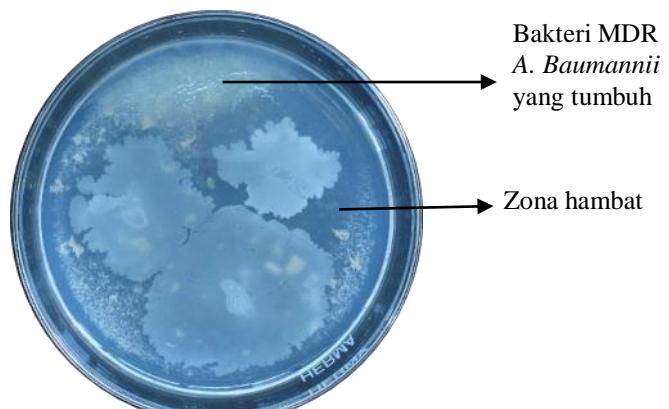
Tunikata banyak sekali mengandung bakteri asosiasi didalamnya. Hal ini tentu saja tidak lepas dari cara hidupnya sebagai *filter feeder*. Publikasi oleh Ayuningrum et al (2019c) menemukan dari satu spesimen tunikata telah berhasil diisolasi sebanyak 14 isolat bakteri asosiasi. Selain didukung oleh cara hidupnya, banyaknya isolat bakteri didukung pula oleh kualitas perairan. Semakin baik kualitasnya diversitas bakterinya juga semakin banyak.

Persiapan bakteri MDR

Bakteri MDR yang digunakan untuk uji tantang memiliki berbagai level resistensi terhadap antibiotik yang ada di pasaran. Resistensi ini berkaitan dengan enzim-enzim yang dimiliki oleh bakteri MDR yang nantinya mampu untuk menginaktivasi senyawa antibakteri yang terkandung dalam suatu antibiotik. Misalnya enzim beta lactamase yang mampu memecah ikatan beta laktam, sehingga golongan antibiotik yang memiliki ikatan beta laktam dalam strukturnya tidak mampu lagi menghambat pertumbuhan bakteri MDR tersebut (Ghafoorian et al, 2015).

Skrining aktivitas antibakteri MDR

Hasil skrining aktivitas antibakteri dari isolat bakteri asosiasi tunikata terhadap bakteri MDR ditunjukkan pada tabel 2. Terbentuknya zona hambat ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 4. Isolat bakteri asosiasi tunikata PT24/6 yang menunjukkan aktivitas antibakteri melawan bakteri MDR *Acinetobacter baumannii*.

Zona hambat terbentuk sebagai akibat dari sekresi senyawa antibakteri oleh bakteri asosiasi tunikata, sehingga bakteri MDR *A. baumannii* tidak mampu tumbuh di atas lapisan bakteri asosiasi tersebut. Senyawa antibakteri tersebut berdifusi ke

seluruh bagian agar sampai batas tertentu yang disebut diameter zona hambat atau *zone of inhibition* (ZOI). Berdasarkan Ayuningrum et al (2019a), melalui ZOI tersebut, isolat-isolat bakteri asosiasi tunikata tersebut dapat dikategorikan memiliki aktivitas sangat kuat ($ZOI \geq 21\text{mm}$), kuat ($ZOI = 17-21\text{mm}$), sedang ($ZOI = 12-16\text{mm}$) dan lemah ($ZOI = 7-11\text{mm}$).

Aktivitas antibakteri dari bakteri asosiasi tunikata ini dimiliki sebagai respon terhadap mikrobioma yang hidup bersama di dalam tubuh host. Diversitas bakteri yang berasal dari host tentu berbeda dengan diversitas bakteri yang berasal dari

air laut (Ayuningrum, 2019). Lingkungan air laut mengakomodai berbagai macam bakteri yang tidak hanya menguntungkan namun juga patogen. Host memerlukan bantuan untuk mempertahankan dirinya dari serangan-serangan bakteri patogen tersebut. Salah satu caranya adalah dengan mempertahankan interasi dengan bakteri-bakteri yang mampu menghasilkan metabolit sekunder untuk melawan patogen-patogen tersebut. Sifat alamiah dari simbion inilah yang akhirnya dimanfaatkan di laboratorium untuk diisolasi senyawa-senyawa metabolit sekundernya.

Tabel 2. Hasil skrining aktivitas antibakteri dari isolat bakteri asosiasi tunikata melawan bakteri-bakteri MDR

No.	Kode isolat	MDR							
		PA	KP	EA	AB	MRSA	EC	ECC	SH
1	PT24/1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	PT24/2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	PT24/3	-	-	-	-	-	-	-	+
4	PT24/4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	PT24/5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	PT24/6	-	-	-	+++	-	-	-	+
7	PT33/1	-	-	-	-	-	+	-	-
8	PT33/2	-	-	-	-	-	-	-	-
9	PT33/3	-	-	-	-	+	-	-	-
10	PT33/4	-	-	-	-	-	-	-	-
11	PT33/5	-	-	-	-	-	-	-	-
12	PT33/6	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

- PA : *Pseudomonas aeruginosa*
- KP : *Klebsiella pneumonia*
- EA : *Enterobacter aerogenes*
- AB : *Acinetobacter baumannii*
- MRSA : Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus*
- EC : *Escherichia coli*
- ECC : *Enterobacter cloacae complex*
- SH : *Staphylococcus haemolyticus*
- : tidak menunjukkan aktivitas antibakteri
- + : aktif di satu ulangan
- ++ : aktif di dua ulangan
- +++ : aktif di tiga ulangan

KESIMPULAN

Bakteri asosiasi tunikata merupakan sumber isolat bakteri yang menjanjikan untuk penelusuran senyawa antibakteri. Sebanyak 12 isolat bakteri asosiasi telah berhasil diperoleh dari 2 spesimen tunikata dimana 33% diantaranya menunjukkan aktivitas antibakteri MDR.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada tim TMB dan PMDSU yang telah membantu dalam koleksi sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Aasila, H., M.L. Bourguet-Kondracki, S. Rifai, A. Fassouane, and M. Guyot. 2003. Identification of Harman as the antibiotic compound produced by a Tunicate-associated bacterium. *Mar. Biotechnol.* 5: 163 – 166.
- Ali AJ, Tamilselvi M. 2016. *Ascidians in Coastal Water*. Springer International Publishing, Switzerland. DOI: 10.1007/978-3-31929118-5.
- Ayuningrum D., Kristiana R., Nisa A.A., Radjasa S.K., Muchlissin S.I., Radjasa O.K., Sabdono A., and Trianto, A. 2019b. Bacteria associated with tunicate, *Polycarpa aurata*, from Lease Sea, Maluku, Indonesia exhibiting anti-multidrug resistant bacteria. *Biodiversitas* 20(4) DOI: 10.13057/biodiv/d200404
- Ayuningrum D., Kristiana R., Trianto A., Radjasa O.K., Sabdono A., and Sibero. 2019c. The uncultured gamma proteobacterium and culturable associated-bacteria from tunicate *Herdmania momus*. *AIP Conference Proceedings* 2120, 080004 (2019); <https://doi.org/10.1063/1.5115742>

- Ayuningrum D., Liu Y., Riyanti, Sibero M.T., Kristiana R., Asagabaldan M.A., Wuisan Z.G., Trianto A., Radjasa O.K., Sabdono A., and Schaeberle T.F. 2019a. Tunicate-associated bacteria show a great potential for the discovery of antimicrobial compounds. *PLoS ONE* 14(3): e0213797. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213797>
- Ayuningrum, D. 2019. Karakterisasi Molekular Bakteri Asosiasi Tunikata dan Identifikasi Senyawa Antimikrobanya Terhadap *Escherichia Coli* Multidrug Resistant-Extended Spectrum Beta Lactamase. [Disertasi]. Universitas Diponegoro [Indonesia].
- Benson H. 2001. *Microbiological Applications A Laboratory Manual in General Microbiology, 8th ed.* McGraw–Hill Companies, New York.
- Bone, Q., C. Carre and P. Chang. 2003. Tunicate feeding filters. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 83: 907-919.
- CDC. Antibiotic resistance threats in the United States. 2013. https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest_threats.html. Disitasi 10 September 2020.
- Charan, R.D., G. Schlingman, J. Janso, V. Bernan, X. Feng and G.T.Carter. 2004. Diazepinomycin, a new antimicrobial alkaloid from marine *Micromonospora* sp. *J.Nat. Prod*. Vol. 67: 1431 – 1433
- Ghafourian, S., N. Sadeghifard, S. Sohelli and Z. Sekawi. 2015. Extended Spectrum Beta-Lactamases: Definiton, Classification and Epidemiologi. *Curr. Issues Mol. Biol.* 17: 11-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.21775/cimb.017.011>
- Magiorakos, A.P., A. Srinivasan, R.B. Carey, Y. Carmeli, M.E. Falagas, C.G. Giske, S. Harbath, J.F. Hindler, G. Kahlmeter, B. Olsson-Liljequist, D.L. Paterson, L.B. Rice, J. Stelling, M.J. Struelens, A. Vatopoulos, J.T. Weber and D.L. Monnet. 2012. Multidrug-resistant, extensively drugresistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*: 18; 268 – 281.
- Margulis, L. and K.V. Svhartz. 1998. *Five Kingdoms: an illustrated guide to the Phyla of life on earth. 3rd edition.* Freeman: New York, NY (USA).
- Radjasa, O.K., J. Wiese, A. Sabdono, and J.F. Imhoff. 2008. Corals as source of bacteria with antimicrobial activity. *Journal of Coastal Development* Vol. 11 No. 2 ISSN 1410-5217.
- WHO. Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance. 2014. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/1065/112642/9789241564748_eng.pdf?sequenc e=1 Disitasi 10 September 2020
- Wyche, T.P., Y. Hou, E. Vazquez-Rivera, D. Braun andT.S. Bugni. 2012. Peptidolipins B-F, antibacterial lipopeptides from an Ascidian derived *Nocardia* sp. *J Nat Prod* 75 (4): 735 – 740.