BAB I
PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi telah menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas manusia, bersamaan dengan penyakit non infeksi lainnya seperti penyakit kanker. *The global Burden of Disease Study* (GDBS) menyatakan bahwa penyakit infeksi merupakan salah satu dari 10 penyebab kematian terbesar di dunia (Sari *dkk*., 2017). Setiap tahun infeksi menyebabkan 3,5 juta orang meninggal yang sebagian besar terdiri dari anak-anak miskin dan anak yang tinggal di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah (WHO, 2014). Data lain menyebutkan terdapat 6,3 juta anak-anak di bawah 5 tahun meninggal, di mana setiap harinya terjadi sekitar 17.000 kematian. Dari data tersebut sekitar 83 % kematian disebabkan oleh penyakit infeksi, kelahiran dan kondisi gizi (WHO, 2015).

Berbagai macam antibiotik sintetik telah dikembangkan untuk melawan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri, akan tetapi penggunaan antibiotik sintetik yang irrasional, tanpa resep dokter dan tidak kontiniu dapat menimbulkan sebuah masalah baru yang disebut resistensi (Yenny dan Herwana, 2007). Perkembangan resistensi antibiotik telah menjadi masalah penting karena banyak jenis bakteri patogen terhadap manusia dilaporkan telah menjadi resisten terhadap satu atau lebih dari dua jenis antibiotik yang dikenal dengan istilah Multi Drug Resistance / MDR (Harmawan *dkk*., 2012).

Penelitian tentang bakteri MDR telah banyak dilakukan, menurut Dwiprahasto (2005) telah melaporkan beberapa bakteri yang telah resisten diantaranya *Staphylococcus aureus* terhadap meticilin; *Pseudomonas aeruginosa* terhadap piperacillin, ceftazidime, aztreonam, imipenem, ciprofloxacin, dan aminoglikosida; *Enterobacteriacea* terhadap antibiotik golongan β-laktam; serta *Klebsiella pneumoniae* terhadap aminoglikosida dan ciprofloxacin. *Salmonella typhi* terhadap dua atau lebih golongan antibiotik utama pengobatan demam tifoid yaitu kotrimoksazol , kloramfenikol, ampisilin, dan amoksilin. Bakteri *E.coli* juga sudah MDR terhadap flurokuinolon dan kotrimoksazol (Qadri *dkk*., 2005).

Berdasarkan permaalahan tersebut maka dilakukanlah pencarian sumber alternatif baru penghasil senyawa antibotiik dengan mengembangkan antibiotik baru dari bahan alam. Salah satunya yang potensial adalah bakteri yang bersimbiosis dengan spons. Baru ini spons dan karang lunak banyak menjadi perhatian para peneliti produk alam karena terbukti mengandung senyawa-senyawa aktif (Tinambunan *dkk*., 2012).

Penelitian bakteri simbion spons sudah dilaporkan berhasil menghambat pertumbuhan bakteri patogen, seperti bakteri simbion spons *Agelas sp* terhadap *E.coli* dan *S.aureus* yang sudah dikategorikan sebagai bakteri MDR (Luissandy *dkk*., 2017), bakteri simbion spons *Sinularia sp* terhadap bakteri *E.coli* (Kartika, 2017), bakteri simbion spons *Jaspis sp* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyi*, *Eschericia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Abubakar *dkk*., 2011), bakteri simbion spons *Plakortis sp* terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* (Pasodung *dkk*., 2018), bakteri simbion spons *Demospongiae* terhadap bakteri *E.coli* FNCC 0047 dan *S.aureus* FNCC 0047 (Judianti *dkk*., 2014) dan bakteri simbion *Aplysina sp* terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* (Pastra *dkk*., 2012).

Kemampuan spons dalam menghasilkan senyawa bioaktif dikarenakan hubungan simbiotik dengan mikroorganisme dalam hal ini bakteri. Hubungan ini mencakup penyediaan nutrisi dengan membantu translokasi metabolisme termasuk nitrifikasi, fiksasi nitrogen, fotosintesis, dan membantu pertahanan kimiawi serta berperan dalam biofouling (Ginting *dkk*., 2010). Menurut Murniasih dan Rasyid (2010) menyatakan bahan alam yang dihasilkan oleh bakteri simbion adalah jenis senyawa *Antimicrobial* yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat antibiotik. Senyawa aktif yang dihasilkan oleh spons merupakan hasil biosintesis bakteri simbionnya. Hal ini bisa saja terjadi karena koloni mikroba dapat mencapai 40 % dari komponen penyusun tubuh spons. Interaksi biokimia tersebut memungkinkan bakteri yang bersimbiosis menghasilkan zat bioaktif yang sama dengan inangnya. Sehingga beberapa jenis bakteri yang bersimbiosis dengan spons diperkirakan dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan antibakteri (Lee *dkk*., 2001). Berdasarkan peranan ini maka bakteri yang bersimbiosis dengan spons diduga memiliki potensi yang besar

dalam menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang selama ini diisolasi dari spons mikroba yang terdapat pada spons sangat beragam dan tujuh filum telah berhasil diisolasi dari spons (Ginting *dkk*., 2010).

Identifikasi mikroorganisme dalam hal ini bakteri, dapat dilakukan melalui identifikasi fenotipik dan Genotipik. Metode Fenotipik dilakukan dengan melihat fisiologis dan biokimianya sedangkan Genotipik dilakukan dengan teknik berbasis sidik jari atau pola dan teknik berbasis sekuen atau urutan DNA. Kelemahan metode fenotipik terkait tingkat reprodusibilitasnya, pada metode fenotipik memberikan hasil yang berbeda-beda apabila diulang, sehingga dianggap kurang handal (reliable). Selain itu, metode fenotipik juga mengkarakteristik organisme berdasarkan produk ekspresi gen yang sangat sensitif terhadap berbagai macam kondisi lingkungan seperti suhu pertumbuhan, fase pertumbuhan dan mutasi spontan. Kelemahan metode fenotipik ini menjadi dasar pengembangan metode genotipik berbasis DNA menjadi lebih populer dan diterima secara luas karena bersifat reprodusibel, praktis, menunjukkan perbedaan antar spesies yang lebih kontras serta dapat membantu menghindari duplikasi strain (Tejesvi *dkk*., 2007).

Identifikasi bakteri secara molekuler berhubungan dengan penanda 16S rRNA. Teknik ini dilakukan dengan menganalisa struktur atau susunan basa RNA yang terdapat di daerah 16S rRNA (Rau *dkk*., 2018). Brock dan Madigan (2003), menyatakan bahwa 16S rRNA sangat mudah penanganannya dari pada 23S rRNA, maka 16S rRNA lebih sering digunakan untuk melihat perkembangan filogenetik prokariota dan beberapa pada eukariota. Sabdono (2001), menambahkan bahwa identifikasi dengan 16S rRNA merupakan teknik identifikasi yang dapat mengidentifikasi bakteri dari sampel lingkungan.

Penerapan filogenetik molekuler bakteri menunjukkan adanya diversitas prokariotik yang terjadi secara alami. Lebih dari 16.000 sekuen gen 16S rRNA dari berbagai spesies bakteri telah disimpan dalam GenBank. Gen16S rRNA mempunyai daerah sekuen yang dikonversi, sehingga dapat digunakan untuk menduga hubungan kekerabatan secara alami antar spesies yang mempunyai kekerabatan dekat dari berbagai daerah (Feliatra *dkk*., 2007). Menurut Nurwati dam Nawfa (2015), metode identifikasi dengan molekuler ini memiliki

keunggulan lain yaitu urutan basa nitrogen dari seluruh spesies bakteri telah ditemukan dan dapat dijadikan pedoman apabila ditemukan spesies baru.

Penelitian ini dimaksudkan untuk untuk mengidentifikasi DNA bakteri simbion spons yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri multi drug resistance (MDR) dengan penanda 16S rRNA.

1.2.Identifikasi Masalah

Adapun identifikasi masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Penggunaan antibiotik sintetik yang irrasional, tidak kontiniu, dan tanpa resep dokter dapat menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten bahkan Multi Drug Resistance (MDR)
2. Bakteri simbion spons memiliki senyawa metabolit sekunder berupa antibakteri
3. Pemanfaatan bakteri simbion spons yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri MDR
4. Identifikasi secara genotipik isolat bakteri simbion spons yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri MDR dengan penanda 16S rRNA

1.3.Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini yaitu :

Identifikasi bakteri simbon spons yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri multi drug resistance (MDR) dengan PCR menggunakan primer universal 16S rRNA.

1.4.Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Apa saja bakteri yang terdapat pada spons?
2. Bagaimana uji aktivitas antibakteri dari isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons terhadap bakteri MDR ?
3. Bagaimana sifat biokimia dari isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons yang potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR?

4. Bagaimana identifikasi secara molekuler isolat bakteri simbion spons yang potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR berdasarkan sekuen gen 16S rRNA ?

1.5.Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui bakteri apa saja yang terdapat pada spons
2. Mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons terhadap bakteri MDR
3. Mengetahui sifat biokimia dari isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons yang potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR
4. Mengetahui identifikasi secara molekuler dari isolat bakteri simbion spons yang potensial sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR berdasarkan sekuen gen 16S rRNA.

1.6. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu :

1. Sumber informasi bagi mahasiswa dan masyarakat bahwa bakteri simbion spons dapat menghasilkan senyawa antibakteri dapat memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri muti drug resistance (MDR)
2. Sebagai sumber informasi bagi mahasiswa yang ingin melakukan penelitian lebih jauh mengenai identifikasi DNA bakteri simbion spons Spons yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri multi drug resistance (MDR) dengan penanda 16S rRNA.
3. Untuk dijadikan sebagai acuan penelitian selanjutnya