

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI IVERMECTIN
TERHADAP *Staphylococcus aureus*
MENGUNAKAN MODEL INFEKSI
*Drosophila melanogaster***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF IVERMECTIN
AGAINST *Staphylococcus aureus* USING
Drosophila melanogaster INFECTION MODEL**

**ANDI SITI FAHRIZA MAHARDHIKA
N011 19 1104**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI IVERMECTIN
TERHADAP *Staphylococcus aureus*
MENGUNAKAN MODEL INFEKSI
*Drosophila melanogaster***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF IVERMECTIN
AGAINST *Staphylococcus aureus* USING
Drosophila melanogaster INFECTION MODEL**

**ANDI SITI FAHRIZA MAHARDHIKA
N011 19 1104**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI IVERMECTIN TERHADAP
Staphylococcus aureus MENGGUNAKAN MODEL INFEKSI
*Drosophila melanogaster***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF IVERMECTIN AGAINST
Staphylococcus aureus USING *Drrosophila melanogaster* INFECTION
MODEL**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

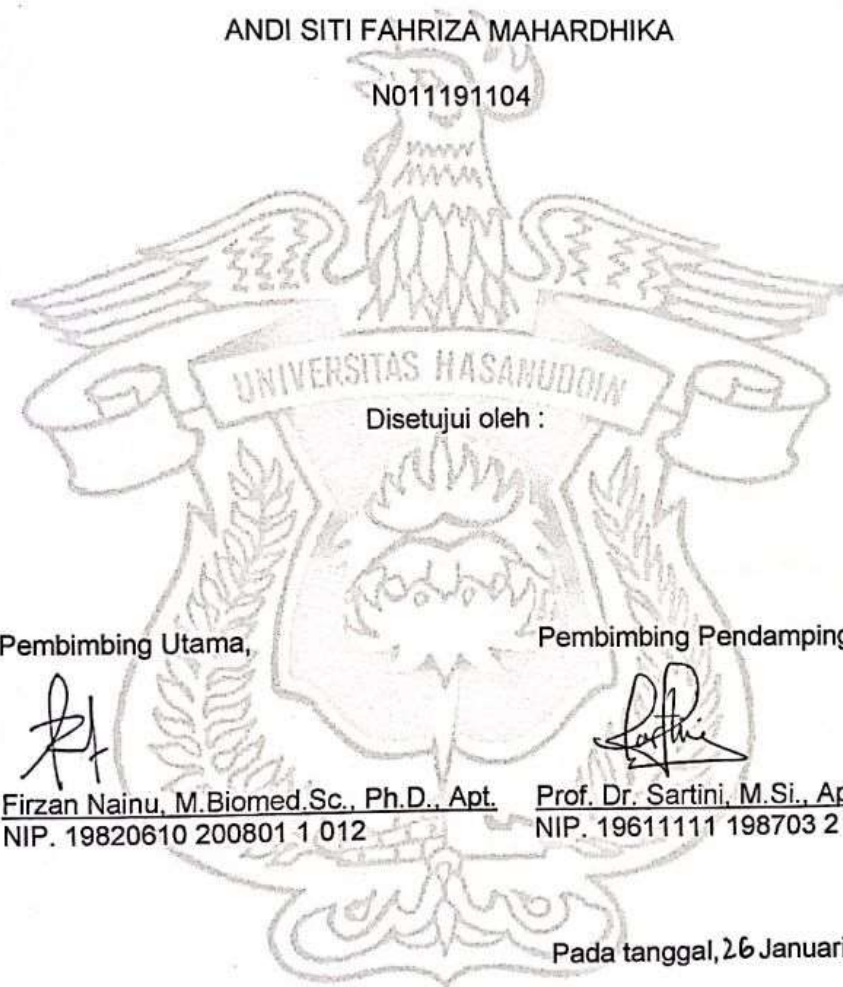
**ANDI SITI FAHRIZA MAHARDHIKA
N011191104**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI IVERMECTIN TERHADAP
Staphylococcus aureus MENGGUNAKAN MODEL INFEKSI
Drosophila melanogaster

ANDI SITI FAHRIZA MAHARDHIKA

N011191104



Pembimbing Utama,

Firzan Nainu, M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 19611111 198703 2 001

Pada tanggal, 26 Januari 2023

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI IVERMECTIN TERHADAP
Staphylococcus aureus MENGGUNAKAN MODEL INFEKSI
*Drosophila melanogaster***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF IVERMECTIN AGAINST
Staphylococcus aureus USING *Drosophila melanogaster* INFECTION
MODEL**

Disusun dan diajukan oleh :

**ANDI SITI FAHRIZA MAHARDHIKA
N011 19 1104**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 26 Januari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Firzan Nainu, M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 19611111 198703 2 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Andi Siti Fahriza Mahardhika

NIM : N011191104

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Uji Aktivitas Antibakteri Ivermectin Terhadap *Staphylococcus aureus* Menggunakan Model Infeksi *Drosophila melanogaster*" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 26 Januari 2022

Yang Menyatakan



Andi Siti Fahriza Mahardhika

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Dalam pembuatan skripsi penulis tidak terlepas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis akan menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan serta saran dan telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. dan Bapak Aminullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku dosen penasehat akademik atas segala arahan dan nasehat yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan.
5. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, bantuan, dan fasilitas yang diberikan

kepada penulis selama menempuh studi hingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

6. Keluarga penulis, terima kasih mamah, ayah, abang dan adek penulis atas dukungan dan kasih sayang selama ini baik secara moril maupun materil kepada penulis dalam mencapai kesuksesannya.
7. Teman-teman UFRG, terutama Rizkya, Mufliha, Tami, Ansal, Jonathan, Akram, Kak Try dan kak Asbah yang selalu memberikan ilmu dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Teman-teman Korps Asisten Mikrobiologi, Finsyani, Venturini, Mufliha, Nadiyyah, Susan, Zacky, Pumah, Elvyna, Yusril dan Ainun yang telah mendengarkan seluruh keluh kesah penulis dan menyemangati penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini
9. Teman-teman Quman, Venturini, Nona, Icha, Mufliha, Shabrina, Kania, Rizkya, Muta, Tami, Fitriani dan Mutiara yang selalu memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis dalam menyusun skripsi ini.
10. Semua pihak yang telah membantu namun tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.
11. *Last but not least, thanks to myself for always believing in me and doing all the hard work and never give up. I know there are so many times that I feel so weak but I chose to fight. Look where I am, keep moving, and still fighting. Someday, I'm gonna look back at these days and will be so proud of myself.*

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu farmasi.

Makassar, 26 Januari 2023

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Andi Siti Fahriza Mahardhika', written in a cursive style.

Andi Siti Fahriza Mahardhika

ABSTRAK

ANDI SITI FAHRIZA MAHARDHIKA. *Uji Aktivitas Antibakteri Ivermectin Terhadap Staphylococcus aureus Menggunakan Model Infeksi Drosophila melanogaster* (dibimbing oleh Firzan Nainu dan Sartini)

Antibiotik merupakan salah satu penemuan terbesar dalam sejarah medis. Namun penggunaan antibiotik yang tidak sesuai menyebabkan munculnya beberapa isolat klinis yang telah resisten terhadap antibiotik, salah satunya yaitu *Staphylococcus aureus*. Peningkatan resistensi antibiotik menyebabkan berkembangnya riset mengenai pengujian aktivitas antibakteri dari obat-obatan yang telah beredar di pasaran, namun belum diketahui aktivitas antibakterinya. Salah satunya yaitu ivermectin dilaporkan yang dilaporkan memiliki zona bening pada konsentrasi 6,25 µg/mL dan 12,5 µg/mL terhadap isolat klinis MSSA dan MRSA.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ivermectin sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* menggunakan model infeksi *Drosophila melanogaster* melalui ekspresi gen peptida antimikroba *drosomycin*.

Pada penelitian ini diawali dengan melakukan uji toksisitas ivermectin terhadap larva. Kemudian dilanjutkan pada pengujian aktivitas antibakteri ivermectin terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan 5 kelompok uji yang terdiri atas kontrol tanpa perlakuan, kontrol infeksi, dan perlakuan ivermectin dengan konsentrasi $3,2 \times 10^{-2}$ ppm, $12,8 \times 10^{-4}$ ppm dan $5,12 \times 10^{-6}$ ppm. Kemudian dilanjutkan dengan analisis ekspresi gen *drosomycin* menggunakan metode RT-qPCR.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, pemberian ivermectin setelah larva diinfeksi oleh *S. aureus* memiliki masa hidup yang lebih lama dibanding kontrol infeksi *S. aureus* tanpa perlakuan. Namun, hasil ini tidak sejalan dengan ekspresi gen *drs*. Berdasarkan hasil analisis ekspresi gen, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ekspresi gen *drs* pada kontrol infeksi *S. aureus* terhadap kelompok ivermectin dengan konsentrasi $3,2 \times 10^{-2}$ ppm dan $5,12 \times 10^{-6}$ ppm. Namun pada konsentrasi $12,8 \times 10^{-4}$ ppm diperoleh jumlah ekspresi *drs* yang berbeda secara signifikan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kemungkinan ivermectin memiliki aktivitas antibakteri.

Kata Kunci : Antibakteri, *Drosophila melanogaster*, *drs*, Ivermectin

ABSTRACT

ANDI SITI FAHRIZA MAHARDHIKA. *Antibacterial Activity Test of Ivermectin Against Staphylococcus aureus Using Drosophila Infection Model* (Supervised by Firzan Nainu and Sartini)

Antibiotics are one of the greatest discoveries in medical history. However, the inappropriate use of antibiotics led to the emergence of several clinical isolates that were resistant to antibiotics, one of which was *Staphylococcus aureus*. The increase in antibiotic resistance has led to the development of research on testing the antibacterial activity of drugs that are already on the market, but their antibacterial activity is not yet known. One of them was ivermectin which was reported to have a clear zone at a concentration of 6.25 µg/mL and 12.5 µg/mL against MSSA and MRSA clinical isolates. This study was initiated by conducting an ivermectin toxicity test on larvae.

This study aims to determine the effect of ivermectin as an antibacterial against *S. aureus* using the *Drosophila melanogaster* infection model through the expression of the *drosomycin* antimicrobial peptide gene.

This study was initiated by conducting an ivermectin toxicity test on larvae. Then proceed to testing the activity of ivermectin antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* using 5 test groups consisting of untreated control, infection control, and ivermectin treatment with concentrations of $3,2 \times 10^{-2}$ ppm, $12,8 \times 10^{-4}$ ppm and $51,2 \times 10^{-6}$ ppm. Then proceed with the analysis of *drosomycin* gene expression using the RT-qPCR method.

Based on the results obtained, administration of ivermectin after larvae were infected with *S. aureus* had a longer life span than control *S. aureus* infection without treatment. However, these results are not in line with the expression of the *drs* gene in *S. aureus* infection control and the ivermectin group at concentrations $3,2 \times 10^{-2}$ ppm and $51,2 \times 10^{-6}$ ppm. However, at a concentration of $12,8 \times 10^{-4}$ ppm, a significantly different amount of *drs* expression was obtained. So it can be concluded that it is possible that ivermectin has antibacterial activity.

Keywords: Antibacterial, *Drosophila melanogaster*, *drs*, Ivermectin.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Rumusan Masalah	2
I.3. Tujuan Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1. Antibiotik	3
II.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	8
II.3. Ivermectin	11
II.4. <i>Drosophila melanogaster</i>	12
II.5. Gen <i>Drosomycin</i>	14
II.6. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	15
II.7. Data Ekspresi Gen <i>Drosomycin</i>	16

BAB III METODE PENELITIAN	17
III.1. Alat dan Bahan	17
III.2. Metode Kerja	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
IV.1. Uji Toksisitas Ivermectin	23
IV.2. Uji Survival Larva Pasca Infeksi	24
IV.3. Analisis Ekspresi Gen <i>Drosomycin</i>	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	29
V.1. Kesimpulan	29
V.2. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Sekuens primer masing-masing gen	22
2. Hasil <i>one-way anova</i> ekspresi gen <i>drs</i>	37
3. Hasil uji lanjutan <i>dunnet</i> ekspresi gen <i>drs</i>	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Mekanisme utama resistensi	5
2. Koloni bakteri <i>S. aureus</i>	8
3. Infeksi sistemik <i>S. aureus</i>	10
4. Struktur molekul ivermectin	11
5. Hewan uji <i>D. melanogaster</i>	12
6. Siklus hidup <i>D. melanogaster</i>	13
7. Jalur Toll <i>D. melanogaster</i>	15
8. Ekspresi gen <i>drs</i>	16
9. Jumlah larva yang menjadi pupa (A) dan jumlah pupa menjadi lalat (B)	24
10. Grafik interval keberlangsungan hidup larva	25
11. Terjadi proses melanisasi pada larva (A) dan kematian larva akibat melanin berlebih (B)	26
12. Perbandingan ekspresi gen <i>drs</i> kontrol tanpa perlakuan dan kontrol infeksi <i>S. aureus</i>	26
13. Perbandingan ekspresi gen kontrol infeksi tanpa perlakuan dan kelompok infeksi dengan pemberian ivermectin	27
14. Pembuatan suspensi biakan	38
15. Pembuatan pakan <i>D. melanogaster</i>	38
16. Pengujian toksisitas	38

17. Isolasi RNA	38
18. Sampel yang telah diisolasi	38
19. Pengujian PCR	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Preparasi Sampel	33
2. Penyiapan Hewan Uji	33
3. Pembuatan Pakan	33
4. Pengujian Toksisitas	34
5. Penyiapan pakan pengujian	34
6. Pengujian model infeksi	35
7. Pengujian survival pascainfeksi	35
8. Penyiapan sampel RNA	36
9. Analisis Ekspresi Gen	36
10. Data Statistik	37
11. Gambar Penelitian	38

DAFTAR SINGKATAN

AMP (*Antimicrobial peptides*)

D. melanogaster (*Drosophila melanogaster*)

Drs (Drosomycin)

Rp49 (Ribosome protein 49)

RT-qPCR (Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain
Reaction)

S. aureus (*Staphylococcus aureus*)

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Antibiotik merupakan salah satu terobosan medis terbesar dalam sejarah. Namun, penggunaan antibiotik yang irasional dan tidak tepat telah menyebabkan munculnya berbagai patogen yang resisten terhadap antibiotik (Chawla *et al.*, 2022). Saat ini, banyak isolat klinis *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap beberapa antibiotik, salah satunya terhadap metisilin (Ashraf *et al.*, 2018). Diperkirakan pada tahun 2050 dapat terjadi 10 juta kematian akibat resistensi antimikroba, sehingga World Health Organization memasukkan *S. aureus* ke dalam daftar mikroorganisme yang segera membutuhkan antibiotik baru (WHO, 2014; WHO, 2017).

Peningkatan resistensi antibiotik menyebabkan berkembangnya riset mengenai pengujian aktivitas antibakteri dari obat-obatan yang telah beredar di pasaran namun belum diketahui aktivitas antibakterinya, misalnya dari kelas anthelmintik. Ivermectin merupakan obat anthelmintik golongan lakton makrosiklik yang menunjukkan aktivitas *anti-staphylococcal* yang kuat. Hal ini dibuktikan terhadap isolat MSSA dan MRSA masing-masing dengan nilai konsentrasi hambat minimum yaitu 6,25 µg/mL dan 12,5 µg/mL (Ashraf *et al.*, 2018). Dengan demikian, ivermectin dapat dilanjutkan ke pengujian *in vivo*.

Salah satu organisme model yang dapat digunakan dalam pengujian *in vivo* aktivitas antibakteri yaitu *Drosophila melanogaster*. Penelitian yang dilakukan oleh Nainu *et al.*, (2018) menunjukkan keberhasilan dalam menggunakan *D. melanogaster* sebagai organisme model infeksi untuk menguji efektivitas antibakteri dari ekstrak *Ulva reticulata*.

Lalat buah (*Drosophila melanogaster*) memiliki banyak keuntungan sebagai organisme model karena pemeliharaan yang mudah, ekonomis, siklus hidup yang relatif singkat, dan memiliki kemiripan genetik sekitar 75% dengan manusia (Nainu *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian di atas, *D. melanogaster* memiliki keuntungan sebagai organisme model pada pengujian *in vivo* dalam penemuan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri. Sehingga, perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai aktivitas antibakteri dari obat yang telah beredar di pasaran namun dengan indikasi lain, yaitu ivermectin menggunakan model infeksi *D. melanogaster*.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah ivermectin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* secara *in vivo*?

I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ivermectin terhadap *S. aureus* secara *in vivo*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Antibiotik

Istilah antibiotik berasal dari kata “antibiosis” yang secara harfiah berarti “melawan kehidupan”. Antibiotik merupakan zat organik yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang bersifat racun bagi mikroorganisme lainnya (Etebu, 2016). Istilah antibiotik dan antimikroba sering digunakan secara bergantian, tetapi kedua istilah tersebut tidak identik. Antibiotik merupakan zat yang diperoleh dari suatu mikroba, sedangkan antimikroba merupakan zat apapun (termasuk sintesis) yang dapat membunuh mikroba (Dugassa dan Shukuri, 2017).

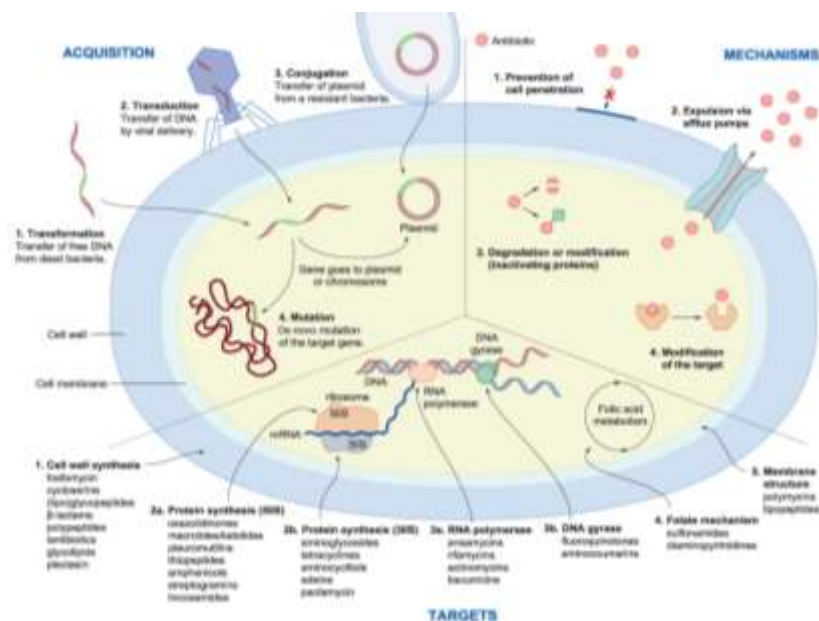
Antibiotik digunakan untuk mengobati dan atau mencegah penyakit pada manusia dan hewan. Penggunaan antibiotik yang sesuai memberikan penurunan kematian akibat infeksi bakteri mulai dari infeksi kulit sederhana hingga infeksi aliran darah, paru-paru, serta otak begitu besar sehingga nyawa manusia dan hewan dapat terselamatkan (Dugassa dan Shukuri, 2017).

II.1.1 Resistensi Antibiotik

Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai menyebabkan beberapa patogen telah resisten terhadap antibiotik. Resistensi antibiotik didefinisikan sebagai meningkatnya kemampuan mikroorganisme dalam menetralkan

kerja antibiotik sehingga agen antibiotik kehilangan efisiensinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Nadeem *et al.*, 2020).

Agen antimikroba mengerahkan efeknya dengan mengganggu jalur tertentu sehingga membunuh atau menghambat pertumbuhan dari mikroorganisme yang ditargetkan. Oleh karena itu, mekanisme resistensi sangat bergantung pada jalur spesifik mana yang dihambat oleh obat dan jalur alternatif yang tersedia bagi mikroorganisme untuk mendapatkan jalan keluar dalam bertahan hidup (Fomnya, 2021). Mikroorganismenya yang resisten akan menunjukkan sensitivitas yang berkurang secara signifikan bila dibandingkan dengan isolat asli atau sekelompok strain sensitif. Resistensi dapat dihasilkan melalui mutasi pada struktural gen ataupun akuisisi informasi genetik asing secara horizontal (Dugassa dan Shukuri, 2017).



Gambar 1. Mekanisme utama resistensi antibiotik (Chellat *et al.*, 2016)

II.1.2 Mekanisme Resistensi

Salah satu mekanisme resistensi yaitu inaktivasi enzim. Sel dapat mengalami resistensi terhadap antibiotik dengan menghasilkan enzim yang menyebabkan obat menjadi tidak aktif, atau dapat menurunkan fungsi dari agen antibiotik tersebut. Contoh pada kasus ini yaitu enzim β -laktamase yang mampu memecahkan cincin β -laktam dari antibiotik β -laktam seperti penisilin. Dengan demikian, kerusakan pada cincin β -laktam dapat menghentikan kemampuan antibiotik menempel pada prekursor peptidoglikan. Sehingga, penisilin ataupun antibiotik serupa lainnya mengalami penurunan fungsi dalam mengganggu integritas dinding sel, selama mikroorganisme tersebut menghasilkan enzim β -laktamase. Metode resistensi ini dapat ditransfer dari satu bakteri ke bakteri lain melalui produksi R-plasmid, dan umum terjadi pada isolat *S. aureus* yang telah resisten terhadap metisilin (Dugassa dan Shukuri, 2017).

Penurunan permeabilitas membran dapat mencegah masuknya obat ke dalam sel. Bakteri gram negatif memiliki membran sel luar, sehingga obat-obatan harus melewati pori-pori sel, yaitu saluran yang menjangkau membran luar dan memungkinkan masuk dan keluarnya bahan ke dalam atau keluar sel. Dengan demikian, suatu antibiotik perlu melewati pori-pori tersebut agar dapat masuk ke dalam sel bakteri. Namun, mutasi gen dapat mengakibatkan pori-pori berubah. Hal ini dapat terjadi akibat perubahan muatan listrik atau struktur fisik yang dapat mempersulit antibiotik

memasuki sel. Antibiotik masih aktif secara fungsional, namun gagal untuk mencapai target kerjanya (Dugassa dan Shukuri, 2017).

Resistensi terhadap obat golongan β -laktam kemungkinan terkait dengan ketidakmampuan antibiotik untuk mencapai tempat kerja akibat terhambatnya proses difusi molekul antibiotik ke dalam dinding sel bakteri. Beberapa antibiotik hidrofilik kecil seperti β -laktam berdifusi melalui saluran berair di membran luar yang dibentuk oleh protein (Omp) yang disebut porin. Namun, dapat terjadi perubahan dalam jumlah, bentuk dan kualitas porin pada membran luar sehingga menyebabkan terjadinya resistensi (Aurilio *et al.*, 2022).

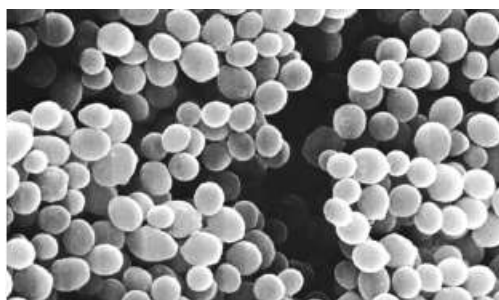
Selain itu, ekspresi berlebih pada pompa efflux juga merupakan salah satu mekanisme resistensi. Pompa efflux berfungsi untuk mengeluarkan molekul antibiotik dari dalam sel bakteri sebelum dapat bekerja sehingga antibiotik tidak dapat memberikan efek farmakologi. Pompa ini melintasi membran dalam dan luar bakteri yang terdiri dari minimal tiga protein dan diberi energi oleh gaya gerak proton (Aurilio *et al.* 2022).

Setiap antibiotik memiliki target spesifiknya untuk berikatan dengan molekul target pada mikroorganisme. Mekanisme mutasi dapat terjadi pada target fungsional dengan afinitas yang menurun terhadap antibiotik akibat perubahan struktur molekul target sehingga antibiotik tidak dapat berikatan dengan molekul target (Dugassa dan Shukuri, 2017). Kemudian, gen yang mengalami mutasi dapat mentransfer informasi genetik yang melibatkan

penyerapan dan penggabungan DNA yang mengkode protein target, sehingga terjadi perubahan bentuk protein. Mutasi pada protein target dapat terjadi selama proses infeksi yang dapat diawali oleh satu mikroorganisme saja, namun dengan cepat dapat menyebarkan gen mutasi sehingga terjadi resistensi (Aurilio *et al.*, 2022).

II.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococci pertama kali diidentifikasi pada tahun 1880 dan diisolasi dari nanah abses oleh ahli bedah Skotlandia, Sir Alexander Ogston. *Staphylococcus aureus* berasal dari kata Yunani yaitu “*staphyle*” yang berarti sekelompok anggur, “*kokkos*” yang berarti berry dan “*aureus*” dari kata Latin yang berarti emas (Rasheed, 2021). *S. aureus* merupakan bakteri gram positif yang menginfeksi 30% populasi manusia sehingga memainkan peran penting dalam menyebabkan infeksi di rumah sakit maupun di lingkungan masyarakat, mulai dari infeksi kulit sederhana hingga yang dapat mengancam jiwa seperti bakteremia, pnemumonia nekrotik pada anak dan endocarditis (Bitrus *et al.*, 2018; Rasheed, 2021).



Gambar 2. Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* (Jawetz *et al.*, 2019)

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* (Garrity *et al.*, 2007)

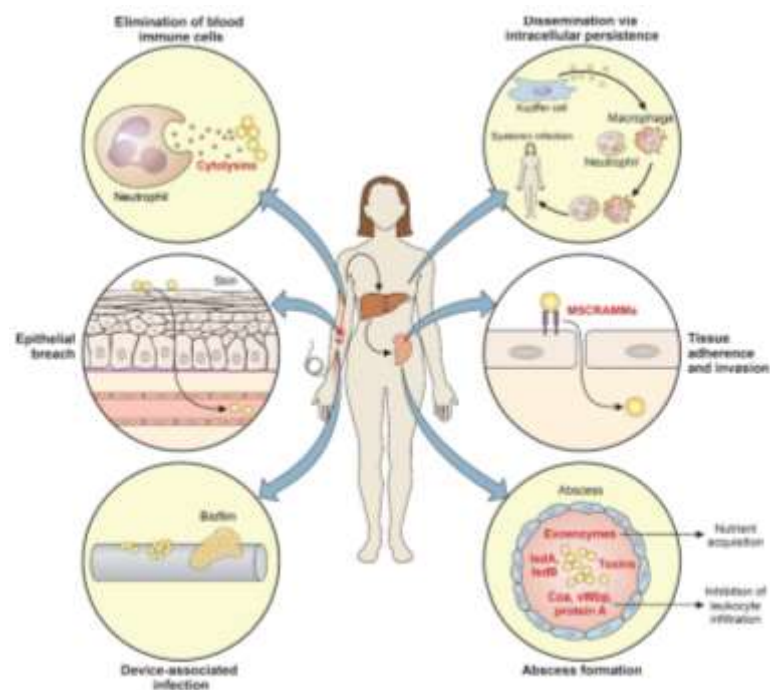
Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

II.2.1 Morfologi Koloni

Koloni *S. aureus* berukuran besar, halus, dan meninggi dengan warna kuning keemasan. Warna kuning merupakan hasil dari staphyloxanthin (sebuah karotenoid) yang dihasilkan oleh bakteri yang menutupi dan melindungi mikroorganisme dari fagositosis. Biasanya mikroorganisme menyebabkan hemolisis pada agar yang diperkaya (agar darah dengan 5% darah domba atau kuda), sehingga menghasilkan zona di sekitar koloni, yang dihasilkan oleh enzim hemolisin. *S. aureus* ditumbuhkan pada media selektif seperti Mannitol Salt Agar yang mengandung 7,5% natrium klorida, karena *S. aureus* toleran terhadap garam. Warna merah muda pada media berubah menjadi kuning selama *S. aureus* memfermentasikan gula mannitol, sehingga menghasilkan asam dan mengubah warna media, sehingga menjadi pembeda dengan *S. epidermis* yang tidak dapat memfermentasikan mannitol (Rasheed, 2021).

II.2.2 Patogenitas

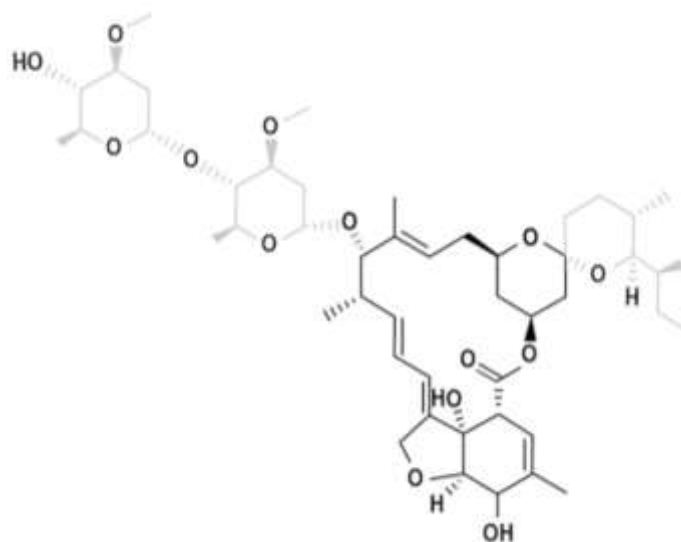
S. aureus merupakan salah satu spesies *Staphylococcus* yang paling berbahaya karena menjadi penyebab utama bakteremia, pneumonia, miokarditis, endocarditis akut, pericarditis, osteomyelitis, ensefalitis, meningitis, dan sindrom kulit melepuh. Morbiditas dan mortalitas manusia di rumah sakit sebagian besar disebabkan oleh bakteremia *S. aureus* (Karmakar, 2016). Pada tahun 2012, diperkirakan jumlah bakterimia *S. aureus* mengalami peningkatan yaitu berkisar antara 20 hingga 50 kasus/100.000 per tahun, dan 10% hingga 30% dari pasien meninggal akibat infeksi (Cheung *et al.*, 2021). Akibat penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak terkontrol menyebabkan bakteri ini mengalami resisten terhadap beberapa obat sehingga pilihan terapi pengobatan semakin sedikit (Karmakar, 2016)



Gambar 3. Infeksi sistemik *Staphylococcus aureus* (Cheung *et al.*, 2021)

II.3 Ivermectin

Ivermectin merupakan obat cacing spektrum luas lakton makrosiklik yang bekerja pada ligan-gated-chloride yang menyebabkan kanal tersebut terbuka secara ireversibel sehingga terjadi hiperpolarisasi permanen dan menyebabkan kematian parasit (Ashraf *et al.*, 2018). Ivermectin memiliki profil keamanan yang baik dengan efek samping yang rendah saat diresepkan secara oral. Selain memiliki efek antiparasit dan antivirus, obat ini juga menyebabkan imunomodulasi pada inang serta efeknya dalam menghambat proliferasi sel kanker (Heidary dan Garebaghi, 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ashraf (2018) melaporkan bahwa ivermectin memiliki aktivitas *anti-staphylococcal* yang kuat. Hal ini dibuktikan terhadap isolat MSSA dan MRSA masing-masing dengan nilai konsentrasi hambat minimum yaitu 6,25 µg/mL dan 12,5 µg/mL (Ashraf *et al.*, 2018).



Gambar 4. Struktur molekul ivermectin (Juarez, 2018)

II.4 *Drosophila melanogaster*

Klasifikasi *Drosophila melanogaster*

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Diptera
Famili	: Drosophilidae
Genus	: <i>Drosophila</i>
Spesies	: <i>Drosophila melanogaster</i> (Patra, 2020).

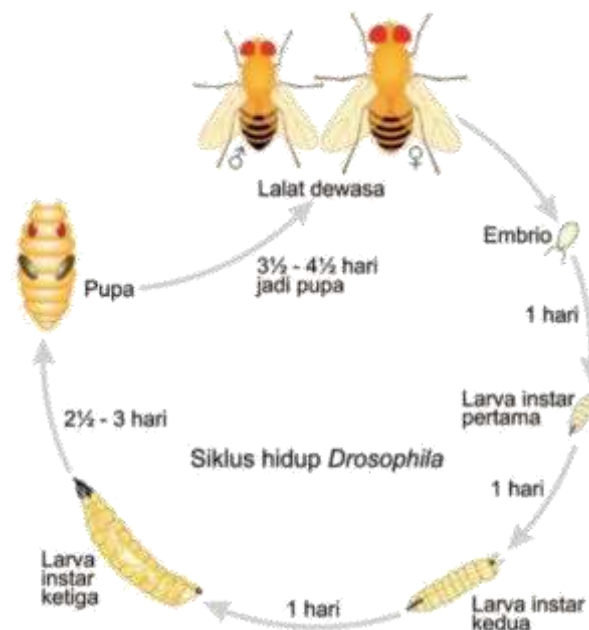


Gambar 5. Hewan Uji *Drosophila melanogaster* (Chyb & Gompel, 2013)

Lalat buah (*Drosophila melanogaster*) merupakan salah satu objek studi biomedis yang telah digunakan secara luas dalam penelitian genetika dasar hingga perkembangan jaringan dan organ. Walaupun memiliki genom yang sederhana, *D. melanogaster* memiliki kemiripan genetik sekitar 75% dengan manusia sehingga menjadi dasar dalam penggunaan *D. melanogaster* sebagai organisme model dalam berbagai riset

mekanisme penyakit dan penemuan obat (Nainu, 2018; Popis, 2018; Mirzoyan *et al.*, 2019).

Pemeliharaan *D. melanogaster* relatif lebih mudah dan lebih ekonomis, karena setiap lalat betina mampu menghasilkan 30-50 telur per hari dan membutuhkan waktu selama 10 hari untuk menjadi lalat dewasa. Selain itu, masa hidup *D. melanogaster* relatif singkat yaitu hanya sekitar 2-3 bulan, sehingga memudahkan dalam memperoleh hasil penelitian dengan waktu yang lebih singkat (Nainu *et al.*, 2018).



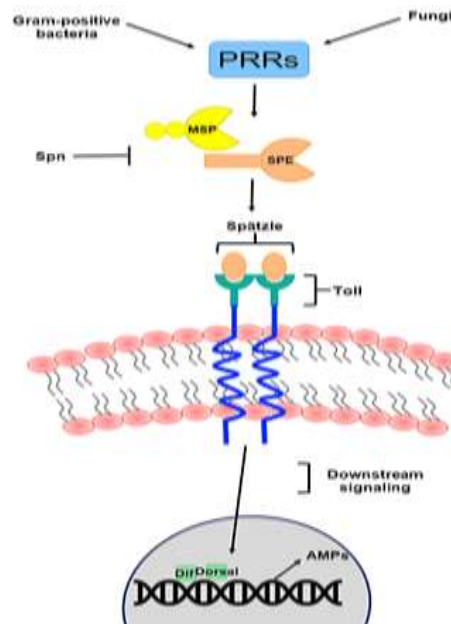
Gambar 6. Siklus hidup *D. melanogaster* (Nainu *et al.*, 2018)

Siklus hidup *D. melanogaster* sangat berbeda dengan spesies vertebrata. *D. melanogaster* berkembang dalam empat tahap. Tahap pertama, sel telur berlangsung sekitar satu hari setelah pembuahan. Setelah itu, larva menetas dan membutuhkan waktu perkembangan selama lima hari untuk terus makan dan tumbuh menjadi pupa. Kemudian, dalam

waktu empat hari untuk pupa menetas menjadi lalat dewasa sepenuhnya. Walaupun proses perkembangbiakan ini berbeda dengan organisme manusia, model *Drosophila* telah berhasil digunakan dalam berbagai penelitian, dengan hasil yang dapat dikonversikan ke berbagai spesies (Popis, 2018).

II.5 Gen *Drosomycin*

Infeksi mikroba pada *Drosophila* mengaktifkan serangkaian reaksi pertahanan kekebalan tubuh yang berujung pada ekspresi antijamur dan antibakteri yang kuat. Salah satu jalur genetik yang mengatur aktivitas kekebalan terhadap fungi dan bakteri Gram-positif yaitu jalur Toll. Jalur ini memiliki *Persephone (Psh)* dan *protease serine modular (modSP)* yang bertanggung jawab dalam aktivitas pertahanan imun bawaan terhadap bakteri Gram-positif melalui ekspresi gen *Drosomycin (drs)* (Younes *et al.*, 2020). *Drs* merupakan peptida antimikroba yang paling banyak diekspresikan dalam respon imun *D. melanogaster* (Popis, 2018). Jalur Toll dapat teraktivasi ketika ligan *Spaetzle* berikatan dengan reseptor, sehingga mengaktifkan faktor NF- κ B (Valanne *et al.*, 2011).



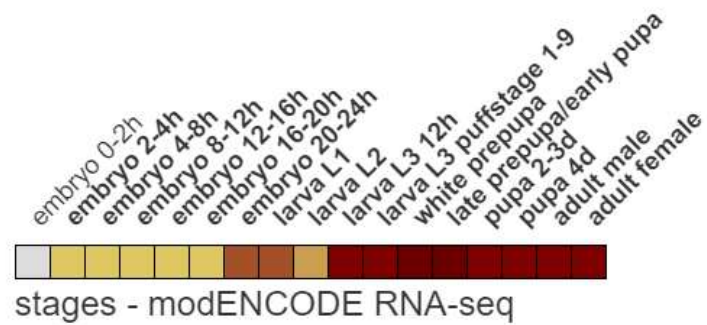
Gambar 7. Jalur Toll *D. melanogaster* (Younes *et al.*, 2020)

II.6 Polymer Chain Reaction (PCR)

Polymerase chain reaction (PCR) adalah teknik ilmiah dalam biologi molekuler yang digunakan untuk memperkuat satu atau beberapa *copy* DNA di beberapa urutan, sehingga dapat menghasilkan ribuan hingga jutaan *copy* urutan DNA tertentu. Kini teknik PCR menjadi teknik umum dan sering digunakan di laboratorium penelitian medis (Gaurav, 2012). Sehingga, dengan banyaknya DNA yang tersedia, dapat dilakukan berbagai macam pengujian. Misalnya mendeteksi penyakit keturunan, identifikasi sidik jari genetik, cloning gen, pengujian genetik, komputasi DNA dan lain-lain (Shafeeq, 2021). Metode PCR yang saat ini banyak dikembangkan adalah Real-Time PCR (RT-PCR). Selain melakukan amplifikasi pada daerah tertentu DNA, pada saat yang sama dapat mengukur luas wilayah tertentu dari molekul DNA. Ketika produk amplifikasi

terlalu sedikit untuk dideteksi menggunakan elektroforesis, RT-PCR dapat mengatasi masalah sensitivitas ini dengan memanfaatkan molekul fluoresen yang digunakan dalam reaksi (Pabla, 2008).

II.7 Data Ekspresi Gen *Drosomycin* pada *D. melanogaster*



Gambar 8. Ekspresi gen *drs* (Flybase)