



Aktivitas Antimikroba dari Sekresi Kulit Katak *Rana hosii* (Anura:Ranidae) terhadap beberapa mikroba patogen

Antimicrobial Activity of Skin Secretion of *Rana hosii* Frog (Anura: Ranidae) against several pathogenic microbes

Feskaharny Alamsjah ^{1)*}, Djong Hon Tjong ¹⁾, dan Zil Fadhillah Rahma ¹⁾

1. Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis Padang – 25163

SUBMISSION TRACK

Submitted : 2020-11-29
Revised : 2020-12-27
Accepted : 2021-01-09
Published : 2021-01-09

KEYWORDS

Antimikroba,
spektrum luas,
sekresi kulit katak,
Zona Hambat,
Rana hosii

*)CORRESPONDENCE

email: feskha@yahoo.com

ABSTRACT

The research on antimicrobial activity of skin secretion derived from *Rana hosii* (Anura: Ranidae) against several pathogenic microbes had been conducted at Microbiology Laboratory and at Genetics and Biomolecular Laboratory, both in the Biology Department, Universitas Andalas. The research used to survey and experimental methods. The study aimed to determine the effectivity of *Rana hosii* skin secretion to inhibit microbial activity, hence it tested onto some pathogenic microbes such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. The results showed that the biggest inhibition zone formed against *E. coli* was $10.96 + 0.63$ mm, on *S. aureus* was $11.74 + 1.00$ mm, while on *C. albicans* was $7.42 + 0.80$ mm. The results indicated that the skin secretions from *Rana hosii* frog could be a potential broad-spectrum antibacterial, and antifungal activity against *C. albicans*.

PENDAHULUAN

Setiap makhluk hidup saling berinteraksi satu sama lain, termasuk manusia dengan mikroorganisme. Interaksi tersebut bisa merugikan manusia, diantaranya menimbulkan penyakit. Penyakit yang disebabkan oleh mikroba mengakibatkan ketergantungan manusia terhadap antimikroba, terutama antimikroba sintetis. Pemakaian antimikroba sintetis dapat menimbulkan efek resistensi antimikroba. Resistensi antimikroba dari bakteri dan jamur adalah masalah serius bagi kesehatan masyarakat secara global (Yenny dan Elly, 2007). Resistensi antimikroba menyebabkan banyak terjadi kegagalan dalam pengobatan yang berujung pada kematian.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2014) melaporkan angka kematian akibat resistensi antimikroba sampai tahun 2014 sebesar 700.000 per tahun. Dengan semakin cepatnya perkembangan dan penyebaran infeksi bakteri, diperkirakan pada tahun 2050, kematian akibat resistensi antimikroba lebih besar dibanding kematian yang diakibatkan oleh

kanker, yakni mencapai 10 juta jiwa. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mencari alternatif sumber antibiotik baru dalam upaya mengatasi resistensi antibiotik. Salah satunya adalah *Antimicrobial Peptide* (AMP). AMP adalah senyawa alami yang diproduksi oleh makhluk hidup yang berfungsi sebagai pertahanan diri terhadap mikroba (Pietäinen, 2010). Salah satu sumber AMP adalah sekresi kulit katak.

Massora *et al.* (2018) melaporkan bahwa sekresi kulit *Rana* sp. yang berasal dari Papua menghasilkan senyawa antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* (bakteri Gram positif) serta *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (bakteri Gram negatif). Chen *et al.* (2018) melaporkan sekresi kulit *Hylarana guentheri* menghasilkan senyawa peptida Brevinin-1GHa. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus*. Selain itu Brevinin-1GHa juga memiliki kemampuan menyerap selaput sel dan menghilangkan biofilm *S. aureus*, *E. coli* dan *Candida albicans*.

Informasi mengenai potensi kulit katak *Rana hosii* sebagai antimikroba belum banyak dilakukan. Oleh sebab itu maka dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi sekresi kulit katak *R. hosii* sebagai sumber AMP sebagai salah satu alternatif antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi sekresi kulit katak *R. hosii* untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli*, *S. aureus* dan jamur patogen *C. albicans*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode survei dan eksperimen. Pengoleksian sampel katak dengan metode survei dan koleksi langsung di lapangan. Karakteristik fisik sampel katak diukur sebelum pengeluaran sekresi kulit katak, yaitu *Snout Vent Length* (SVL) dan berat badan (Suh yana, 2015). Pengukuran SVL dilakukan untuk menstandarisasi ukuran katak. Pengeluaran sekresi kulit katak dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Grant dan Land (2002). Pengeluaran sekresi kulit katak dirangsang dengan alat kejut listrik. Tegangan yang digunakan berdasarkan panjang tubuh katak. Katak dengan panjang tubuh < dari 20 mm digunakan tegangan < 2V, sedangkan katak dengan panjang tubuh > 10 mm digunakan tegangan < 10V. Setelah katak dikejut katak akan mengeluarkan sekret dan sekret tersebut langsung dikumpulkan dengan spatula dan disimpan dalam *microtube*. Sekret kulit katak kemudian dilarutkan dengan pelarut dimetilsulfoksida (DMSO) 0,5%. Perbandingan sekret dengan pelarut dibuat dengan 3 taraf perbandingan yaitu sekret : DMSO (1:3), sekret : DMSO (1:1) dan sekret : DMSO (3:1). Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan metoda difusi (Afsar *et al.*, 2011). Mikroba uji yang digunakan adalah *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*. Mikroba uji disuspensikan pada larutan NaCl 0.85% steril hingga mencapai kekeruhan setara dengan standar McFarland no. 0.5. Inokulum bakteri diinokulasikan ke dalam cawan Petri yang berisi medium Mueller Hinton Agar. Inokulum jamur diinokulasikan ke dalam cawan Petri yang berisi medium Saboroud Dextrose

Agar secara spread plate. 30 μ l larutan sampel masing-masing konsentrasi tersebut diatas ditetaskan pada kertas cakram Whatman No. 42 lalu kertas cakram tersebut diletakkan pada permukaan medium yang telah diinokulasi dengan isolat mikroba menggunakan pinset steril. Media tersebut diinkubasi pada suhu 27° C selama 24 jam untuk bakteri dan 48 jam untuk jamur. Zona hambat pertumbuhan bakteri dan jamur disekitar kertas cakram diukur. Kontrol positif untuk uji antibakteri digunakan 30 μ l kloramfenikol konsentrasi 0,3 mg/ml, untuk jamur digunakan ketoconazole 2 %. Kontrol negatif adalah DMSO 0,5%. Data yang didapatkan dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai potensi antimikroba dari sekresi kulit katak *Rana hosii* terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans* disajikan pada Gambar 1, 2 dan 3.

Berdasarkan hasil yang terlihat pada Gambar 1, 2 dan 3 menunjukkan adanya zona hambat dari sekresi kulit katak *R. hosii* terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*. Zona hambat yang terbentuk diduga karena sekret kulit *R. hosii* mengandung senyawa peptida yang berpotensi sebagai antimikroba. Berdasarkan data base Uniprot, salah satu kandungan senyawa peptida pada sekret kulit *R. hosii* adalah senyawa Brevinin-1Hsa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif *S. aureus* dan bakteri Gram negatif *E. coli*, dan dari 8 jenis *Antimicrobial Peptide* (AMP), hanya 2 jenis AMP yang telah terdeteksi fungsinya, yaitu Brevinin-1Hsa dan Brevinin-1JDC.

Berdasarkan hasil penelitian Conlon *et al.* (2008), AMP dari sekret kulit *R. hosii* terdiri dari esculentin-1 (1 peptida), esculentin-2 (1 peptida), brevinin-1 (2 peptida), brevinin-2 (2 peptida), and nigrocin-2 (2 peptida). AMP memiliki kemampuan toksisitas selektif terhadap mikroba, yaitu dengan mengidentifikasi molekul penentu dari mikroba patogen. AMP memiliki keistimewaan amphipatic (molekul yang mempunyai kedua kutub, polar dan nonpolar) yaitu "*mirror phospholipids*", yang membuat

AMP bisa berinteraksi dengan mikroba dan mengeksploitasi sifat kerentanan dari struktur esensial dari mikroba seperti membran sel (Yeaman, 2003).

AMP memiliki kemampuan “*rapid killing*” yaitu kemampuan membunuh yang cepat terhadap mikroba. AMP mampu membunuh mikroba dalam beberapa detik setelah kontak awal dengan membran sel mikroba (Loeffle *et al.*, 2001). Kemampuan AMP untuk menghambat dan membunuh mikroba tergantung pada kemampuannya untuk berinteraksi dengan membran sel atau dinding sel mikroba (Zhang dan Richard, 2016). AMP biasanya bermuatan positif dan hidrofobik yang memungkinkan untuk berinteraksi dengan muatan negatif pada permukaan membran sel bakteri. Selanjutnya, peptida menyisip dan membentuk pori yang berakibat pada kerusakan membran dan kematian sel mikroba (Bechinger dan Gorr, 2016).

Hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk hasil uji sekret kulit katak *R. hosi* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 memperlihatkan bahwa sekresi kulit katak *Rana hosi* berpotensi sebagai antimikroba. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat terhadap pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*. Zona hambat yang terbesar untuk *E. coli* adalah $10,96 \pm 0,63$ mm, untuk *S. aureus* adalah $11,74 \pm 1,00$ mm dan untuk *C. albicans* adalah $7,42 \pm 0,80$ mm. Zona hambat terbesar tersebut diperoleh dari perbandingan sekret : pelarut 1:3. Zona hambat yang terkecil untuk *E. coli*, *S. aureus* berturut-turut adalah $8,19 \pm 1,17$ mm dan $9,48 \pm 0,42$ yang diperoleh dari perbandingan sekret : pelarut 1:1. Apabila dibandingkan dengan kontrol positif, zona hambat yang terbentuk oleh sekret kulit katak *R. hosi* lebih kecil.

Dari hasil yang didapatkan terlihat bahwa semakin tinggi perbandingan sekret dengan pelarut tidak diperoleh zona hambat yang lebih tinggi. Hal ini diduga karena perbedaan efektivitas konsentrasi sekret dan kecepatan difusi sekret. Elifah (2010) menyatakan bahwa diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri, kemungkinan ini terjadi karena

perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan diameter zona hambat yang berbeda.

Berdasarkan hasil penelitian, perbandingan sekret dan pelarut yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans* adalah 1:3. Besarnya zona hambat pada perbandingan tersebut karena tingginya volume DMSO sebagai pelarut. DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar (bersifat aprotik). DMSO tidak bersifat bakterisidal, yaitu tidak memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan mikroba, sehingga dapat dipastikan zona hambat yang terbentuk benar-benar disebabkan oleh sekret kulit katak (Nonci *et al.*, 2014). Hal ini dikuatkan dengan tidak terbentuknya zona hambat pada kontrol negatif.

Sekret kulit katak *R. hosi* memiliki aktivitas antimikroba berspektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (*E. coli*) dan bakteri Gram positif (*S. aureus*). Menurut Sukandar *et al.* (2011), antimikroba yang memiliki daya hambat berspektrum luas adalah antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif maupun bakteri Gram positif.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa sekresi kulit katak *Rana hosi* memiliki potensi sebagai antibakteri yang berspektrum luas, dengan zona hambat terbesar 11,74 mm terhadap *E. coli* yang diperoleh dari perbandingan sekret : pelarut 1:3 dan memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans*.

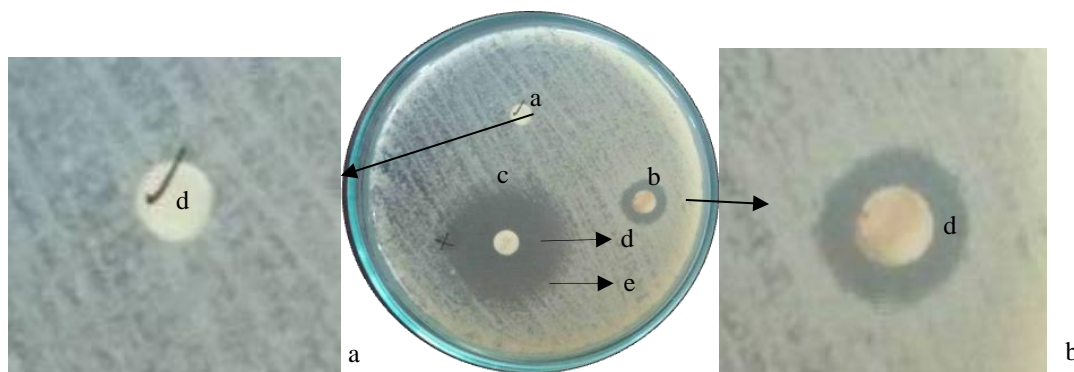
UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada seluruh tim dari Laboratorium Mikrobiologi serta Laboratorium Genetika dan Molekuler,

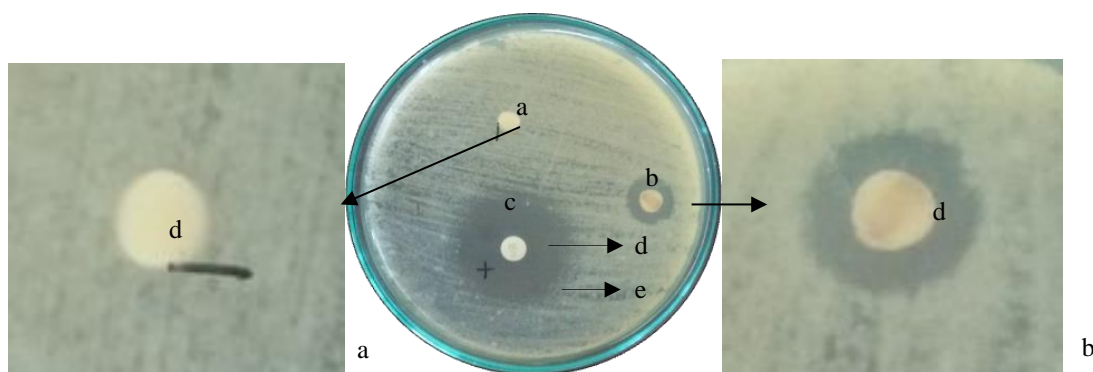
Jurusan Biologi, Universitas Andalas yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

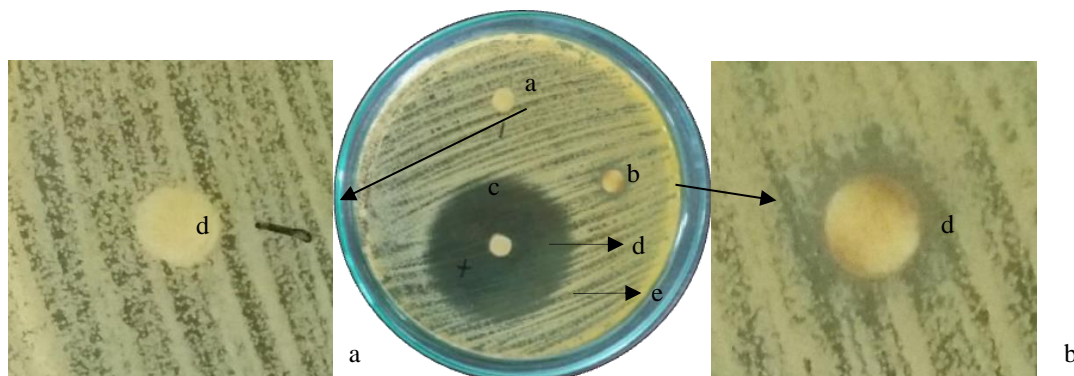
- Afsar, B., M. Afsar, K. Falyoncu. 2011. Antimicrobial activity in the skin secretion of brown frog, *Rana macrocnemis* (Boulenger, 1885) collected from Turkey. *Scientific Research and Essays*. Vol.6:1001-1004.
- Bechinger, B. dan S.U. Gorr. 2016. Antimicrobial Peptides: Mechanisms of Action and Resistance. *Journal of Dental Reseaurch*. 1-7.
- Chen, Q., P. Cheng., C.Ma., X. Xi., L. Wang., M. Zhou., H. Bia dan T. Chen. 2018. Evaluating the Bioactivity of a Novel Broad-Spectrum Antimicrobial Peptide Brevinin-1GHa from the Frog Skin Secretion of *Hylarana guentheri* and Its Analogues. *Toxins*. Vol.10:1-16.
- Conlon, J.M dan A. Sonnevend. 2011. Clinical Application of Amphibian Antimicrobial Peptides. *Journal of Medical Sciences*. Vol.4:62-72.
- Departemen Kesehatan Indonesia. 2014. Mari Bersama Atasi Resistensi Animikroba (AMR). www.depkes.go.id. Diakses pada 13 Agustus 2018.
- Elifah, E. 2010. *Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (Melastoma candidum, D.Don) terhadap Escherichia coli dan Bacillus subtilis serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya*. [Skripsi]. Surakarta. Universitas Sebelas Maret.
- Grant, J.B dan B. Land. 2002. Transcutaneous Amphibian Stimulator (TAS) : A Device for the Collection of Amphibian Skin Secretions. *Herpetological Review*. Vol.33:38-41.
- Loeffler, J.M.,D. Nelson.,dan V.A. Fischetti. 2001. Rapid killing of *Streptococcus pneumoniae* with a bacteriophage cell wall hydrolase. *Science*. Vol.294:2170–2172.
- Massora, M., E.I.J.J. Kawulur., H. Abubakar. 2018. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri Katak Papua *Jurnal Veteriner*. Vol.19:55-61.
- Nonci, F.Y., Rusli dan A. Atqiyah. 2014. Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) dengan Menggunakan Metode Klt Bioautografi. *JF FIK UINAM*. 2:144-148.
- Oktavina, M.A. 2015. Pola Protein Sekret Kelenjar Parotoid Tiga Spesies Kodok dan Sekret Kelenjar Kulit Katak Kongkang Racun (*Odorrana hosii* Boulenger,1891) Melalui SDS-PAGE. [Skripsi]. Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada.
- Pietiäinen, M. 2010. Stress Responses of Gram Positive Bacteria to Cationic Antimicrobial Peptides. *Academicissertation*. University of Helsinki, Finland.
- Pietiäinen, M. 2010. Stress Responses of Gram Positive Bacteria to Cationic Antimicrobial Peptides. *Academic Dissertation*. University of Helsinki, Finland.
- Suhyana, J. 2015. Analisis Filogenetik Spesies dan Bioaktivitas Sekresi Kulit Katak terhadap *Streptococcus pneumoniae*. Tesis Institut Pertanian Bogor
- Sukandar, D., N. Radiastuti, I. Jayanegara dan R. Ningtyas. 2011. Karakteristik Senyawa Antibakteri ekstrak Air Daun Kecombrang (*Etlingera elatior*). *Valensi*. Vol.2:424-419.
- Yeaman, M.R. dan N.Y. Yount. 2003. Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance. *Pharmacol Rev*. Vol.55:27–55.
- Yenny dan Elly H. 2007. Resistensi dari bakteri enteric : aspek global terhadap antimikroba. *Universa Medicina* Vol.26:46-56.
- Zhang, L-j dan R.L. Gallo. 2016. Antimicrobial Peptides. *Current Biology*. Vol.26:1-21.



Gambar 1. Zona hambat yang terbentuk hasil uji sekret kulit *R. hosii* terhadap *E. coli*
 Keterangan : a. kontrol negatif, b. zona hambat sekret, c. kontrol positif, d. kertas cakram, e. zona hambat



Gambar 2. Zona hambat yang terbentuk hasil uji sekret kulit katak *R. hosii* terhadap *S. aureus*
 Keterangan : a. kontrol negatif, b. zona hambat sekret, c. kontrol positif, d. kertas cakram, e. zona hambat



Gambar 3. Zona hambat yang terbentuk hasil uji sekret kulit katak *R. hosii* terhadap *C. albicans*
 Keterangan : a. kontrol negatif, b. zona hambat sekret, c. kontrol positif, d. kertas cakram, e. zona hambat

Tabel 1. Zona hambat dari sekresi kulit katak *R. hosii* terhadap *E. coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*

No	Sekret : pelarut (DMSO 0,5 %)	N	Rata-rata diameter zona hambat (mm)		
			<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
1	25 % Sekret + 75 % DMSO (1 : 3)	3	10,96 ± 0,63	11,74 ± 1,00	7,42 ± 0,80
2	50% Sekret + 50% DMSO (1 : 1)	3	8,19 ± 1,17	9,48 ± 0,19	7,26 ± 0,85
3	75% Sekret + 25% DMSO (3 : 1)	3	10,47 ± 0,57	9,96 ± 0,42	7,02 ± 0,33
4	Kontrol positif bakteri (kloramfenikol)	3	25,59 ± 0,50	21,88 ± 2,09	
5	Kontrol positif jamur (ketokonazol)	3			34,86 ± 1,13
6	Kontrol negatif	3	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Keterangan :

n : jumlah ulangan