

BIOPROSPEKSI BAKTERI M18 ISOLAT AKAR MANGROVE *Rhizophora mucronata* Lam. SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN PENYEMBUH LUKA

Muhammad Evy Prastiyanto
22/500580/SBI/00209

INTISARI

Munculnya infeksi yang resisten terhadap berbagai obat (MDR) pada luka merupakan masalah kesehatan masyarakat yang signifikan. Strain M18, telah diisolasi dari akar mangrove *Rhizophora mucronata* Lam. di Maerokoco, Kota Semarang, Indonesia. Tujuan penelitian untuk menginvestigasi prevalensi dan profil resistensi antimikroba dari isolat bakteri MDR pada infeksi luka, identifikasi molekuler strain M18, mengekstraksi pigmen strain M18, dan mengevaluasi dual bioprospeksi sebagai antibakteri dan agen percepatan penyembuhan luka. *Cross-sectional study*, 1.035 isolat bakteri dikumpulkan dari pasien infeksi luka di Rumah Sakit Tugurejo di Semarang, Indonesia, selama periode Januari 2020 hingga Desember 2022. Identifikasi awal melibatkan pewarnaan Gram dan morfologi koloni, diikuti dengan uji biokimia dan pengujian kerentanan antimikroba menggunakan sistem VITEK[®]2 *Compact*. Memeriksa sekuens gen 16S rRNA strain M18, pigmen dari strain M18 diekstraksi dengan metode maserasi dengan dua pelarut (metanol dan metanol:aseton) pengeringan menggunakan N₂. Aktivitas antibakteri dievaluasi secara *in vitro* dan *in silico*. Uji *in vitro* menggunakan metode difusi dan dilusi terhadap empat bakteri MDR isolat luka dan empat bakteri acuan (ATCC). Identifikasi senyawa pigmen menggunakan *High-resolution mass spectrometry* (HRMS) kemudian evaluasi percepatan penyembuhan luka dilakukan secara *in vivo* menggunakan mencit BALB/c. Hasil penelitian menunjukkan bakteri gram negatif menjadi mayoritas isolat (60,77%, n=629) penyebab infeksi luka. Strain yang dominan termasuk *Staphylococcus* spp. (30,92%, n = 320), *Escherichia coli* (18,45%, n = 191), *Klebsiella pneumoniae* (13,04%, n = 135) dan *Pseudomonas* spp (12,24%, n =77). Khususnya, bakteri Gram-negatif menunjukkan kemungkinan yang lebih tinggi secara signifikan untuk menjadi MDR dibandingkan dengan bakteri Gram-positif (p<0,001). Bakteri Gram-negatif memiliki probabilitas 2,05 kali lebih tinggi untuk terkena MDR. Bakteri berpigmen merah diisolasi dan diidentifikasi sebagai *Vibrio ruber*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pigmen merah dari *V. ruber* dapat dikembangkan sebagai agen antibakteri. Hasil identifikasi senyawa dari *V. ruber* terdiri dari Prodigiosin, Rubropunctamine, Monarubin, dan Rubropunctin. Rubropunctamine dan monarubin memiliki potensi paling tinggi dibandingkan senyawa lainnya dalam menghambat protein PBP3 (*E. coli*) yang berperan penting dalam pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Pada protein PBP2a (*S. aureus*), rubropunctamine dan prodigiosin menunjukkan potensi tertinggi berdasarkan nilai *binding affinity*. Rasio area luka

lebih kecil untuk luka yang diberi perlakuan dengan pigmen, dan juga pada kelompok kontrol gentamisin dibandingkan dengan kelompok *natural healing* pada hari ke 1-14 ($p < 0.05$). Peningkatan insiden infeksi bakteri MDR dari luka terinfeksi semakin mengkhawatirkan di Indonesia. Penelitian kami menyoroti potensi ekstrak dari M18 sebagai agen antibakteri terhadap bakteri MDR serta potensinya sebagai agen percepatan penyembuhan luka.

Kata Kunci: Aktivitas-antibakteri, luka, MDR, *Rhizophora mucronata* Lam. *Vibrio*

BIOPROSPECTION OF BACTERIAL M18 ISOLATES OF MANGROVE ROOTS *Rhizophora mucronata* Lam. AS ANTIBACTERIAL AND WOUND HEALING

Muhammad Evy Prastiyanto
22/500580/SBI/00209

ABSTRACT

The emergence of multidrug-resistant (MDR) infections in wounds is a significant public health problem. Strain M18, has been isolated from mangrove roots of *Rhizophora mucronata* Lam. in Maerokoco, Semarang City, Indonesia. The objectives of the study were to investigate the prevalence and antimicrobial resistance profile of MDR bacterial isolates in wound infections, molecular identification of strain M18, extract pigments of strain M18, and evaluate its dual bioprospection as an antibacterial and wound healing accelerating agent. In a cross-sectional study, 1,035 bacterial isolates were collected from wound infection patients at Tugurejo Hospital in Semarang, Indonesia, from January 2020 to December 2022. Initial identification involved Gram staining and colony morphology, followed by biochemical and antimicrobial susceptibility testing using the VITEK®2 Compact system. Examining the 16S rRNA gene sequence of strain M18, pigments from strain M18 were extracted by maceration method with two solvents (methanol and methanol: acetone) drying using N₂. Antibacterial activity was evaluated *in vitro* and *in silico*. *In vitro* tests used diffusion and dilution methods against four MDR bacteria wound isolates and four reference bacteria (ATCC). Identification of pigment compounds using *High-resolution mass spectrometry* (HRMS) and then evaluation of accelerated wound healing was carried out *in vivo* using BALB/c mice. The results showed that gram-negative bacteria accounted for the majority of isolates (60.77%, n=629) causing wound infections. The predominant strains included *Staphylococcus* spp. (30.92%, n=320), *Escherichia coli* (18.45%, n=191), *Klebsiella pneumoniae* (13.04%, n=135) and *Pseudomonas* spp (12.24%, n=77). Notably, Gram-negative bacteria showed a significantly higher probability of becoming MDR compared to Gram-positive bacteria (p<0.001). Gram-negative bacteria had a 2.05 times higher probability of developing MDR. Red-pigmented bacteria were isolated and identified as *Vibrio ruber* M18. The results showed that the red pigment of *V. ruber* could be developed as an antibacterial agent. The results of compound identification from *V. ruber* consisted of Prodigiosin, Rubropunctamine, Monarubin, and Rubropunctin. Rubropunctamine and monarubin have the highest potential compared to other compounds in inhibiting PBP3 protein (*E. coli*) which plays an important role in the formation of peptidoglycan in bacterial cell walls. On PBP2a protein (*S. aureus*), rubropunctamine and prodigiosin showed the highest potential based on

the binding affinity value. The wound area ratio was smaller for pigment-treated wounds, and also in the gentamicin control group compared to the natural healing group on days 1-14 ($p < 0.05$). The increasing incidence of MDR bacterial infections from infected wounds is of increasing concern in Indonesia. Our study highlights the potential of red pigment extract from M18 as an antibacterial agent against MDR bacteria as well as its potential as a wound-healing accelerating agent.

Keywords: Antibacterial-activity, wound, MDR, *Rhizophora mucronata* Lam. *Vibrio*