

Pengujian Hidrofobisitas dan Aktivitas Antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* Isolat Preputium Sapi Aceh

Maryulia Dewi^{1*)}, Darmawi¹, T. Zahrial Helmi²

¹Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

²Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

^{*)}Email: maryuliad@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi dan mengamati aktivitas antibiotik terhadap hidrofobisitas *Staphylococcus aureus* isolat preputium sapi Aceh menggunakan hidrokarbon *xylo*l dan pembaca ELLISA. Hidrofobisitas permukaan berbagai sel mikroba ditentukan dengan mengukur kemampuan penempelan sel terhadap berbagai polimer atau afinitas bakteri terhadap pelarut hidrokarbon. Pengujian hidrofobisitas bakteri dilakukan pada media nutrisi cair dengan modifikasi hidrokarbon *xylo*l, menggunakan mikroplat *U-bottom polystyrene 96 wells*. Antibiotik yang digunakan adalah tetrasiklin, oksitetrasiklin dan fosfomisin dengan konsentrasi masing-masing 10%, 20% dan 30% (mg/mL). OD hidrofobisitas dibaca pada λ 600 nm menggunakan pembaca ELISSA. Data hasil penelitian di analisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA). Hasil penelitian menunjukkan aktivitas virulensi *Staphylococcus aureus* isolat preputium sapi Aceh berdasarkan karakteristik hidrofobisitas tergolong positif moderat, yaitu 36,76%. Perlakuan antibiotik berpengaruh secara nyata ($P < 0,05$) terhadap daya hidrofobisitas, sedangkan konsentrasi tidak berpengaruh secara nyata ($p < 0,05$) terhadap daya hidrofobisitas *Staphylococcus aureus* isolat preputium sapi Aceh. Tetrasiklin 30% (mg/mL) mempunyai kemampuan paling baik meningkatkan hidrofobisitas *Staphylococcus aureus* isolat preputium sapi Aceh sebesar 36,16% menjadi 72,29%, sehingga aktivitas virulensi *Staphylococcus aureus* isolat preputium sapi Aceh berdasarkan karakteristik hidrofobisitas dari positif moderat menjadi positif palsu.

Kata Kunci: hidrofobisitas, antibiotik, pembaca ELISSA, *xylo*l, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

This study aims to characterize and observe the antibiotic activity of the hydrophobicity of *Staphylococcus aureus* in prepuce isolates of Aceh cow by using *xylo*l hydrocarbons and ELLISA readers. The surface hydrophobicity of various microbial cells were determined by measuring the ability of cell attachment to various polymers or bacterial affinity to hydrocarbon solvents. Testing of bacterial hydrophobicity was carried out on liquid nutrient media with modification of *xylo*l hydrocarbons, using 96 wells *U-bottom polystyrene microplates*. The antibiotics used were tetracycline, oxytetracycline and fosfomycin with concentrations of 10%, 20% and 30% (mg / mL, respectively). The hydrophobicity OD was detected at λ 600 nm using the ELISSA reader. The results of the research data were analyzed using *analysis of variance* (ANOVA). The results showed the virulence activity of *Staphylococcus aureus* of Aceh cow prepuce isolates based on the characteristics of hydrophobicity was categorized as moderate, i.e. 36.76%. Antibiotic treatment had a significant effect ($P < 0.05$) on hydrophobicity, while the concentration had no significant effect ($p < 0.05$) on the hydrophobicity of *Staphylococcus aureus* in Aceh cow prepuce isolates. Tetracycline 30% (mg / mL) had the best ability to increase the hydrophobicity of *Staphylococcus aureus* Aceh cow prepuce isolate by 36.16% to 72.29%, so that the virulence activity of *Staphylococcus aureus* Aceh prepuce preparations based on the characteristics of hydrophobicity from positive to moderate to false positive.

Keyword: hydrophobicity, antibiotics, ELISSA readers, *xylo*l, *Staphylococcus aureus*.

I. Pendahuluan

Seiring dengan berkembangnya penemuan dibidang biologi molekuler, banyak metode yang telah dikembangkan untuk menentukan jalur patogenik suatu bakteri. Namun masih banyak metode konvensional yang dapat digunakan untuk menentukan jalur patogenik bakteri seperti pengujian terhadap hidrofobisitas

bakteri. Hidrofobisitas merupakan salah satu aktivitas virulensi bakteri yang dapat menentukan jalur patogenisitas suatu bakteri (Das dan Kapoor, 2004).

Sifat hidrofobisitas pada bakteri tergantung dari komponen permukaan sel bakteri yang mempengaruhi perlekatan (adhesi) bakteri pada permukaan sel inang. Mekanisme adhesi *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) pada mukosa

host dimulai dari invasi dan melekat pada jaringan host, invasi ke jaringan host, multiplikasi dan kolonisasi pada jaringan, menghindari dari sistem imun host dan merusak jaringan serta resistensi terhadap antibiotik. Adhesi bakteri yang diikuti dengan terjadinya kolonisasi pada host adalah tanda mulai terjadinya patogenesis penyakit (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri yang mempunyai kemampuan adhesi dan kolonisasi serta pertahanan terhadap fagositosis lebih bersifat virulen dari bakteri umumnya (Lestari dan Siti, 2015).

Hidrofobisitas permukaan berbagai sel mikroba dapat ditentukan dengan mengukur kemampuan penempelan sel terhadap berbagai polimer, atau afinitas bakteri terhadap pelarut hidrokarbon dalam sistem 2 fase yaitu daya lekat dan pertumbuhan pada hidrokarbon (Rosenberg dan Doyle, 1990). Menurut Lee dan Yii, 1996, uji hidrofobisitas bakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara diantaranya: menggunakan presipitasi permukaan sel dengan garam, membran nitroselulosa, kromatografi kolom dan interaksi bakteri terhadap hidrokarbon yang menggunakan n-heksan atau n-oktana dalam tabung asam. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah *xylol* karena lebih ekonomis dan lebih mudah didapatkan. Pengukuran OD (*optical density*) dilakukan menggunakan alat pembaca ELISSA karena lebih akurat dan tidak dipengaruhi oleh intensitas warna seperti pada pengukuran menggunakan alat Spektrofotometri.

Perubahan hidrofobisitas pada bakteri dapat terjadi selama proses morfogenesis dan adanya senyawa yang bersifat antimikroba. Penambahan umur bakteri juga dapat meningkatkan sifat hidrofobik. Antibiotik dapat menurunkan atau meningkatkan hidrofobisitas bakteri tergantung dari spesies bakteri dan senyawa antibiotik (Rosenberg dan Doyle, 1990). Penelitian ini bertujuan untuk mengukur sifat hidrofobisitas *S. aureus* isolat sapi Aceh terhadap pelarut *xylol*, dan melihat aktivitas antibiotik terhadap sifat hidrofobisitas *S. aureus* isolat sapi Aceh.

II. Metode Penelitian

Penentuan hidrofobisitas bakteri dilakukan dengan modifikasi metode BATH pada hidrokarbon *xylol*, dengan cara Lee dan Yii (1996) sebagai berikut: sebanyak 4,8 mL suspensi bakteri *S. aureus* yang mengandung 10^6 cfu/mL disentrifus pada 1900 rpm selama 15 menit. Supernatan kultur dibuang dan pelet bakteri ditambah 4,8 mL *Nutrient Broth* (NB) yang mengandung antibiotik tetrasiklin,

oksitetrasiklin dan fosfomisin dengan konsentrasi 10, 20 dan 30 mg/mL. Kontrol hidrofobisitas digunakan penambahan 1,07 ml bufer fosfat dan 3,73 ml media NB pada pelet bakteri, sehingga volume akhir menjadi 4,8 mL. Selanjutnya suspensi bakteri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kultur bakteri dipisahkan dengan cara sentrifus pada 1900 rpm selama 15 menit. Pelet yang terbentuk dicuci satu kali dengan *Phospat Buffer Saline* (PBS) pH 7.2 steril, diresuspensikan dalam PBS menjadi 4,8 mL. Setiap 4,8 mL suspensi bakteri 10^6 cfu/mL ditambahkan pada seri volume hidrokarbon 1 mL *xylol* dalam tabung yang tahan asam. Kemudian divortex dengan kecepatan konstan selama satu menit, dan diekuilibrasikan pada suhu kamar selama 15 menit, sehingga terjadi pemisahan. Fase air diambil secara perlahan-lahan menggunakan pipet Pasteur dan sebanyak 200 μ L fase air dipindahkan ke mikroplat kemudian absorbansi diukur pada A 600 nm. Hidrofobisitas ditentukan berdasarkan persentase OD (*optical density*), pada fase air, menggunakan pembaca ELISSA.

Persen hidrofobisitas = $100 - (A \times 100/A_0)$, dimana A adalah OD dari suspensi bakteri pada fase air setelah kontak dengan *xylol* dan A_0 merupakan OD suspensi tanpa penambahan *xylol* yang mempunyai nilai hidrofobisitas setara dengan 0 persen. Perubahan adsorban tingkat hidrofobisitas berhubungan dengan kemampuan bakteri *S. aureus* meningkatkan virulensi pada proses adhesin protein permukaan host.

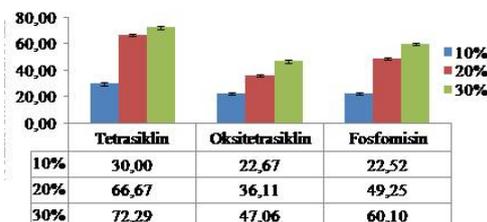
III. Hasil dan Pembahasan

Sifat hidrofobitas permukaan *S. aureus* isolat preputium sapi Aceh yang diperoleh dari pengukuran OD pada pembaca ELISSA setelah kontak dengan *xylol* adalah 36,76%, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas virulensi bakteri tersebut masuk dalam kategori positif moderat. Hasil ini merujuk pada karakteristik hidrofobisitas bakteri metode Bath berdasarkan kriteria Das dan Kapoor, (2004) yaitu < 25% artinya negatif, 25% - 70% positif moderat dan > 70% positif kuat. Sifat hidrofobisitas bakteri ditentukan oleh struktur molekul pada permukaan sel bakteri yang berperan dalam proses adhesi pada sel epitel inang. Perlekatan *S. aureus* pada permukaan mukosa host diperantarai oleh protein permukaan sel dan kesatuan dinding sel yang dapat meningkatkan adhesi. Adhesi protein fimbriae bersifat hidrofobik karena jumlah asam amino

hidrofobik penyusun protein fimbriae dan struktur tersier protein. Sifat hidrofobik fimbriae ini akan meningkatkan afinitas bakteri pada reseptor, sehingga terjadi pelekatan bakteri pada reseptor permukaan sel epitel. Sifat hidrofobitas ini memungkinkan bakteri tetap tinggal dipermukaan mukosa dan berkembang biak atau berpenetrasi kedalam jaringan (Plata, 2009).

Persentase aktivitas antibiotik terhadap daya hidrofobitas *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 1.

Persentase aktivitas antibiotik terhadap daya hidrofobitas *S. aureus*, pada penggunaan tetrasiklin, oksitetrasiklin dan fosfomisin dari Gambar 1 terlihat terjadi peningkatan daya hidrofobitas seiring meningkatnya konsentrasi. Hasil tertinggi terdapat pada aktivitas tetrasiklin 30% yaitu sebesar 72,29% dan terendah pada fosfomisin konsentrasi 10% yaitu sebesar 22,52%. Hasil uji ANOVA menunjukkan aktivitas antibiotik terhadap daya hidrofobitas *S. aureus* berdasarkan jenis antibiotik berbeda sangat nyata ($p < 0,05$) antar perlakuan. Selanjutnya hasil uji Duncan menunjukkan aktivitas hidrofobitas tetrasiklin berbeda dengan oksitetrasiklin dan berbeda juga dengan aktivitas fosfomisin. Berdasarkan konsentrasi antibiotik tidak berbeda nyata ($p < 0,05$) pada perlakuan konsentrasi 10%, 20% dan 30%.



Gambar 1.

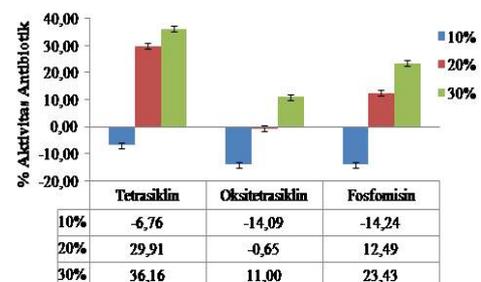
Aktivitas antibiotik tetrasiklin, oksitetrasiklin dan fosfornisin terhadap daya hidrofobitas *S. Aureus*.

Bakteri yang bersifat hidrofobik, permukaan selnya tersusun dari molekul-molekul protein dan saat melekat pada sel epitel akan mudah difagosit oleh sel-sel polimorfonuklear (Salasia *et al.*, 2005). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tetrasiklin 30% mampu meningkatkan hidrofobitas *S. aureus* isolat preputium sapi Aceh dari 36,76% menjadi 72,29% sehingga bakteri bersifat hidrofobik kuat. Perubahan sifat hidrofobitas pada *S. aureus* menunjukkan adanya perubahan struktur permukaan sel bakteri yang mengakibatkan perubahan sistem enzim yang mengkoordinir produksi protein ekstraseluler. Keseluruhan

peristiwa ini merupakan salah satu mekanisme penghambatan pertumbuhan dan virulensi bakteri (Fardiaz dan Radiati, 2012).

Antimikroba dapat menurunkan atau meningkatkan sifat hidrofobitas permukaan bakteri tergantung dari spesies bakteri dan senyawa antimikroba yang digunakan. Kemampuan antibiotik meningkatkan dan menurunkan hidrofobitas *S. aureus* dapat dilihat berdasarkan daya hidrofobitas relatif. Persentase daya hidrofobitas relatif dapat dilihat pada Gambar 2.

Persentase daya hidrofobitas relatif antibiotik terhadap *S. aureus*, dari Gambar 2 terlihat bahwa masing-masing antibiotik mempunyai kemampuan meningkatkan dan menurunkan hidrofobitas *S. aureus*. Tetrasiklin mempunyai kemampuan paling tinggi dalam meningkatkan hidrofobitas *S. aureus* yaitu sebesar 36,16% dan terendah oksitetrasiklin 30% yaitu 11,00%. Hasil uji ANOVA menunjukkan aktivitas antibiotik terhadap daya hidrofobitas relatif berdasarkan jenis antibiotik berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) antar perlakuan. Selanjutnya hasil uji Duncan menunjukkan aktivitas tetrasiklin berbeda dengan oksitetrasiklin dan fosfomisin. Berdasarkan konsentrasi tidak berbeda nyata ($p < 0,05$) antara perlakuan konsentrasi 10%, 20% dan 30%.



Gambar 2.

Aktivitas antibiotik tetrasiklin, oksitetrasiklin dan fosfornisin terhadap daya hidrofobitas relatif *S. aureus*

Persentase daya hidrofobitas relatif antibiotik terhadap *S. aureus*, dari Gambar 2 terlihat bahwa masing-masing antibiotik mempunyai kemampuan meningkatkan dan menurunkan hidrofobitas *S. aureus*. Tetrasiklin mempunyai kemampuan paling tinggi dalam meningkatkan hidrofobitas *S. aureus* yaitu sebesar 36,16% dan terendah oksitetrasiklin 30% yaitu 11,00%. Hasil uji ANOVA menunjukkan aktivitas antibiotik terhadap daya hidrofobitas relatif berdasarkan

jenis antibiotik berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) antar perlakuan. Selanjutnya hasil uji Duncan menunjukkan aktivitas tetrasiklin berbeda dengan oksitetrasiklin dan fosfomisin. Berdasarkan konsentrasi tidak berbeda nyata ($p < 0,05$) antara perlakuan konsentrasi 10%, 20% dan 30%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tetrasiklin dan fosfomisin konsentrasi 10%, serta oksitetrasiklin konsentrasi 10% dan 20% bersifat menurunkan hidrofobisitas *S. aureus* isolat preputium sapi Aceh. Penurunan hidrofobisitas pada *S. aureus* kemungkinan disebabkan oleh senyawa peptida berinteraksi dengan fimbriae dan mengakibatkan penggumpalan protein, sehingga protein ini kehilangan struktur hidrofobiknya dan mengakibatkan hidrofobisitas bakteri menurun (Rosenberg dan Doyle, 1990). Tetrasiklin dan fosfomisin mampu meningkatkan hidrofobisitas *S. aureus* isolat preputium sapi Aceh mulai dari konsentrasi 20% dan 30%, sedangkan oksitetrasiklin baru mampu meningkatkan hidrofobisitas *S. aureus* isolat preputium sapi Aceh mulai dari konsentrasi 30%. Peningkatan hidrofobisitas pada *S. aureus*, kemungkinan disebabkan oleh terekstraksinya komponen terluar sel yang bersifat hidrofilik, sehingga yang menonjol adalah LPS yang meningkatkan hidrofobisitas bakteri. Dengan adanya perlakuan antibakteri akan mengakibatkan perubahan kapsul bakteri yang simetris sehingga menjadikan bakteri lebih bersifat hidrofobik (Rosenberg dan Doyle, 1990).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa aktivitas virulensi *S. aureus* isolat preputium sapi Aceh berdasarkan karakteristik hidrofobisitas tergolong positif moderat, yaitu 36,76%. Aktivitas antibiotik dapat mempengaruhi hidrofobisitas *S. aureus*. Tetrasiklin 30% (mg/mL) mempunyai kemampuan paling baik meningkatkan hidrofobisitas *S. aureus* sebesar 36,16% menjadi 72,29%. Sehingga aktivitas virulensi *S. aureus* isolat preputium sapi Aceh menjadi lemah atau tergolong positif palsu. Penelitian lanjutan perlu dilakukan terkait aktivitas antibiotik terhadap aktivitas virulensi *S. aureus* isolat preputium sapi Aceh berdasarkan karakteristik lain seperti fosfolipase dan proteinase dengan menggunakan antibiotik dengan konsentrasi lain yang berbeda. Selanjutnya perlu juga dilakukan analisa secara molekuler untuk melihat ekspresi gen *S. aureus* isolat preputium sapi Aceh, terkait resistensinya terhadap antibiotik.

Daftar Pustaka

- Toriyama, Y. Tanimoto, S. Sugiyama, Single crystalline silicon nano wire piezoresistors for mechanical sensors, Transducers '01 Eurosensors XV Digest of technical papers, Munich (2001), p. 1002-1005.
- Das, S.C. & K.N. Kapoor. (2004). Effect of growth medium on hydrophobicity of *Staphylococcus epidermidis*. Indian Journal. Med. Res. (119): 107 – 109.
- Fardiaz, D., & L.E. Radiati. 2012. Pengaruh Whey Kefir Susu Kambing Terhadap Hidrofobisitas Bakteri *E. Coli* O157:H7, *S. Typhi*. Jurnal Ilmu dan Teknologi. Vol. 7(1): 12-18.
- Jawetz, Melnick, & Adelbergs. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika, Jakarta.
- Lee, K.K. & K.C. Yii. 1996. A Comparison of three methods for assaying hydrophobicity of pathogenic vibrios. Journal. Letters In Appl. Microbiol. 13: 343-346.
- Lestari, F. B., & Siti, I.O.S. 2015. Karakterisasi *Staphylococcus aureus* Isolat Susu Sapi Perah Berdasarkan Keberadaan Protein-A pada Media Serum Soft Agar terhadap Aktivitas Fagositosis Secara Invitro. Journal Sain Veteriner 33 (20): 149-155.
- Plata, K., A.E. Rosato, & G. Wegrzyn. 2009. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. Journal. Acta Biochim. 56 (4): 597-612.
- Rosenberg, E. & R.J. Doyle. 1990. *Microbial cell surface hydrophobicity: History, measurement and significance*. In Doyle R.J. and M. Rosenberg. Eds. *Microbial Cell Surface Hydrophobicity*. American Society for Microbiology. Washington. D.C.
- Salasia, S.I.O., M.H. Wibowo, & Khusnan. 2005. Karakterisasi fenotipe *Staphylococcus aureus* isolat dari sampel susu sapi perah mastitis sub klinis. Jurnal Sain Veteriner. 23:72-78.